

اختبار كفاءة السماد الحيوي من العزلة المحلية *Sinorhizobium fredii* في نمو وإنتاج نبات اللوبياء *Vigna unguiculata* L

وائل محمد مهدي⁽¹⁾ و عبدالكريم عربي سيع الكرطاني⁽²⁾

(1) قسم علوم الحياة، كلية التربية، جامعة سامراء، العراق

(2) قسم علوم التربة والموارد المائية، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق

استلام 20 نوفمبر 2018م - قبول 30 ديسمبر 2018م

<https://doi.org/10.37575/b/agr/2017>

الملخص

أصبحت معاملة بذور البقوليات باللقاح الكفاء من عمليات الإنتاج المهمة اقتصادياً سواء فيما يتعلق بتكوين العقد أو زيادة الإنتاج، فضلاً عن تحسين خصوبة التربة وإنتاجيتها، لذلك أجريت تجارب مختبرية وحقلية، ضمن أطروحة الباحث الأول، بهدف تحضير سماد حيوي آمن بيئياً لتحسين نمو وإنتاج نبات اللوبياء من سلالة بكتيرية كفاءة في تكوين العقد وتثبيت النيتروجين. عزلت *Sinorhizobium fredii* من 46 عينة جذور بقوليات وتربة جمعت من مناطق زراعية مختلفة من العراق وذلك بتنميتها على وسط المانيتول ومستخلص الخميرة YEMA، ثم شخصت مظهرياً اعتماداً على الصفات المرعية والمجهرية والكيموحيوية والفسولوجية وجزئياً باستخدام تقنية PCR، ثم نفذت تجربة حقلية وفق تصميم القطع المنشققة في تربة مزيحة معقمة وغير معقمة. بينت النتائج أن هنالك زيادة معنوية في جميع صفات اللوبياء المدروسة في المعاملات الملقحة، وكانت نسبة الزيادة للمعاملات الملقحة مقارنة بغير الملقحة في عدد العقد ووزنها الجاف 193.49 %، 375.00 % لكل منها على التوالي، أما الوزن الجذري والخضري الجاف فقد كانت 122.45 %، 148.34 %، كما أظهرت النتائج تفوق المعاملات الملقحة معنوياً على غير الملقحة في عدد القرون والإنتاج الكلي ونسبة البروتين في البذور، وكانت نسبة الزيادة في هذه الصفات 68.47 %، 225.76 %، 22.29 % على التوالي.

أما نتائج التقييم فلم تظهر فروقاً معنوية في أغلب صفات النمو والإنتاج مقارنة بغير المعقمة. أما التداخل الثنائي بين التسميد الحيوي والتعقيم فقد تفوقت المعاملة الملقحة والمعقمة معنوياً على غير الملقحة والمعقمة في جميع الصفات المدروسة. وتبين أن العزلة البكتيرية المستخدمة كانت كفاءة في تكوين العقد على جذور اللوبياء والتي أظهرت زيادة معنوية في صفات النمو والإنتاج؛ لذا يجب الاهتمام بمعاملة البذور بهذا النوع من اللقاح فضلاً عن اختبار عزلات أخرى تمتاز بكفاءتها في إحداث الإصابة ومنافسة البكتيريا المستوطنة.

الكلمات المفتاحية: البقوليات، التعقيم، التلقيح، الرايزوبيوم.

المقدمة

تعد اللوبياء *Vigna unguiculata* واحدة من أهم البقوليات البذرية بسبب نضجها المبكر وإمكانية استعمالها في النظم الزراعية المتعددة؛ إذ تنتشر زراعتها في المناطق الجافة وشبه الجافة والمناطق الاستوائية من العالم، إذ إن أكثر من 80 % من الإنتاج العالمي يأتي من قارة أفريقيا، والجفاف في بعض المناطق يؤدي إلى انخفاض إنتاجية محصول اللوبياء، وانخفاض خصوبة التربة أو انخفاض كفاءة تثبيت النيتروجين الجوي من قبل بكتيريا *Rhizobia* الأصلية لتزويد النباتات بالنيتروجين الأمثل عن طريق العلاقة التكافلية (*et* Wade *et al.*, 2014). ويلجأ المزارعون عادة إلى استخدام كميات كبيرة من الأسمدة الكيميائية بمختلف أنواعها ومنها الأسمدة النيتروجينية للحصول على أعلى إنتاج، ومن المعروف أن مصادر هذا العنصر غالية الثمن، فضلاً عن كونها ملوثة للبيئة من خلال انعكاس آثارها الجانبية على صحة الإنسان

والحيوان والنبات بصورة أو بأخرى (*et* Peoples *et al.*, 2009)، إذ تشير الأبحاث والدراسات الحديثة إلى أن هذه الأسمدة والمبيدات هي المسؤولة عن تفشي العديد من الأمراض وأهمها الفشل الكلوي والسرطانات، لذلك اتجه الباحثون إلى زيادة الطلب على الأسمدة الحيوية والتوسع في استخدامها مقارنة بالأسمدة النيتروجينية المصنعة. والبكتيريا المشار إليها تقوم بتحويل ما يقرب من 20 مليون طن من النيتروجين الجوي N_2 إلى أمونيا أي 50 - 70 % من النيتروجين المثبت حيويًا في العالم، وإن التثبيت العالي للنيتروجين يحدد مدى نجاح العلاقة التكافلية بين البكتيريا المكونة للعقد الجذرية وبين البقوليات (*et* Simon *et al.*, 2014). إن المناطق الجافة وشبه الجافة في العالم ولا سيما في العراق تعاني من قلة في أعداد بكتيريا *Rhizobia* المستوطنة في التربة أو ضعف فعاليتها في التثبيت، بسبب الظروف البيئية غير الملائمة، علماً بأن التثبيت الحيوي للنيتروجين الجوي يحتاج إلى أعداد

المواد وطرق البحث

شخصت المزارع النقية للبكتيريا المعزولة وبواقع 46 عزلة للتأكد منها فيما إذا كانت بكتيريا Rhizobia مكونة للعقد الجذرية أو بكتيريا عائدة لأجناس أخرى مثل جنس *Agrobacterium* وذلك عن طريق مجموعة اختبارات مزرعية Cultural ومجهريّة Microscopic وكيموحيوية Biochemical وفسولوجية Physiological فضلاً عن التشخيص الجزيئي Molecular اعتماداً على المادة الوراثية DNA باستخدام تقنية سلسلة تفاعل البلمرة Polymerase Chain reaction (PCR). نفذت تجربة حقلية في 2016/5/15 في قضاء سامراء من محافظة صلاح الدين في تربة مزيجية اتصفت بالخصائص المذكورة في الجدول (1).

كبيرة منها تمتاز بقدرتها العالية على المنافسة، وتكون فعالة في التثبيت في الوقت نفسه، لذلك فإن معاملة بذور البقوليات باللقاح أصبح ضرورياً من الناحية الاقتصادية سواء فيما يتعلق بتحسين النمو وزيادة إنتاج المحاصيل أو بتحسين خصوبة التربة وإنتاجيتها، وعلى الرغم من اهتمام العالم بالأسمدة الحيوية، إلا أن الوطن العربي - وخاصة دولة العراق - ما زال في حاجة إلى مزيد من الدراسات والأبحاث المتخصصة في هذا المجال، لذا كان الهدف من هذه الدراسة اختبار إحدى السلالات المشخصة العائدة لجنس *Sinorhizobium fredii* للتعرف على مدى استجابة نبات اللوبياء للتلقيح بها من خلال تكوين العقد وتحسن صفات النمو والإنتاج.

جدول (1): بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية والإحيائية للتربة

الخصائص	الوحدة	القيمة
الإيصالية الكهربائية	ديسمتر. متر ⁻¹	2.18
الأس الهيدروجيني	-	7.83
المادة العضوية	غم كغم ⁻¹	15.57
النيتروجين الجاهز	ملغم كغم ⁻¹	26.35
الفوسفور الجاهز		8.33
البوتاسيوم الجاهز		89.5
الرمل	غم كغم ⁻¹	516.0
الغرين		190.0
الطين		294.0
نسيج التربة	مزيجية	
الأعداد الكلية للفطريات	وحدة تكوين المستعمرة. غم ⁻¹	5 x 10 ³
الأعداد الكلية للبكتيريا		102 x 10 ⁶

- وعامل التعقيم بمستويين أيضاً: بدون تعقيم التربة، ومع التعقيم. وكانت محصلة التداخل بين العاملين 4 معاملات عاملية وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة لتصبح المحصلة النهائية 12 وحدة تجريبية.

تعقيم التربة وتنفيذ التجربة

أخذت تربة التجربة موضوع الدراسة بعمق 30-0 سم للوحدات التجريبية المراد تعقيمها،

لدراسة تأثير التلقيح ببكتيريا *Sinorhizobium fredii* المعزولة من بعض النباتات البقولية والتربة المحيطة بها فضلاً عن ترب أخرى غير مزرعة في نمو وإنتاج نبات اللوبياء في تربتين الأولى معقمة والثانية غير معقمة، قسمت معاملات التجربة وفق تصميم القطع المنشقة Split Plot، واشتملت على عاملين:

- عامل التلقيح باللقاح البكتيري: بدون إضافة لقاح ومع إضافة اللقاح.

بورق من الألمنيوم بعد أن غمرت بكمية كافية من محلول مبيض الملابس التجاري القاصر Sodi-hypochlorite um بتركيز 2.5 % لمدة 3 دقائق مع تحريك الدوارق بلطف، وغسلت بعد ذلك بالماء المعقم ما لا يقل عن 5 مرات متتالية للتخلص من آثار القاصر المتبقي (Somasegaran and Hoben, 1985) فحصت عينات من البذور المعقمة مختبرياً بزراعتها في أطباق بلاستيكية معقمة وضع فيها قماش أبيض (شاش) مع تنقيعه بكمية قليلة من الماء المعقم لمعرفة نسبة إنباتها قبل زراعتها حقلياً، ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25°م، وبعد 3 أيام حسبت نسبة الإنبات على أساس النسبة المئوية فكانت 80 % عن طريق وضع 10 بذرات في الطبق الواحد.

تلقيح البذور

عوملت البذور باللقاح بطريقة العجينة والموصوفة من قبل (Somasegaran and Hoben, 1994) فقد حضر محلول الصمغ العربي باعتباره مادة لاصقة بتركيز 40 %، وذلك بإذابة 40 غم من المادة بشكل تدريجي في بيكرات سعة 250 مل تحوي على 100 مل من الماء المقطر والمعقم موضوعة على مصدر حراري مع مراعاة التحريك المستمر للخليط وعدم وصول حرارة المحلول إلى 100°م، لضمان عدم تغير خصائص المحلول، ثم حضر محلول السكر لزيادة حيوية البكتيريا وكفاءتها في تكوين العقد بتركيز 15 % وذلك بإذابة 15 غم في 100 مل ماء مقطر ومعقم، ومزجت هذه المواد مع اللقاح المحمل على مادة peat moss بنسبة 1:3 على التوالي قبل مدة قريبة من الاستعمال، ثم عوملت بذور اللوبياء المجهزة للزراعة بالنسبة لمعاملات التلقيح قبل ساعتين من زراعتها، بخلط 100 غم من البذور المعقمة مسبقاً في دوارق سعة 500 مل مع 4 غم من اللقاح البكتيري الجاهز (Hanus et al., 1981) مع التحريك المستمر لضمان الالتصاق الجيد بالبذور، ثم نشرت البذور الملقحة على ورقة نشاف نظيف لتجف في الظل بعيداً عن أشعة الشمس للمحافظة على حيوية اللقاح.

زرعت البذور في 2016/5/15 في خطوط على مسافة 15 سم بين خط وآخر وبعمق 3 سم،

ثم غربت بمناخل معدنية قطر فتحاتها 2 ملم، ثم وزعت في أكياس بلاستيكية مقاومة للحرارة العالية بمقدار 1 كغم كيس⁻¹، وبعدها عقت في درجة حرارة 121°م وضغط 1.5 بار، ولمدة ساعة واحدة بحسب (Nannipleri and Alef, 1995)، وكررت عملية التعقيم 3 مرات متتالية لضمان إزالة التنافس بين الأحياء المجهرية المستوطنة واللقاح الذي سيضاف إلى التربة (Trevors, 1996). بعد التعقيم أعيدت التربة بأكياسها إلى موقع التجربة لتوزيعها على الوحدات التجريبية التي أخذت منها لتهيئة المكان للزراعة.

بتاريخ 2016/5/10 حرثت أرض الحقل ونعمت وسويت، ثم قسمت إلى 12 وحدة متساوية الأبعاد، وأضيفت التربة المعقمة على عمق 30 سم، والتي أخذت مسبقاً من الوحدات التجريبية وبكميات متساوية قبل الزراعة مباشرة، وكانت المسافة بين جميع الوحدات 30 سم، ومن جميع الجهات، وبلغت أبعاد الوحدة التجريبية 75×75 سم.

سمد الحقل بسمد اليوريا باعتباره مصدرًا للنيتروجين 46% (N) وبمعدل 50 كغم N هكتار⁻¹، مقسم على ثلاث دفعات متساوية قبل الزراعة وبعد شهر من الزراعة وعند 50 % من مرحلة التزهير، وتمثلت الأسمدة الكيماوية الأخرى باستخدام سوبر فوسفات الثلاثي باعتباره مصدرًا للفوسفور 21% (P)، وسمد كبريتات البوتاسيوم باعتباره مصدرًا للبوتاسيوم 43% (K) واللذان أضيفا على دفعة واحدة قبل الزراعة وبمعدل 200 كغم هكتار⁻¹ لكل سماد، بعد أن مزجت الكميات السمادية كي تتجانس ولا سيما للدفعات المضافة قبل الزراعة، وكانت بالإضافة بطريقة الأشرطة Bands ومجاورة لخطوط الزراعة، ثم قلبت جيداً مع الطبقة السطحية للتربة وبعمق 20 سم تقريباً.

تعقيم سطح البذور

غسلت البذور المحلية المستعملة في التجربة عدة مرات تحت تيار هادئ من الماء الاعتيادي للتخلص من الشوائب المرافقة، ثم وضعت البذور في دوارق مخروطية زجاجية معقمة سعة 500 مل بكميات لا تتجاوز 25 % من حجم الدورق لضمان كفاءة التعقيم ثم غطيت فوهات

وقورنت المتوسطات بحسب اختبار أقل فرق معنوي LSD عند مستوى المعنوية 0.05 اعتماداً على البرنامج (SAS، 2005).

النتائج والمناقشة

يتضح من البيانات الواردة بجدولي (2) و (3) أن التلقيح بـ *Sinorhizobium fredii* قد أثر تأثيراً معنوياً في عدد العقد الجذرية ووزنها الجاف؛ إذ تفوقت المعاملات الملقحة على غير الملقحة، وأعطت المعاملات الملقحة متوسط عدد عقد 20.75 عقدة نبات⁻¹، ومتوسط وزن جاف للعقد 0.19 غم نبات⁻¹، مقارنة بالمعاملات غير الملقحة التي أعطت متوسط عدد عقد 7.04 عقدة نبات⁻¹، ومتوسط وزن جاف 0.04 غم نبات⁻¹. ومما سبق يتضح أن المعاملات الملقحة أدت إلى زيادة العدد والوزن الجاف للعقد بنسبة 193.49% و 375.00% لكل منهما على التوالي. وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه كل من (Ulzen et al., 2016) الذين بينوا أن المعاملات الملقحة بالسلالتين BR3262 و Bradyrhizobium BR3267 العائدة لبكتيريا *Bradyrhizobium* قد تفوقت معنوياً على المعاملات غير الملقحة، وأعطت متوسط عدد عقد 96.7 و 81.0 عقدة نبات⁻¹، ومتوسط وزن جاف 465.2 و 527.8 ملغم نبات⁻¹، مقارنة بالمعاملات غير الملقحة التي أعطت عدد عقد 57.4 عقدة نبات⁻¹ ووزن جاف 320.2 ملغم نبات⁻¹.

وكانت البذور المعاملة باللقاح أولاً ثم البذور غير الملقحة ثانياً، وتم ري تربة الحقل مباشرة بطريقة الري بالرش، وكانت عملية الري عند الحاجة كي تبقى التربة محتفظة بنسبة رطوبة قريبة من السعة الحقلية طوال عمر النبات. بعد 10 أيام من الإنبات وبزوغ البادرات فوق سطح التربة خفت النباتات في الأماكن الكثيفة لتصبح المسافة بين نبات وآخر 15 سم وبواقع 5 نباتات في الخط الواحد، ثم رقت الأماكن غير النابتة بنفس نوع البذور للحصول على كثافة نباتية تصل إلى 444444 نبات. هكتار⁻¹ وفقاً لنظرية الأبعاد المتساوية Equidistant spacing (الساهاوكي، 1991) أي كانت أبعاد النباتات المزروعة على مسافة 15 × 15 سم بين نبات وآخر، وأجريت عمليات خدمة المحصول مثل العزق والتعشيب والتسميد وغيرها على مدار مدة مكث المحصول في الأرض.

الصفات المدروسة

أجريت قياسات وتحليلات مختلفة للنبات في مرحلتي التزهير والحصاد مثل عدد العقد الجذرية والوزن الجاف للعقد الجذرية والوزن الجاف الخضري الجاف والوزن القرون وإنتاج القرون في وحدة المساحة وتقدير نسبة النيتروجين في البذور.

التحليل الإحصائي

حللت نتائج التجربة إحصائياً باستعمال ANOVA

جدول (2): تأثير التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* والتعقيم والتداخل بينهما في عدد العقد الجذرية (عقدة نبات⁻¹) لنبات اللوبياء خلال مرحلة 50% تزهير

المتوسط	مع التلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	بدون تلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	التلقيح التعقيم
14.38a	17.50ab	11.25bc	تربة غير معقمة
13.42a	24.00a	2.83c	تربة معقمة
-	20.75a	7.04b	المتوسط
التداخل	التعقيم	التلقيح	LSD _{0.05}
11.578	18.024	8.1867	

جدول (3): تأثير التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* والتعقيم والتداخل بينهما في وزن العقد الجذرية الجاف (غم نبات⁻¹) لنبات اللوبياء خلال مرحلة 50% تزهير

التلقيح التعقيم	بدون تلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	مع التلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	المتوسط
تربة غير معقمة	0.06b	0.22a	0.14a
تربة معقمة	0.02b	0.17a	0.09b
المتوسط	0.04b	0.19a	-
LSD _{0.05}	التلقيح	التعقيم	التداخل
	0.047	0.0399	0.0664

غير الملقحة وغير المعقمة وغير الملقحة والمعقمة، ولم تظهر الأولى فرقاً معنوياً مع المعاملة الملقحة والمعقمة، وأعطت المعاملة الملقحة وغير المعقمة متوسط وزن عقد جذرية جاف بلغ 0.22 غم نبات⁻¹، مقارنة بغير الملقحة والمعقمة التي أعطت متوسطاً بلغ 0.04 غم نبات⁻¹. وتماشى هذه النتائج مع ما توصل إليه (El-Khateeb 2012) *et al* في تجربتهم على الباقلاء في الأصص بعد 50 يوماً من الزراعة؛ إذ تفوقت المعاملات الملقحة بالسلالة E1 العائدة للنوع *R. leguminosarum* bv. *viciae* والمعقمة والمعاملتين غير الملقحتين في التربة غير المعقمة والمعقمة، وأعطت المعاملة الملقحة وغير المعقمة متوسط وزن جاف بلغ 0.58 غم نبات⁻¹، بينما أعطت المعاملات الأخرى 0.30 و0.21 و0.00 غم نبات⁻¹ على التوالي.

كما تشير نتائج جدول (4) و (5) إلى أن التلقيح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* له أثر معنوي في وزن المجموع الجذري والخضري للجاف للنبات، وأعطت المعاملات الملقحة متوسط وزن جذري وخضري جاف 1.38 و 26.25 غم نبات⁻¹، بينما أعطت المعاملات غير الملقحة متوسط وزن 0.65 و 10.57 غم نبات⁻¹، أي ازداد الوزن الجذري والخضري الجاف في المعاملات الملقحة عن نظيرتها غير الملقحة بنسبة 112.30% و 148.34% لكل منهما على التوالي، وقد يعزى ذلك إلى أن استعمال البكتيريا المثبتة للنتروجين يؤدي إلى زيادة تراكم النتروجين المثبت وتحويله إلى أحماض أمينية، ومن ثم إلى مركبات بروتينية يستفيد منها النبات في تكوين الأنسجة المختلفة، مما يؤدي إلى تحسين

أما معاملات التعقيم فلم تظهر النتائج فروقاً معنوية في عدد العقد الجذرية لنبات اللوبياء، وقد يعزى ذلك إلى كفاءة التعقيم في القضاء على الأحياء المجهرية في التربة، بينما أثر التعقيم تأثيراً معنوياً في وزن العقد الجذرية الجاف؛ إذ تفوقت المعاملات غير المعقمة على نظيرتها المعقمة، وأعطت المعاملات غير المعقمة متوسط وزن عقد جاف 0.14 غم نبات⁻¹، مقارنة بالمعاملات المعقمة التي أعطت متوسطاً بلغ 0.09 غم نبات⁻¹، أي يقل وزن العقد الجذرية الجاف في المعاملات المعقمة عن نظيرتها غير المعقمة بنسبة 35.7%. أما التداخل الثنائي بين التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* وتعقيم التربة بالمؤصدة فقد أثر تأثيراً معنوياً في عدد العقد الجذرية؛ إذ تفوقت المعاملة الملقحة والمعقمة معنوياً على بقية حالات التداخل باستثناء المعاملة الملقحة وغير المعقمة، وأعطت المعاملة الملقحة والمعقمة متوسط عدد عقد 24.00 عقدة نبات⁻¹، في حين أعطت المعاملة غير الملقحة والمعقمة 2.83 عقدة نبات⁻¹. إن هذه النتائج تتماشى مع ما توصل إليه (Belachew and Pant 2010) في دراستها على نبات البازلاء في البيت الزجاجي؛ إذ تفوقت المعاملات الملقحة بالسلالة البكتيرية EAL302 العائدة للنوع *R. leguminosarum* والمعقمة على بقية الحالات الأخرى، وأعطت المعاملة الملقحة والمعقمة متوسط عدد عقد بلغ 28 عقدة نبات⁻¹، بينما أعطت المعاملات الأخرى 24 و 20 و 0 عقدة نبات⁻¹ على التوالي.

أما في وزن العقد الجذرية الجاف، فقد تفوقت المعاملة الملقحة وغير المعقمة معنوياً على المعاملتين

وأعطت المعاملات الملقحة متوسط بلغ 7.72 غم أصيص⁻¹، مقارنة بالمعاملات غير الملقحة التي أعطت 6.62 غم أصيص⁻¹. أما بخصوص التعقيم فلم تظهر المعاملات المعقمة فرقاً معنوياً عن المعاملات غير المعقمة في وزن المجموع الجذري والجاف لنبات اللوبياء. كما تتفق هذه النتائج مع الكرطاني وعلي (2014) في دراستها حول تأثير التعقيم على نمو فول الصويا؛ إذ لم يكن هنالك فرقاً معنوياً بين المعاملات المعقمة بالمؤصدة لمرة واحدة والمعاملات غير المعقمة.

النمو وزيادة المجموع الجذري والخضري. وتتفق هذه النتائج مع (El-Halfawi et al. (2010 في دراستهم على اللوبياء؛ إذ تفوقت المعاملات الملقحة بلقاح بكتيريا *Rhizobium* على غير الملقحة، وأعطت متوسط وزن جذري جاف 1.88 و 3.93 غم نبات⁻¹، بينما أعطت غير الملقحة 1.55 و 3.61 غم نبات⁻¹ بعد 60 و 90 يوماً من البذار لكل منهما على التوالي. كما تتفق مع ما ذكره (2011) Lima et al. في دراستهم على نبات اللوبياء؛ إذ تفوقت المعاملات الملقحة بالسلالة BR 3267 العائدة للنوع *Bradyrhizobium sp* معنوياً على المعاملات غير الملقحة في الوزن الخضري الجاف،

جدول (4): تأثير التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* والتعقيم والتداخل بينهما في وزن المجموع الجذري الجاف (غم نبات⁻¹) لنبات اللوبياء خلال مرحلة 50% تزهير

التلقيح التعقيم	بدون تلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	مع التلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	المتوسط
تربة غير معقمة	0.70bc	1.66a	1.18a
تربة معقمة	0.59c	1.11b	0.85a
المتوسط	0.65b	1.38a	-
LSD _{0.05}	التلقيح	التعقيم	التداخل
	0.309	0.7449	0.437

جدول (5): تأثير التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* والتعقيم والتداخل بينهما في وزن المجموع الخضري الجاف (غم نبات⁻¹) لنبات اللوبياء خلال مرحلة 50% تزهير

التلقيح التعقيم	بدون تلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	مع التلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	المتوسط
تربة غير معقمة	11.76b	18.67b	15.22a
تربة معقمة	9.38b	33.84a	21.61a
المتوسط	10.57b	26.25a	-
LSD _{0.05}	التلقيح	التعقيم	التداخل
	6.7712	10.335	9.576

جذري جاف 1.66 غم نبات⁻¹ مقارنة بالمعاملة غير الملقحة والمعقمة التي أعطت متوسط وزن جذري 0.59 غم نبات⁻¹، وبخصوص الوزن الخضري الجاف فقد أظهرت المعاملة الملقحة والمعقمة فرقاً معنوياً عن بقية معاملات التداخل، وأعطت المعاملة الملقحة والمعقمة متوسط وزن

أما التداخل الثنائي بين التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* وتعقيم التربة بالمؤصدة فقد أثار تأثيراً معنوياً في وزن المجموع الجذري الجاف؛ إذ تفوقت المعاملة الملقحة وغير المعقمة معنوياً على بقية معاملات التداخل الأخرى، وأعطت المعاملة الملقحة وغير المعقمة متوسط وزن

Rhizobia 68.47% . وأن التلقيح بلقاح بكتيريا Rhizobia يحسن من نمو النباتات البقولية من خلال زيادة الأوزان الجافة، والذي ينعكس إيجاباً على امتصاص النيتروجين وغيره من العناصر، ومن ثم تتحسن صفات الإنتاج، ولا سيما عدد القرون في النبات. وتتفق هذه النتائج مع (Danso 2016) في دراسته على اللوبياء؛ إذ تفوقت المعاملات الملقحة بالسلالة BR3262 معنوياً على المعاملات غير الملقحة، وأعطت المعاملات الملقحة متوسط عدد قرون 7.47 قرن نبات⁻¹ مقارنة بغير الملقحة التي أعطت 7.22 قرن نبات⁻¹.

خضري جاف 33.84 غم نبات⁻¹، في حين أعطت المعاملة غير الملقحة والمعقمة متوسط وزن خضري جاف 9.38 غم نبات⁻¹، أي بنسبة زيادة قدرها 260.76%.

كما تظهر نتائج الجدول (6) أن التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* له أثرٌ معنوي في عدد قرون النبات؛ إذ تفوقت المعاملات الملقحة معنوياً على نظيرتها غير الملقحة، وأعطت المعاملات الملقحة متوسط عدد قرون 20.84 قرن نبات⁻¹، في حين أعطت غير الملقحة متوسط عدد قرون 12.37 قرن نبات⁻¹، أي ازدادت بمعدل

جدول (6): تأثير التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* والتعقيم والتداخل بينها في عدد القرون (قرن نبات⁻¹) لنبات اللوبياء

التلقيح التعقيم	بدون تلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	مع التلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	المتوسط
تربة غير معقمة	12.35c	18.56b	15.45a
تربة معقمة	12.39c	23.12a	17.75a
المتوسط	12.37b	20.84a	-
LSD _{0.05}	التلقيح	التعقيم	التداخل
	1.7903	4.5809	2.5319

هكتار⁻¹، وبزيادة مئوية بلغت 225.76%، وقد يعزى هذا التفوق إلى كفاءة اللقاح في تكوين العقد الجذرية التي تؤدي دوراً كبيراً في كفاءة التثبيت، ومن ثم زيادة النيتروجين في الأجزاء الخضريّة والذي ينعكس على زيادة البروتين في مختلف أجزاء النبات؛ مما يؤدي إلى تحسن نمو النبات وزيادة الإنتاج بسبب زيادة مكوناته. إن هذه النتائج تتماشى مع كل من (Ulzen et al. 2016) الذين بينوا أن المعاملات الملقحة بالسلالتين BR 3262 وBR 3267 العائدة لبكتيريا *Bradyrhizobium* قد تفوقت معنوياً على المعاملات غير الملقحة، وأعطت المعاملات الملقحة بالسلالتين متوسط إنتاج مادة جافة 2708 و2696 كغم هكتار⁻¹ لكل منهما على التوالي مقارنة بنظيرتها غير الملقحة التي أعطت 1964 كغم هكتار⁻¹.

أما التعقيم فلم تظهر المعاملات المعقمة فرقاً معنوياً في الإنتاج الكلي لنبات اللوبياء عن المعاملات غير المعقمة.

أما معاملات التعقيم فلم يكن هناك تأثير معنوي في عدد القرون لنبات اللوبياء، وقد يعزى ذلك إلى قلة المحتوى الميكروبي في التربة المعقمة مقارنة بالتربة غير المعقمة التي تحتوي على أعداد هائلة حول المحيط الجذري للنبات ولا سيما بكتيريا الرايزوبيوم. أما التداخل الثنائي بين التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* وتعقيم التربة بالمؤصدة فقد أظهرت بعض المعاملات فروقات معنوية فيما بينها؛ إذ تفوقت المعاملة الملقحة والمعقمة معنوياً على جميع حالات التداخل، وأعطت أعلى متوسط في عدد القرون 23.12 قرن نبات⁻¹، في حين أعطت المعاملة غير الملقحة وغير المعقمة أقل متوسط في عدد القرون 12.35 قرن نبات⁻¹.

يبين الجدول (7) أن التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* له أثرٌ معنوي في الإنتاج الكلي للنبات؛ إذ أعطت المعاملات الملقحة متوسط إنتاج كلي 16.94 طن هكتار⁻¹ في حين أعطت المعاملات غير الملقحة متوسط إنتاج كلي 5.20 طن

جدول (7): تأثير التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* والتعقيم والتداخل بينهما في الإنتاج الكلي (طن هكتار⁻¹) لنبات اللوبيا

التلقيح التعقيم	بدون تلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	مع التلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	المتوسط
تربة غير معقمة	5.21b	15.62a	10.42a
تربة معقمة	5.19b	18.26a	11.72a
المتوسط	5.20b	16.94a	-
LSD _{0.05}	التلقيح	التعقيم	التداخل
	3.5117	2.1923	4.9663

وتتماشى هذه النتائج مع العاني وآخرون (2011) في دراستهم على اللوبيا؛ إذ تفوقت المعاملات الملقحة بالرايزوبيوم معنوياً على المعاملات غير الملقحة، وأعطت المعاملات الملقحة متوسط نسبة نيتروجين 4.7% في حين أعطت غير الملقحة 3.8%. كما تنفق هذه النتائج مع Alkurtany et al., (2018) الذين بينوا تفوق المعاملات الملقحة على المعاملات غير الملقحة في نسبة البروتين في البذور، وكانت نسبة الزيادة المئوية 16.86%.

أما معاملات التعقيم فلم تظهر تأثيراً معنوياً في نسبة البروتين في البذور؛ إذ بلغ متوسط نسبة البروتين في المعاملات المعقمة 22.75% مقارنة بغير المعقمة التي أعطت 22.89%.

أما التداخل الثنائي بين التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* وتعقيم التربة بالمؤصدة فلم تظهر المعاملات فروقات معنوية كبيرة، إذ لم تظهر المعاملة الملقحة والمعقمة فروقا معنوية عن باقي التداخلات باستثناء المعاملة غير الملقحة والمعقمة؛ إذ أعطت المعاملة الملقحة والمعقمة أعلى متوسط في نسبة البروتين 26.12%، في حين أعطت المعاملة غير الملقحة والمعقمة أقل متوسط بلغ 19.38%.

أما التداخل الثنائي بين التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* وتعقيم التربة بالمؤصدة فقد أظهرت المعاملات فروقات معنوية فيما بينها، وتفوقت المعاملة الملقحة والمعقمة معنوياً على بقية معاملات التداخل باستثناء المعاملة الملقحة وغير المعقمة؛ إذ أعطت المعاملة الملقحة والمعقمة أعلى متوسط في الإنتاج الكلي للنبات 18.26 طن هكتار⁻¹، بينما أعطت المعاملة غير الملقحة والمعقمة متوسطاً بلغ 5.19 طن هكتار⁻¹.

يشير الجدول (8) إلى أن التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* له أثر معنوي في نسبة البروتين في البذور؛ إذ أعطت المعاملات الملقحة متوسط نسبة بروتين بلغ 25.10%، بينما أعطت المعاملات غير الملقحة متوسط نسبة بروتين بلغ 20.54%، وبزيادة مئوية بلغت 22.29%، وقد تعزى هذه النتائج إلى قدرة بكتيريا اللقاح المستخدم على المنافسة في إحداث إصابة الجذور، ونشاطها في توفير مغذيات النبات ولا سيما النيتروجين والذي ينعكس على المجموع الجذري والوزن الخضري الجاف، مما يحقق أفضل عدد للقرون، مما أدى إلى أفضل إنتاج وبمحتوى جيد من البروتين.

جدول (8): تأثير التلقيح بلقاح بكتيريا *Sinorhizobium fredii* والتعقيم والتداخل بينهما في نسبة البروتين % في بذور نبات اللوبيا

التلقيح التعقيم	بدون تلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	مع التلقيح <i>Sinorhizobium fredii</i>	المتوسط
تربة غير معقمة	21.69ab	24.09a	22.89a
تربة معقمة	19.38b	26.12a	22.75a
المتوسط	20.54b	25.10a	-
LSD _{0.05}	التلقيح	التعقيم	التداخل
	3.2477	1.2587	4.593

Belachew, T., and Pant, M. 2010. Measurement of competitive ability of *Rhizobium leguminosarum* in different pea genotypes under sterilized and unsterilized soil conditions. Int. J. Microbiol. 1(3): 87-91.

Danso, J. 2016. Growth and yield of cowpea (*Vigna Unguiculata*) following nitrogen fertilizer application and inoculation. PhD Thesis. Faculty of Agriculture, Kwame Nkrumah University, Ghana.

El-Halfawi, M. H., Ibrahim, S. A., and Kandil, H. 2010. Influence of elemental sulfur, organic matter, sulfur oxidizing bacteria and cabronite alone or in combination on cowpea plants and the used soil. Soil Forming Factors and Processes from the Temperate Zone. 9(1): 13-29.

El-Khateeb Nagwa, M., Shalaby, M. E., Belal, E. B., and El - Gremi, S. H. M. 2012. Symbiotic nitrogen fixation of faba bean plants inoculated with salt-tolerant rhizobium isolates. J. Agric. Chem. and Biotechn. 3(10): 411-423.

Farias, T. P., Trochmann, A., Soares, B. L., and Moreira, F. M. S. 2016. Rhizobia inoculation and liming increase cowpea productivity in Maranhão state. Acta Scientiarum. Agronomy. 38(3): 387-395.

Hanus, F. J., Albrecht, S. L., Zablotowicz, R. M., Emerich, D. W., Russell, S. A., and Evans, H. J. 1981. Yield and N content of Soybean seed as influenced by *Rhizobium Japonicum* inoculants possessing the hydrogenase characteristic. Agronomy Journal. 73(2): 368-372.

Lima, A. S., Xavier, T. F., Lima, C. E., Oliveira, J. D., Mergulhão, A. C., and Figueiredo, M. D. 2011. Triple inoculation with Bradyrhizobium, *Glomus* and *Paenibacillus* on cowpea (*Vigna unguiculata*) development. Brazilian Journal of Microbiology. 42(3): 919-926.

Peoples, M. B., Brockwell, J., Herridge, D. F., Rochester, I. J., Alves, B. J. R., Urquiaga, S. and Sampet, C. 2009. The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. Symbiosis. 48(1-3): 1-17.

SAS. 2005. User Guide. Stastics (Version 6 . 121) SAS . Inst., Cary N.C. U.S.A.

الاستنتاجات والتوصيات

إن العزلة البكتيرية المشخصة العائدة *Sinorhizobium fredii* كانت كفؤة في تكوين العقد على جذور نبات اللوبياء ومن ثم فإن التسميد الحيوي بهذه العزلة أدى إلى زيادة معنوية في صفات النمو والإنتاج مقارنة بغير الملقحة، في حين لم يكن لعامل التعقيم أثر معنوي في أغلب الصفات، وتفوقت المعاملات الملقحة والمعقمة معنوياً على بقية معاملات التداخل ولا سيما على المعاملة غير الملقحة والمعقمة، ولذلك نوصي بتلقيح البذور ببكتيريا *Sinorhizobium fredii* لتحسين نمو النبات والحصول على أعلى إنتاج، فضلاً عن إجراء تجارب باستخدام عزلات بكتيرية مختلفة لاختبار كفاءتها في إحداث الإصابة، ومنافسة البكتيريا المستوطنة في تكوين العقد الجذرية وتثبيت النيتروجين.

المراجع

الساهاوكي، مدحت مجيد. 1991م. فول الصويا إنتاجه وتحسينه. الطبعة الأولى، مطبعة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، بغداد، العراق.

العاني، رقيب عاكف، ومهدي، ماجدة هادي، وعبود، هادي مهدي. 2011م. تأثير معاملة بذور فول الصويا ببكتيريا العقد الجذرية *Rhizobium japonicum* والمبيد الفطري (Thiobendazole Tecto) في خفض الإصابة بمرض عفن الجذور وموت البادرات المتسبب عن فطور *Macrophomina phaseolina* و *Fusarium solani*. مجلة وقاية النبات العربية، الجمعية العربية لوقاية النبات، بيروت، لبنان، المجلد 29، العدد (1)، ص ص 60-67.

الكرطاني، عبدالكريم عريبي سبع، وعلي، شيماء عبد محمد. 2014م. تأثير طرائق التعقيم المختلفة وتكرارها في بعض المجاميع الميكروبية ونمو نبات فول الصويا *Glycine max* L. في تربة جيسية. مجلة الأنبار للعلوم الزراعية، كلية الزراعة، جامعة الأنبار، الأنبار، العراق، المجلد 12، العدد (2)، ص ص 43-49.

Alef, K., and Nannipieri, P. 1995. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London.

Alkurtany, A. E. S., Mahdi, W. M., and Ali, S. A. M. 2018. The efficiency of prepared biofertilizer from local isolate of *bradyrhizobium* sp. on growth and yield of mung bean plant. Iraqi Journal of Agricultural Sciences. 49(5):722-730.

- Trevors, J. T. 1996. Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. *Journal of Microbiological Methods*. 26(1-2): 53-59.
- Ulzen, J., Abaidoo, R. C., Mensah, N. E., Masso, C., and Abdel Gadir, A. H. 2016. *Bradyrhizobium* inoculants enhance grain yields of soybean and cowpea in northern Ghana. *Frontiers in Plant Science*. 7(1770):1-9.
- Wade, T. K., Le Quéré, A., Laguerre, G., N'Zoué, A., Ndione, J. A., Sadio, O., and Neyra, M. (2014). Eco-geographical diversity of cowpea bradyrhizobia in Senegal is marked by dominance of two genetic types. *Systematic and applied microbiology*. 37(2), 129-139.
- Simon, Z., Mtei, K., Gessesse, A., and Ndakidemi, P. A. 2014. Isolation and characterization of nitrogen fixing Rhizobia from cultivated and uncultivated soils of northern Tanzania. *American Journal of Plant Sciences*. 5(26): 4050- 4067.
- Somasegaran, P., and Hoben, H. J. 1985. *Methods in legume-Rhizobium technology*. Paia, Maui: University of Hawaii NifTAL Project and MIRCEN, Department of Agronomy and Soil Science, Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources, College of Tropical Agriculture and Human Resources.
- Somasegaran, P., and Hoben, H. J. 1994. *Handbook for Rhizobia: Methods in Legume - Rhizobium Technology*. Springer - Verlag, New York.

Efficiency Test of *Sinorhizobium fredii* Local Isolate Biofertilizer on Growth and Yield of Cowpea *Vigna unguiculata* L.

W. M. Mahdi⁽¹⁾ and A. E. S. Alkurtany⁽²⁾

(1) Department of Biology, College of Education, Samarra University, Iraq.

(2) Department of soil science, college of Agriculture, Tikrit University, Iraq

Received 20 November 2018 - Accepted 30 December 2018

<https://doi.org/10.37575/b/agr/2017>

ABSTRACT

Legumes' treatment with efficient inoculant is an important economic practice regarding nodules formation, increasing production, and improving soil fertility and productivity. Laboratory and field experiments were conducted to prepare an ecologically safe fertilizer to improve the growth and yield of cowpea using *Sinorhizobium fredii* isolated from 46 legumes roots and soil samples collected from various agricultural areas of Iraq. The isolate was prepared by growing the samples on yeast extract mannitol agar (YEMA). It was identified using culture and microscopic characteristics, biochemical and physiological test, and PCR technology. A split plot experiment was conducted in sterile and non-sterile soil. The results showed a significant increase in the studied characteristics of cowpea due to biofertilizer treatments. The percentages of number of nodules and dry weight of biofertilized plants increased by 193.49 %, 375.00 %, respectively. Root and shoot dry weight increased 122.45 % and 148.34 %, due to biofertilizer treatment compared to non-fertilized ones. The results also showed a significant increase in the number of pods, total yield, and the ratio of protein in seeds by 68.47 %, 225.76 %, and 22.29 % respectively. The differences in growth and yield characteristics due to sterilization were insignificant compared to non-sterile except for nodules weight per dry root produced from non-sterilized treatments, which was significantly higher. The interaction between fertilization and sterilization showed that the fertilized and sterilized treatment combination was significantly higher compared to non-fertilized and sterilized treatment in all studied traits. The isolate used was efficient in nodules formation and caused a significant increase in the characteristics of growth and yield. Attention must be given to treat seeds with this type of inoculum as well as testing other isolates that are characterized by high efficiency in causing nodulation and competing with local bacteria.

Key Words: Inoculation, Legumes, Rhizobium, Sterilization.