Effects of biofertilization with the Bacteria *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas flurescens* on the growth and physiological features of *Matricaria chamomile*

تأثير التسميد الحيوي ببكتيريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas flurescens* في الصفات الفسلجية لنمو نبات البابونج *Matricaria chamomile*

ناجحة محمد باري احمد * **كاظم محمد ابراهيم**
كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء / كلية التقنيات الحيوية / جامعة النهرين

بحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

المستخلص

اجريت الدراسة في حقل النباتات الطبية التابع الى كلية الصيدلة / جامعة كربلاء بهدف معرفة تأثير التسميد الحيوي Biofertilization بكتيريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas flurescens* في الصفات الفسلجية لنمو نبات البابونج *M. chamomile*. اثبتت نتائج الدراسة الحالية تفاوت النسبة المئوية للزيت الطيار المستخلص من معاملات التسميد الحيوي قيد الدراسة ، اذ اعطت معاملة (*B. subtilis + Ps. fluorescens*) اعلى نسبة مئوية بلغت 25.28% مقارنة مع معاملة C و *B.* و *Ps.* والبالغة 8.76 و 11.68 و 12.915% على الترتيب. كما وسجل ارتفاعاً معنوياً في جاهزية العناصر الكبرى والصغرى (النتروجين N ، الفسفور P ، البوتاسيوم K ، والمغنيسيوم Mg ، الحديد Fe ، المنغنيز Mn ، النحاس Cu ، الزنك Zn) في اوراق نبات البابونج ولمعاملات التسميد الحيوي المدروسة. كما وبينت نتائج التحليل الاحصائي تفوق معاملة (*B.* + *Ps.*) في زيادة معدلات قيم الكلوروفيل A والكلوروفيل B معنوياً اذ بلغ اعلى معدل لقيمة الكلوروفيل A (4.21) ملغم / 100 غم متفوقة على معاملة السيطرة ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* اذ بلغت قيمة الكلوروفيل A (1.41 ، 2.19 و 2.35) ملغم / 100 غم على التوالي ، كما وازدادت قيم الكلوروفيل B في معاملة (*B.* + *Ps.*) اذ وصل اقصاه (3.78) ملغم / 100 غم متفوقة على المعاملات C و *B.* و *Ps.* والتي بلغت (1.45 ، 2.01 و 2.25) ملغم / 100 غم على الترتيب . واشارت النتائج الى زيادة في الوزن الجاف لاوراق نبات البابونج ولكافة المعاملات المدروسة اذ تفوقت معاملة (*B.* + *Ps.*) معنوياً وبلغت (1.553) غم مقارنة مع معاملة السيطرة ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* والتي بلغت (0.031) غم ، (0.087) غم ، (0.060) غم على الترتيب.

Abstract

This study was conducted at the medical plants farm , and the animal house of the Collage of Pharmacy / Kerbala University . The aim was to investigate effects of biofertilization with *Bacillus subtilis* , *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis + Pseudomonas fluorescens* on the physiological features growth of *Matricaria chamomile* . The effects of biofertilization showed that there was a highly significant increase in the volatile oil percentage in (*Bacillus subtilis + Pseudomonas fluorescens*) treatment reached to 25.28% compared to control treatment , *B. subtilis* treatment, *Ps. fluorescens* treatment reached to 8.76% , 11.68% and 12.19% respectively.

The results also showed increasing in the availability of essential elements which included (N , P, K, Ca , and Mg) and micro elements (Fe , Mn , Cu , Zn and) to dry leaves of *Matricaria chamomile* compared to control treatment .

On the other hand , the results also showed increasing in the ratio of chlorophyll (A) and chlorophyll (B) and dry weight of flowers to *M. chamomile* in (*B.* + *Ps.*) treatment reached (1.553) gm compared to C, *B.* , *Ps.* Reached to (0.031) gm , (0.087) gm , (0.060) gm respectively .

المقدمة

اتسعت مجالات توظيف الاحياء المجهرية في الانتاج الصناعي حيث لم يعد مقتصراً على انتاج المركبات الصناعية والغذائية بل تعداه ليشمل انتاج مركبات دوائية اهمها المضادات الحياتية (Antibiotics) ، الهرمونات (Hormones)، المبيدات (Pesticides)، الاسمدة الحيوية (Biofertilizers)، الطاقة والغاز الحيوي [1] . ومن التقنيات الاحيائية المتطورة عبر السنوات الماضية هي استخدام الاسمدة الحيوية التي تساهم في تجهيز النباتات بقدر كبير من المغذيات كالعناصر المعدنية والهرمونات لغرض تحسين نوعية وكمية الانتاج الزراعي [2] .

يعد نوع الكائن المجهري المستثمر صناعياً مفتاحاً لنجاح او فشل العملية الاحيائية ، اذ ينبغي ان تكون له مواصفات ومميزات اذا ما اريد للعملية الصناعية الاحيائية النجاح . وفي هذا المجال نال نوعا البكتيريا *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* مركز الصدارة لامتلاكهما الكثير من مواصفات العامل الحيوي في مجالات تصنيع الاسمدة الحيوية [3] .

واشارت عدة دراسات الى دور البكتيريا *B. subtilis* و *Ps. fluorescens* في زيادة النمو الخضري للنبات من خلال انتاجها العديد من المركبات المحفزة للنمو Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) وانعكاس ذلك على الحاصل ايجابياً [4] . اضافة لقدرتهما على انتاج العديد من المضادات الحياتية مثل Pyrroluitrin و Pyolcoterin المثبطة لنمو العديد من المسببات المرضية لبعض المحاصيل الاقتصادية المهمة [5] .

اجريت اول دراسة من نوعها في العراق على جنس *Bacillus* spp. للسيطرة على مرض تعفن الحنطة [6] . ونظراً لاهمية التسميد الحيوي في العمليات الزراعية وسوء استخدام الاسمدة الكيميائية وما يتبعه من تأثيرات سلبية على البيئة ، فضلاً عن كلفتها العالية . لذا تم التركيز في دول العالم المتقدم على استعمال الاسمدة الحيوية وبنطاق واسع لما تسببه من مؤشرات معنوية في النمو المورفولوجي والفسلجي للمحاصيل [7] . ونتيجة للزيادة الكبيرة في عدد سكان العالم وارتقاء الوعي الصحي لدى الشعوب ازداد الطلب على العقاقير الطبية المصنعة وبكميات كبيرة نظراً لكون الادوية التي يتناولها المريض تعمل في اغلب الاحيان على شفاء المرض ظاهرياً لكن تبقى مسبباته كامنة لتتحول الى حالة مزمنة لاحقاً ، وقد تؤثر في مناعة ومقاومة الجسم للامراض الاخرى [8] .

شاع استعمال نبات البابونج *Matricaria chamomile* إذ عزلت العديد من مركباته الفعالة طبياً مثل المركبات الفينولية والمتمثلة بالفلافونويدات ، والمركبات التربينية والمتمثلة بالزيوت اضافة الى الكلايكوسيدات ، وتعد ايضاً مصدراً للسكريات ، الدهون ، الفيتامينات ، الزيوت العطرية وصبغة الازولين الصفراء [9] . يستخدم نبات البابونج في علاج الكثير من امراض الجهاز التنفسي ، والتهابات الانف والاذن والحنجرة ، وسرطان الجلد بوصفه مضاداً للاكسدة ، وتأثيره في تحفيز المناعة ، اضافة الى ان مستخلص البابونج يعمل عمل الوارفارين لاحتوائه على الكومارين في منع تخثر الدم وذلك لارتباطه مع فيتامين K الذي يعد عاملاً مهماً في عملية تخثر الدم [10] . أستخدمت كل من بكتيريا *B. subtilis* و *Ps. fluorescens* كأسمدة حيوية لمعرفة مدى تأثيراتهما في الصفات الفسلجية لنمو نبات البابونج.

الهدف من الدراسة

بالنظر لقلة الدراسات في العراق في مجالات التسميد الحيوي للنباتات الطبية لذا فقد هدفت الدراسة الى الحصول على سماد حيوي من بكتريا *B. subtilis* ولقاح بكتيريا *Ps. Fluorescens* وتأثيرهما في جاهزية بعض العناصر الكبرى والصغرى وبعض الصفات الفسلجية لنبات البابونج

*** المواد وطرائق العمل**

1- ازهار نبات البابونج *Matricaria chamomile* او ما يسمى بالبابونج المحلي.

2- الاوساط الزرعية المستعملة في الدراسة :

A- وسط الاكار المغذي.

B- وسط المرق المغذي.

حضرت هذه الاوساط بحسب تعليمات الشركة المصنعة لها وعقمت بالموصدة (Autoclave) وبدرجة حرارة (121)ْم وضغط (15) باوند / انج^2 لمدة (20) دقيقة اضافة الى العديد من الاجهزة والزجاجيات ذات الاشكال والاحجام المختلفة.

3- تحضير لقاح بكتيريا *B. subtilis*

حضرت سلسلة من التخافيف العشرية للمستحضر الحيوي الجاف تحت ظروف التعقيم التام ، نقل 1 مل من كل من التخافيف الثلاثة الاتية (10^{-9} – 10^{-10} – 10^{-11}) الى اطباق زجاجية معقمة حاوية على المرق المغذي Nutrient – agar (N.B) ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة (37 ± 1)ْم ولمدة (24) ساعة[11]. حسب بعد ذلك التركيز النهائي في 1 مل حسب ما ورد في [12] .

4- تحضير لقاح بكتيريا *Ps. fluorescens* :

تم اكثار عزلة البكتيريا *Ps. fluorescens* على الوسط السائل King's Medium Broth (K.B) (عقم الوسط بجهاز التعقيم البخاري Autoclave) في دوارق زجاجية ولقح كل دورق بالبكتيريا ووضعت في هزاز كهربائي مدة 10 دقائق بعدها حضنت على درجة حرارة (23 ± 1)ْم لمدة 48 ساعة [13]. سحب 1 مل من الوسط السائل (K.B) الحاوي على البكتيريا بواسطة ماصة معقمة واضيفت الى انبوبة اختبار حاوية على 9 مل ماء مقطر معقم ، وحضرت منه سلسلة من التخافيف (10^{-1} – 10^{-8}) في انابيب اختبار كل منها يحوي على 9 مل ماء مقطر معقم ، حضرت خمسة اطباق حاوية على وسط (K.B) الصلب

ولقحت بمعلق البكتيريا بمعدل 1 مل لكل طبق ، حضنت بدرجة حرارة (23 ± 1)ْم لمدة 48 ساعة، احتسبت بعدها عدد المستعمرات في كل طبق واستخرج المعدل.

5- مزج نوعي البكتيريا *B. subtilis* و *P. fluorescens*

تم تحضير وسط (M.B) في دوارق زجاجية معقمة ولقحت كالاتي :

1- دورق 1 بلقاح البكتيريا *B. subtilis* و *P. fluorescens* وذلك باضافة 1 مل من كل نوع بكتيريا.
2- دورق 2 بلقاح البكتيريا *B. subtilis* بمفردها.
3- دورق 3 بلقاح البكتيريا *P. fluorescens* بمفردها.

حضنت الدوارق بدرجة حرارة 30ْم لمدة (48) ساعة [14] بعدها تم تحضير الوسط الصلب Nutrient agar وبعد تعقيمه وصبه في اطباق ، وتمت اضافة 1 مل من لقاح كل معاملة الى الاطباق ثم حضنت بدرجة حرارة 30ْم لمدة 48 ساعة ، ثم حسبت عدد المستعمرات الكلية والمفردة.

6- تعقيم النورات الزهرية

عقمت النورات الزهرية بمادة هايبوكلورات الصوديوم (NaOCL) تركيز 1% لمدة 10 دقائق ثم غسلت ثلاث مرات متتالية بالماء المقطر المعقم لمدة 5دقائق في كل مرة لازالة اثار المادة المعقمة [15].

7- حساب نسبة انبات البذور المعقمة

وضع 0.5 غم من البذور في طبق زجاجي وبثلاث مكررات ، اضيف اليها قطرات من الماء ، حضنت البذور على درجة حرارة (25 ± 1)ْم واضاءة 1000 لوكس لمدة 16 ساعة يومياً ، سجلت نسبة الانبات بعد 7 ايام ، وطبقت المعادلة الاتية لحساب النسبة المئوية للانبات:

$$\% \text{ للانبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{العدد الكلي للبذور}} \times 100$$

وتم حساب عدد البادرات البازغة لحين وصول نسبة الانبات الى ما يقارب 100% .

8- تلقيح البذور بلقاح *B. subtilis* و *Ps. Fluorescens* ومزيج اللقاحين معاً :

بعد حساب نسبة الانبات لبذور البابونج اجريت عملية التلقيح بنوعي البكتيريا والمزيج معاً وذلك بترطيب سطح البذور بمحلول مائي من الصمغ العربي تركيز 40% (وزن : حجم) ، قلبت عدة مرات وتركت لتجف لمدة 1 ساعة.

9- المعاملات المستخدمة في الدراسة :

A- بذور بابونج منقوعة بماء معقم لمدة (5-10) دقائق.
B- بذور بابونج منقوعة بالمعلق البكتيري *B. subtilis* لمدة (5-10) دقائق.
C- بذور بابونج منقوعة بالمعلق البكتيري *Ps. Fluorescens* لمدة (5-10) دقائق.
D- بذور بابونج منقوعة بمزيج من لقاحي نوعي البكتيريا *B. subtilis* و *P. fluorescens* ولمـدة (5-10) دقائق .

10- زراعة البذور

زرعت البذور المعقمة والملوثة بنوعي البكتيريا والمزيج معاً باحواض بلاستيكية بابعاد (35 × 80) سم تحتوي على تربة مزيجية تم تعقيمها باقراص التعقيم المحببة (Garanular Basmid) . وبعد مرور (7-10) ايام من الشتل عوملت بلقاح نوعي البكتيريا والمزيج معاً وحسب التراكيز التي حددت لكل نوعي البكتيريا وبحجم 500 مل / شتلة في منطقة المهاد (Seed bead) من المعلق البكتيري. كما واجري تحليل شامل لتربة الارض المعقمة وتربة الحقل غير المعقمة المعدة للزراعة وكما في جدول 1.

11- الزراعة في تربة غير معقمة في الحقل

*** تحضير واعداد ارض التجربة**

اجريت العمليات الزراعية لغرض تهيئة التربة ، بعدها تم تقسيم الحقل الى ثلاث وحدات تجريبية وبواقع ثلاث مكررات لكل معاملة اضافة الى معاملة السيطرة ، وتم اجراء كافة العمليات الزراعية حتى نهاية نضج النبات وجمع الازهار ، حيث تم اضافة سماد حيواني (اغنام) مخمر وبواقع (3) كغم / لوح قبل الزراعة.

جدول (1) . بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الحقل

الصفة	الوحدة	تربة معقمة	تربة غير معقمة
pH	-	7.90	8.04
E.C	ديسيسمنز.م$^{-1}$	4.70	2.20
Na	جزء بالمليون (ppm)	223.10	188.60
K	جزء بالمليون (ppm)	38.00	542.30
P	جزء بالمليون (ppm)	182.00	871.30
Mg	جزء بالمليون (ppm)	352.00	101.50
Cl	جزء بالمليون (ppm)	216.00	300.70
SO_4	جزء بالمليون (ppm)	256.70	660.60
HCO_3	جزء بالمليون (ppm)	550.00	400.6 0
NO_3	جزء بالمليون (ppm)	7.00	1.50
الرمل Sand	غم. كغم$^{-1}$	590	130
الغرين Silt	غم. كغم$^{-1}$	250	570
الطين Clay	غم. كغم$^{-1}$	160	300
نسجة التربة Texture		مزيجة رملية Sandy loam	طينية غرينية Silt clay

- **تم تحليل عينات التربة المعقمة وغير المعقمة في مختبرات قسم التربة والمياه - كلية الزراعة - جامعة بغداد .**

12- دراسة مؤشرات النمو :

1- تقدير محتوى العناصر المعدنية الكبرى والصغرى :

أ- النتروجين : باستعمال جهاز Microkjeldahl

ب- الفسفور : باستعمال جهاز Spectrophotometer

ج- البوتاسيوم : باستعمال جهاز Flame photometer

د- الحديد والزنك والنحاس والكالسيوم والمغنيسيوم والمنغنيز والصوديوم بواسطة جهاز مطياف الامتصاص الذري (Atomic Absorption spectrophotometer).

2- تقدير محتوى الكلوروفيل

استعملت طريقة [16] مع بعض التحويرات لتقدير كميتي الكلوروفيل A و B واستعمل جهاز المطياف الضوئية Spectrophotometer ، بعد تعيير الجهاز بواسطة الاسيتون ثم قدر الكلوروفيل بنوعيه A و B وعلى الطول الموجي 663 و 646 نانوميتر بالتتابع وكالاتي :

Chl. A gm / L = 12.12 (AB663) – 2.81 (AB646)

Chl. B gm / L = 20.13 (AB646) – 5.03 (AB663)

ثم حسبت كمية الكلوروفيل لكل 100 غم من النسيج النباتي اعتمادا على المعادلة الاتية :

$$mg / 100\ g = \frac{g / L}{1000\ ml} \times \frac{100\ g}{sample\ w.g}$$

3- تقدير النسبة المئوية للزيت الطيار

تم استخلاص الزيت الطيار (Volatile oil) لكل معاملة من معاملات التسميد الحيوي قيد الدراسة بواسطة طريقة التقطير بالبخار (Steam distillation) اذ استعمل جهاز Clavenger لاستخلاص الزيت الطيار واستمرت عملية الاستخلاص لمدة 3 ساعات لكل عينة لحين الحصول على اعلى كمية من الزيت ولكل معاملة . حفظت نماذج الزيت المستخلص في زجاجات صغيرة ملونة محكمة (British Herbal Pharmacopia) وتم تحليل النتائج بعد حساب اقل فرق معنوي بين المتوسطات (L.S.D) وعلى مستوى احتمالية (0.05).

4- تقدير الوزن الجاف لازهار نبات البابونج : Dry Weight

حصدت ازهار نبات البابونج لكل معاملة من معاملات التسميد الحيوي قيد الدراسة على حدة ، تم وزن الازهار الجافة بعد التجفيف الطبيعي لمدة 14 يوما باستعمال الميزان الحساس [17] .

*** التصميم التجريبي وتحليل الاحصائي Experimental design and statistical analysis**

صممت التجارب ضمن القطاعات العشوائية الكاملة (R.C.B.D) (Randomized Complet Block Design) وحللت النتائج وفق التصميم المتبع وقورنت متوسطات المعاملات باستعمال أقل فرق معنوي (L.S.D) وعلى مستوى أحتمالية ($P < 0.05$) لبيان معنوية النتائج [18] ..

النتائج والمناقشة

تنمية نوعي البكتيريا *B. subtilis* و *Ps. fluorescens* في وسط زرعي واحد

اظهرت نتائج هذا الاختبار في جدول (2) قدرة كلا نوعي البكتيريا على النمو في وسط زرعي واحد اذ بلغت الكثافة الكلية للبكتيريا (2.4×10^8 u.f.c) ، هذه النسبة تتقارب مع نسبة نمو كل من .B و .Ps كلاً على انفراد عند تنميتهما على الوسط الزرعي [19].

جدول (2) كثافة بكتيريا *B. subtilis* و *Ps. fluorescens* عند زرعهما في وسط زرعي واحد

نوع البكتيريا	كثافة البكتيريا u.f.c
مزيج *B. subtilis* و *Ps. fluorescens*	2.4×10^8
بكتيريا *B. subtilis* في المزيج	1.03×10^8
بكتيريا *Ps. flourescens* في المزيج	1.07×10^8
بكتيريا *B. subtilis* بصورة مفردة	2.04×10^8
بكتيريا *Ps. Flourescens* بصورة مفردة	2.2×10^8
L.S.D 0.05 = 0.0338	

جاهزية العناصر الكبرى والصغرى

A- العناصر الكبرى

1- النتروجين :

تشير النتائج في جدول 3 بأن معاملة التسميد الحيوي ببكتيريا (*B. + Ps.*) ذات كفاءة معنوية في زيادة محتوى اوراق نبات البابونج من جاهزية عنصر النتروجين اذ اعطت اعلى نسبة تركيز مئوية بلغت 1.83% في حين بلغت 1.05 لمعاملة *B.* و 1.09% لمعاملة *Ps.* وتفوقت جميعاً على معاملة السيطرة والتي بلغت 0.65%.

تتقارب هذه النتائج مع ما توصلت اليه [20] و [21] ، كما يعمل المستحضران معاً على حماية الجذور من الاضرار الناجمة من المسببات المرضية والمتمثلة بقتل وتحليل كلي او جزئي للمجموع الجذري للنبات ومن ثم تنمو الجذور بصورة طبيعية في التربة مما يزيد من فعاليتها في امتصاص العناصر المهمة .

جدول (3) جاهزية العناصر الكبرى لاوراق نباتات البابونج لمعاملات التسميد الحيوي ببكتيريا *B. subtilis* و *Ps. fluorescens* ومعاملة (*Ps. flourescens + B. subtilis*)

المعاملات	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Na (%)
Control	0.65	0.30	1.23	0.36	0.26
B.	1.05	0.35	1.40	0.63	0.18
Ps.	1.09	0.46	1.50	0.70	0.14
B. + Ps	1.83	0.55	3.00	1.11	0.07
L.S.D $_{0.05}$	0.111	0.121	0.191	0.213	0.675

2- الفسفور

أثر المستحضر الحيوي لبكتيريا (*Ps. + B.*) بشكل معنوي في زيادة النسبة المئوية لعنصر الفسفور لاوراق نباتات البابونج المعاملة بالمستحضرات الحيوية قيد البحث اذ بلغت 0.55% لمعاملة *B.* و 0.46% لمعاملة الـ *Ps.* مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغت 0.30% . تتقارب هذه النتائج مع نتائج [21] و [22] و [23] اذ يعمل المستحضران معاً على زيادة عنصر الفسفور عن طريق قابليتهما على تحليل الصخور الغنية بالفسفور ، وتركيز بعض الايونات على سطح الجذور نتيجة لتواجد انواع بكتيريا P.G.P.R المشجعة للنمو مما يزيد من امتصاص العناصر المغذية ومنها الفسفور.

3- البوتاسيوم

اظهرت نتائج التحليل كفاءة التسميد الحيوي لمعاملة (*Ps. + B.*) في زيادة جاهزية عنصر البوتاسيوم معنوياً عن باقي المعاملات قيد الدراسة اذ بلغت 3.00% فيما بلغت 1.40% لمعاملة الـ *B.* و 1.50% لمعاملة الـ *Ps.* في حين بلغت 1.23% لمعاملة السيطرة. تتشابه هذه النتائج مع ما توصل اليه [24] و [25] في زيادة جاهزية عنصر البوتاسيوم لاوراق نبات الطماطة اذ يعمل المستحضران في زيادة العمليات الحيوية كتنظيم الجهد الازموزي اضافة الى دور البوتاسيوم في تنظيم عملية فتح وغلق الثغور وتنظيم المحتوى المائي وكذلك لانتقال نواتج التمثيل الغذائي.

4- الكالسيوم

اوضحت نتائج التحليل زيادة جاهزية عنصر الكالسيوم في اوراق نبات البابونج في معاملـة (*Ps. + B.*) اذ بلغت 1.11% وتفوقت على باقي المعاملات قيد الدراسة وهي C ومعاملة B ومعاملة الـ Ps. وبنسب تراوحت 0.36 و 0.68 و 0.70% على الترتيب. تتماثل هذه النتائج مع ما توصل اليه [26] من كفاءة المستحضر الحيوي *Ps. fluorescens* في زيادة جاهزية عنصر الكالسيوم في اوراق نبات فول الصويا مع نتائج [27] في جاهزية الكالسيوم في اوراق نبات الذرة الصفراء ، اذ يعمل الكالسيوم في زيادة رص الخلايا المتجاورة ويشترك ايضاً في نقل الكربوهيدرات وتنظيم الجهد الازموزي ونفاذية الاغشية الخلوية.

5- الصوديوم

ادت معاملة المستحضر الحيوي (*Ps. + B.*) الى انخفاض غير معنوي في النسبة المئوية لعنصر الصوديوم بلغت نسبته في اوراق نبات البابونج للمعاملة 0.07% في حين بلغت للمعاملات C و *B.* و *Ps.* الى 0.26 و 0.18 و 0.14% على الترتيب. تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه [28] في خفض مستوى Na في اوراق نبات الطماطة وتحت اجهاد ملحي.

B- العناصر الصغرى

1- الحديد (Fe)

يلاحظ من الجدول 4 بأن معاملة (*Ps. + B*) تفوقت معنوياً عن باقي المعاملات قيد البحث اذ بلغت 160.61 ppm في حين بلغت في معاملة السيطرة ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* 90.00 ، 140.00 و 150.00 ppm على الترتيب.

جدول (4) جاهزية العناصر الصغرى لاوراق نباتات البابونج لمعاملات التسميد الحيوي ببكتيريا *B. subtilis* و *Ps. fluorescens* ومعاملة (*Ps. flourescens* + *B. subtilis*)

Mg (ppm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Mn (ppm)	Fe (ppm)	المعاملات
0.23	33.11	3.00	10.33	90.00	**Control**
0.49	50.13	7.55	13.22	140.00	***B.***
0.54	55.71	8.11	17.00	15.00	***Ps.***
0.55	70.63	10.11	19.21	160.61	***B. + Ps***
0.10	10.99	0.88	1.91	10.81	**L.S.D $_{0.05}$**

تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه [27] و [21] حول كفاءة المستحضرات الحيوية لـ *B.* و *Ps.* في زيادة معدلات قيم عنصر الحديد في اوراق نبات الذرة الصفراء اذ بلغت (168) ppm متفوقة على معاملة السيطرة والتي تراجعت الى (158) ppm حيث للحديد دور مهم في تركيب (Cytochromes) المهمة في عمليتي التنفس والبناء الضوئي ، اضافة الى اهميته في تثبيت النتروجين حيوياً واختزال النترات الى امونيا كما انه يدخل في تكوين الاحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة.

2- المنغنيز (Mn)

اظهرت معاملة المستحضر الحيوي تفوقاً معنوياً عن باقي المعاملات قيد البحث والتي بلغت 19.21 ppm في حين بلغت القيم في معاملات السيطرة ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* (10.33 و 13.22 و 17.00 ppm) و (19.21 ppm) على التوالي. تتفق هذه النتائج مع [25] من زيادة جاهزية عنصر المنغنيز في نبات الطماطة اذ بلغت (1.11) ppm متفوقة على معاملة المقارنة التي بلغت (98) ppm . وهذا يرجع لدور المنغنيز في اظهار صبغة الكلوروفيل والموازنة بين نسبة الحديدوز الى الحديديك في النبات ودوره في انزيمات التنفس وتفاعلات الضوء والتركيب الضوئي .

3- المغنيسيوم :

بينت نتائج التحليل لاوراق نبات البابونج ولمعاملة المستحضر الحيوي (*Ps.* + *B.*) كفاءة في زيادة جاهزية عنصر المغنيسيوم اذ بلغت 0.55 ppm في حين بلغت جاهزية هذا العنصر في معاملات السيطرة ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* الى (0.23 و 0.49 و 0.54) ppm على الترتيب. تتقارب هذه النسب مع [20] و [25] من كفاءة المستحضرات الحيوية لـ *B.* و *Ps.* في زيادة جاهزية عنصر المغنيسيوم في اوراق نبات الطماطة اذ وصلت في معاملة المستحضر الحيوي الى 0.43 ppm متفوقة على الجاهزية للعنصر في معاملة المقارنة والتي بلغت 0.31 ppm .

4- الزنك (Zn) :

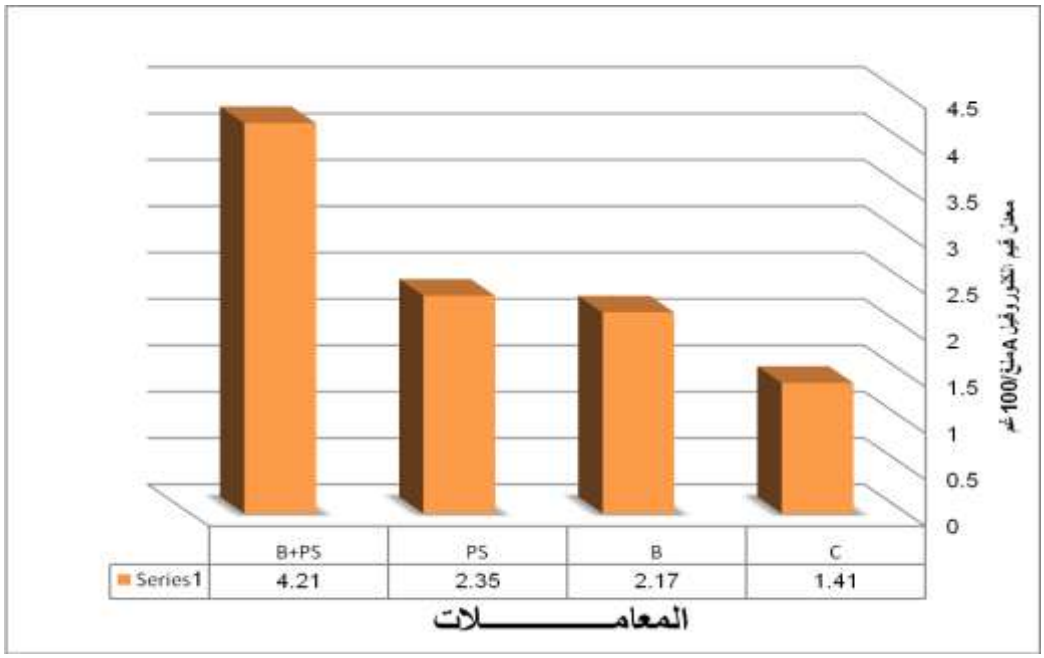
تفوقت معاملة المستحضر الحيوي (*Ps.* + *B.*) معنوياً على باقي المعاملات قيد البحث بلغت 70.63 ppm في حين بلغت النسب في معاملة السيطرة ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* (33.11 و 50.13 و 55.71 ppm على الترتيب. تتماثل هذه النتائج مع ما اوضحه [25] في جاهزية عنصر الزنك في اوراق نبات الطماطة ومع [24] في زيادة جاهزية عنصر الزنك في اوراق نبات الباميا اذ بلغت اعلى قيمة لمعاملة المستحضر الحيوي 73.16 ppm متفوقة وبفارق معنوي على معاملة السيطرة والتي بلغت 32.51 ppm . وهذا يرجع للدور الكبير للزنك في تكوين IAA و GA3 والسايتوكاينين وتحفيزه للتفاعلات الانزيمية المهمة.

5- النحاس (Cu) :

اشارت نتائج التحليل الاحصائي لاوراق نبات البابونج ولمعاملة التسميد الحيوي ببكتيريا (*Ps.* + *B.*) تفوقاً معنوياً بلغت 10.11 ppm عن باقي معاملات C و *B.* و *Ps.* والتي بلغت (3.00 ، 7.55 و 8.11) ppm على الترتيب . تتماثل هذه النتائج مع [25] و [24] حول كفاءة المستحضرات الحيوية لبكتيريا *B.* و *Ps.* في رفع قيمة عنصر النحاس وذلك لكفاءة نوعي البكتيريا في خفض المجتمع الميكروبي المتواجد على اسطح جذور النباتات ومنطقة محيط الجذر بفضل الاليات التضادية لنوعي البكتيريا وبالتالي زيادة كفاءة عنصر النحاس في عمليات الاكسدة والاختزال وعملية التنفس والانزيمات التأكسدية مثل Ascorbate oxidase و Phenol oxidase.

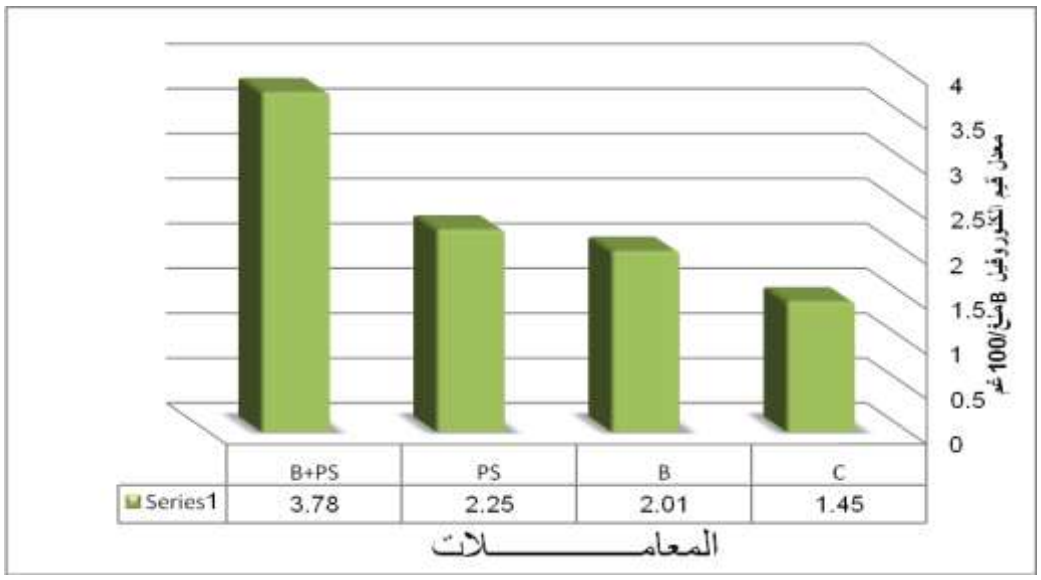
*** تأثير التسميد الحيوي في معدلات كلوروفيل A ، B لاوراق نبات البابونج**

بينت نتائج التحليل الاحصائي في الشكلين (1) و (2) تفوق معاملة المستحضر الحيوي (*B.* + *Ps.*) في زيادة معدلات الكلوروفيل A و B على جميع معاملات التسميد الحيوي قيد البحث ، اذ بلغ اعلى معدل لقيمة الكلوروفيل A 4.21 ملغم / 100 غم متفوقة على سائر معاملات السيطرة ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* اذ بلغت قيمهم (1.41 و 2.17 و 2.35) ملغم / 100 غم على الترتيب.



الشكل رقم (1) تأثير معاملات التسميد الحيوي ببكتيريا الـ *B.* و *Ps.* والـ (*B. + Ps.*) لقيمة الكلوروفيل (A) لاوراق نبات البابونج *M. chamomile*

كما وازدادت قيم الكلوروفيل B (الشكل 4) في معاملة التسميد الحيوي (*B. + Ps.*) اذ وصلت اعلى قيمة لمعدله 3.78 ملغم / 100 غم متفوقة على باقي معاملات السيطرة ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* اذ بلغت (1.45 و 2.01 و 2.25) ملغم / 100 غم على الترتيب.



الشكل رقم (2) تأثير معاملات التسميد الحيوي ببكتيريا *B.* و *Ps.* و (*B. + Ps.*) لقيمة الكلوروفيل (B) لاوراق نبات البابونج *M. chamomile*

تماثلت هذه النتائج مع ما اوضحه [20] و [24] حول كفاءة المستحضرات الحيوية في زيادة معدلات قيم الكلوروفيل A و B في نباتات الحنطة والباميا . وقد يعزى سبب كفاءة المستحضرات الحيوية لمعاملة البكتيريا (*B. + Ps.*) في زيادة معدلات الكلوروفيل A و B الى كفاءة كل من نوعي البكتيريا في خفض مستوى استهلاك الكلوكوز في اوراق نبات البابونج ومن ثم زيادة معدل التمثيل والبناء الضوئي نتيجة لانعكاس مسار الطاقة ، اضافة الى مقدرة نوعي البكتيريا بتوفير كميات اضافية من العناصر

المختلفة والتي ينعكس تأثيرها على كمية الكلوروفيل ، فزيادة نسبة النتروجين يزيد من تصنيع الكلوروفيل ، اذ ان 70% من نتروجين الورقة يدخل في تركيب الصبغة ولعنصر الحديد دوراً فعالاً في زيادة مستوى الكلوروفيل من خلال تأثيره في زيادة اعداد واحجام البلاستيدات الخضراء اضافة الى ان الحديد يشترك كعامل مساعد في تكوين الكلوروفيل لاشتراكه في تكوين السايتوكروم ومركب Ferrdoxin المهم في عملية البناء الضوئي.

*** الوزن الجاف لازهار نبات البابونج :**

تبين النتائج في الجدول 5 بأن لنوع الكائن الحي تأثيرات واضحة في التسميد الحيوي في صفة الوزن الجاف لازهار نباتات البابونج ، اذ هناك زيادة في الوزن الجاف لكل المعاملات قيد البحث ولكن هذه الزيادة تكون معنوية او غير معنوية عند مستوى احتمال 0.05 ، وكانت معاملة التسميد الحيوي ببكتيريا (*B. + Ps.*) هي الافضل اذ بلغت 1.553 غم ومتفوقة على معاملات C ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* والتي بلغت 0.031 غم و 0.087غم و 0.060 غم على الترتيب.

جدول (5) الوزن الجاف لازهار نباتات البابونج المعاملة بالتسميد الحيوي ببكتيريا *B. subtilis* و *Ps. fluorescens* ومعاملة (*Ps. flourescens + B. subtilis*)

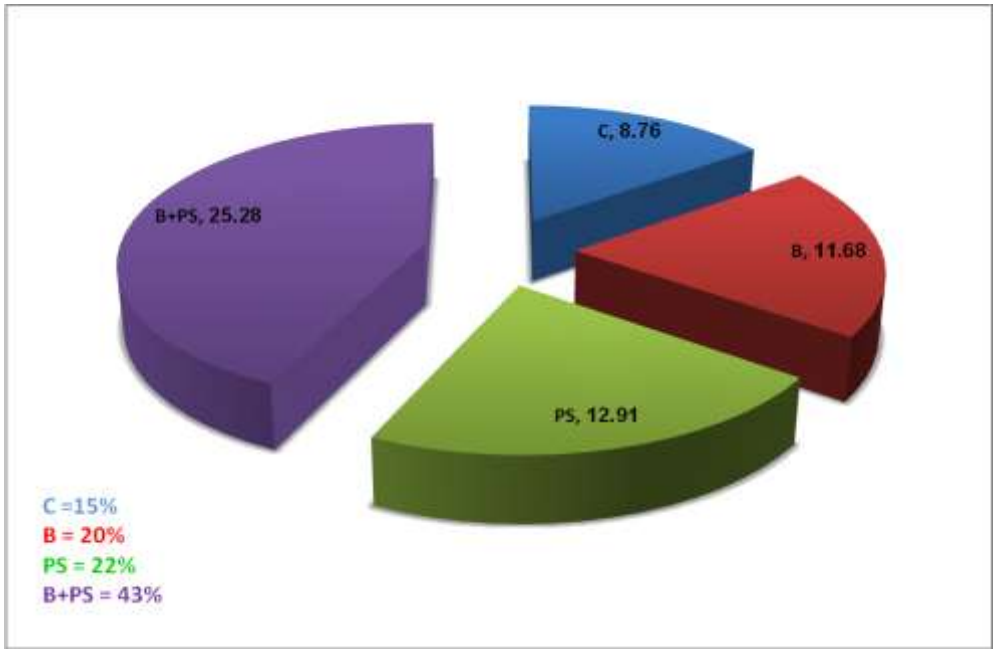
المعاملات	الوزن الجاف للازهار / غم			
	R1	R2	R3	المعدل
Control	0.001	0.022	0.071	0.031
التسميد ببكتيريا *B.*	0.013	0.034	0.215	0.087
التسميد ببكتيريا *Ps.*	0.070	0.060	0.051	0.060
التسميد ببكتيريا (*B. + Ps*)	1.910	1.220	1.530	1.553
المتوسط	0.498	0.334	0.466	0.432
$L.S.D_{0.05}$	0.004			

ويعزى تأثير التسميد الحيوي ببكتيريا (*B. + Ps.*) الى زيادة النمو من خلال كفاءة البناء الضوئي وزيادة في الفعاليات الحيوية عن طريق زيادة كمية الكربوهيدرات وزيادة كمية الكلايكوسيدات التي يدخل في تركيبها المواد السكرية وهذا مرتبط ايجابياً بزيادة انتاج منظمات النمو والتي ادت الى زيادة عدد الافرع الخضرية والافرع المزهرة وعدد النورات الزهرية في معاملة الـ (*B. + Ps.*) والذي بدوره ادى الى زيادة في الوزن الجاف للازهار .

تأثير التسميد الحيوي في النسبة المئوية للزيت الطيار في ازهار نبات البابونج :

تبين نتائج الشكل 5 تفاوت النسبة المئوية في الزيت المستخلص من معاملات التسميد الحيوي للبابونج قيد الدراسة اذ اعطت معاملة (*B. + Ps.*) اعلى نسبة مئوية للزيت الطيار والتي بلغت 25.28% مقارنة مع معاملة المقارنة ومعاملة *B.* ومعاملة *Ps.* والتي بلغت 8.76% و 11.68% و 12.91% على التوالي.

تتفق هذه النتائج مع ما توصلت اليه [29]على نبات البابونج والذي اعطى نتائج ايجابية في النمو الخضري وافرع زهرية ونورات زهرية ومن ثم زيادة نسبة الزيت استجابة لمنظم النمو GA_3 .



شكل رقم (3) تأثير معاملات التسميد الحيوي ببكتيريا الـ *B.* و *Ps.* والـ (*B. + Ps.*) في نسبة الزيت المنوية لازهار نبات البابونج *M. chamomile*

المصادر

[1] المصلح ، رشيد محجوب ونظام كاظم عبد الامير الحيدري . (1989). الاحياء المجهرية الصناعية. مطابع التعليم العالي في الموصل. جمهورية العراق. ص688.

[2] ابو عرقوب ، محمود موسى. (2000). المقاومة الحيوية لامراض النبات. المكتبة الاكاديمية ، جمهورية مصر العربية ، ص 684 .

[3] Safiyazov , J.S., Mananov , R.N. and Sattarova , R.K. 1995. The use of bacterial antagonists for control of cotton disease. Field Crops Research. 43 : 51-54.

[4] Kloepper , J.W. ; Schroth , M.N. and Miller , T.D. (1988).Effect of Rhizosphere colonization by plant growth promoting Rhizobacteria on potato plant development and yield phytopathogy , 70 : 1078-1082.

[5] Yuming , B. ; Xiaomin , Z. and Donald , L.S. (2003). Enhanced soybean plant growth resulting from co inoculation of Bacillus strain with *Bradyhizobium japonicum* . J. Crop Sci. Quchee , Canada , 43 : 2-13.

[6] الجميلي ، سامي عبدالرضا علي وضياء سالم الوائلي. (2000). دراسة كفاءة سلالة البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* PF-5 في مقاومة الفطر *Fusarium graminearum* و *Rhizoctonia solani* وزيادة النمو في محصول الحنطة . مجلة البصرة للعلوم الزراعية. 2 (13). 43-51 .

[7] Ryu , C.M. ; Forag , M.A. ; Hu , C.H. ; Reddy , M.S. ; Wei , H. X. ; Pare , P.w. and Kloepper , J.W. (2004). Bacterial volatiles promote grown in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci., 100 : 4927-4932 , USA.

[8] المياح ، عبدالرضا علوان. (2001). النباتات الطبية والتداوي بالاعشاب . جامعة البصرة. مركز عبادي للدراسات والنشر. صنعاء ، اليمن. الطبعة الاولى. ص 231-232.

[9] الدرويش ، مصطفى. (1983). موجز في علم العقاقير الطبية. الهيئة العامة للتعليم والتدريس . وزارة الصحة. الطبعة الثانية. ص 180.

[10] Repolles , G. ; Herro – Martinez , J.M. and Rafols , G. (2006). Analysis of prominent flavonoid glycones by high – performance liquid chromatography using amonolytic type column. J. of Chromatog. A., (1131) : 51-57.

[11] حميد ، سميرة كاظم. (2001). تقنية مستحدثة في انتاج مبيد حيوي من لقاح سلالة البكتيريا CHAO *Pseudomonas fluorescens* . رسالة ماجستير. قسم علوم الحياة. كلية الزراعة. جامعة الكوفة. جمهورية العراق.

[12] Clark , F.E. (1965). Agar – plants method for total microbial (C. F. Black , 1965 methods of soil analysis. Part 2. Publisher Madison , Wisconsin , USA. Pp: 1572.

[13] حمد ، محمد شهاب ، نوراء جبر قاسم. (2011). تأثير مكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي في استحثاث الكالس لنبات البلادونا خارج الجسم الحي ، مجلة العلوم الزراعية العراقية ، المجلد 42 ، العدد 3 ، ص 59-70.

[14] العنسي ، عادل عبدالغني لطيف . (1999). المقاومة المتكاملة لمرض الذبول الفيوزارمي لنبات الطماطة المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporium* و *Fusarium lycopersici* . رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة. جمهورية العراق.

[15] Aasim , M. ; Hussain , N. ; Muhammed , U.E. ; Zubair , M. ; Bilal , S.H. ; Saeed , S. ; Rafique , T.S. and Sancak , C. (2010). *In vitro* shoot regencration of fenugreek (*Trigonella foenum , graecum* L.) using different cytokinins. AFR, J. Biotechnol. 9 (42) . 7174-7179.

[16] Harborne , J.B. (1973). Phytochemical methods. Chapman and Hall (London). Pp. 278.

[17] ابو زيد ، الشحات ناصر . (2000). الزيوت الطيارة ، الدار العربية للنشر والتوزيع . القاهرة . جمهورية مصر العربية . الطبعة الاولى .

[18] الراوي ، خاشع محمود وعبدالعزيز خلف الله. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. ص488. جمهورية العراق.

[19] كاظم ، سعاد وحيد . (2002). انتاج سماد حيوي من لقاح سلالة البكتيريا *Azospirillum irakense* . رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة الكوفة. جمهورية العراق. ص 72.

[20] المعموري ، كوثر فاضل علوان. (2009). تكامل المبيد الحيوي الباسلين مع المبيد الكيمياوي الريدوميل وسماد الفسفور في السيطرة على مرض سقوط بادرات الطماطة المتسبب عن الفطر *Pythium aphanidermatum* . رسالة ماجستير. الكلية التقنية – المسيب . هيئة التعليم التقني. جمهورية العراق. ص 56.

[21] الخفاف ، الاء عبد علي. (2006). مقاومة مرض موت بادرات الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium aphanidermatum* بالمبيدين الحيويين فلوراميل والباسلين والمبيد الكيمياوي بلتانول ودورها في تحسين صفات النمو والانتاج . اطروحة دكتوراه. قسم علوم الحياة – كلية التربية للبنات. جامعة الكوفة. جمهورية العراق.

[22] Glick , B.R. (1995). The enhancement of plant grown by free – living bacteria . Canadian Journal of Microbiology, 41 : 109-117.

[23] Bertr , H. ; Plassard , C. ; Pinochet , X. ; Toraine , B. ; Normand , P. and Cleyet – Morcael , J.C. (2000). Simulation of the ionic transport system in *Brssica napus* by plant grown promoting rizobacterium (Achromobacter sp.) Can. J. Microbiol., 68 : 3328-3338.

[24] العاشور ، علي جابر. (2009). كفاءة بعض العزلات المحلية التابعة للجنس *Bacillus* في السيطرة على بعض الفطريات الممرضة لنباتي الحنطة والباميا. اطروحة دكتوراه. كلية العلوم . جامعة الكوفة. جمهورية العراق.

[25] Broadbent , P., Baker , K.F., Franks , N., and Holland , J. (1977). Effect of *Bacillus* spp. on increased growth of seedlings in steamed and nontreated soil. Phytopathology 67 : 1027-1031.

[26] Lee , K.D. ; Bai , Y. ; Smith , D. ; Han , H.S. and Supanjan , J.I. (2005). Isolation of plant growth promoting Endophytic bacteria from bean nodules . Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 1 (3) : 232-236.

[27] El-Daly , Faten, and Haikel , Nahed. (2006). Role of biological control on some physiological aspects of *Zea mays*. Infected by *Rhizoctonia solani*. Journal of Applied Sciences 6 (13) : 2794-2798.

[28] Woitke , M. ; Junge , H. ; and Schnitzler , H. (2004). *Bacillus subtilis* as growth promoter in hydroponically grown tomatoes under saline conditions. Acta Horti. P. 659.

[29] عطار باشي ، رهف وائل محمود . (2001). تأثير موعد الزراعة وتركيز الجبرلين في النمو والمادة الفعالة لنبات البابونج *Matricaria chamomile* L. . رسالة ماجستير في علوم الحياة – فسلجة نبات ، كلية التربية ابن الهيثم – جامعة بغداد . جمهورية العراق.