تأثير مستويات وطرق إضافة الحديد في كفاءة تثبيت النتروجين الجوي في الجت*

كاظم حسن هنيلي* ، منذر محمد المختار و عبد المهدي صالح الأنصاري*****

قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة البصرة

****قسم علوم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة بغداد***

*****قسم علوم التربة والمياه، كلية الزراعة، جامعة البصرة***

الخلاصة

نفذت تجربة مختبرية في مختبرات قسم علوم التربة والمياه/ كلية الزراعة/ جامعة البصرة لدراسة تأثيراضافة ثلاثة مستويات من الحديد هي (صفر و 0.05 و 0.10) مليمول على هيئة (Fe-EDDHA 6%Fe) بثلاث طرق إضافة (مع المحلول أو رشاً على الأوراق أو مع البذور) في كفاءة بكتريا الرايزوبيا المتخصصة على ألجت ***Rhizobium meliloti*** وتثبيت النتروجين الجوي من خلال دراسة عدد العقد الجذرية ووزنها ونشاط إنزيم الداينتروجينيز(معبراً عنه بكمية الاستيلين المختزلة) والوزن الجاف للجزء الخضري ومحتوى النتروجين لنبات ألجت ***Medicago sativa*** **L. (**صنف محلي **)** المزروع في بيئة رملية معقمة في أنابيب زجاجية . لقحت بيئة النبات باستخدام لقاح بكتيري محضر في المختبر من العقد الجذرية لنباتات جت محلية . أظهرت النتائج زيادات معنوية في معظم الصفات المدروسة عند استخدام مستوى الحديد 0.1 مليمول ، وكانت نسبة الزيادة في عدد العقد الجذرية وكمية الاستيلين المختزلة وكمية النتروجين الممتصة والوزن الجاف 282 و 109 و 93 و 22 % على التوالي مقارنة مع عدم اضافة الحديد . كما بينت النتائج تفوق طريقة إضافة الحديد مع البذور في إعطاء أعلى القيم لمعظم الصفات المدروسة تليها طريقة الإضافة مع المحلول. كما اظهر التداخل بين الحديد وطريقة إضافته تأثيراً معنوياً في صفات عدد العقد ووزنها الكلي في النبات ونشاط إنزيم الداينتروجينيز، وكمية النتروجين الممتصة ، والوزن الجاف للجزء الخضري.

*جزء من أطروحة دكتوراه للباحث الأول .

Effect of Application Methods of Iron on Nitrogen Fixation Efficiency in Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

Huthily K.H.[1] , Almukhtar M. M.[2] Al-Ansary A. S.[3]

Abstract

A laboratory experiment was carried out to investigate the effect of different levels of iron (0 , 0.05 , 0.10 mmole) applied by different **methods** (with nutrient solution , foliar spray and seed treatment) on the efficiency of alfalfa Rhizobium (***Rhizobium meliloti***) and nitrogen fixation in alfalfa (***Medicago sativa*** L.) which was sown in sand culture . Plants were inoculated by bacterial inoculums prepared in laboratory from the root nodules of private alfalfa plants. The results showed that addition of 0.10 mmole **Fe** caused a significant increase in most of studied parameters . The increase were 282 , 109 , 93 and 22 % in nodule number , C_2H_2 reduction , nitrogen uptake and shoot dry weight respectively . The addition of **Fe** by seeds treatment gave the highest values for most parameters. The interaction between **Fe** levels and their application **methods** resulted in a significant effect on C_2H_2 reduction , N concentration , N uptake , and shoot dry matter.

---

*A part of Ph.D. thesis for the first researcher.

المقدمة

تمتاز المحاصيل البقولية بقدرتها على تثبيت النتروجين الجوي وتختلف في مقدار ما تثبته اعتماداً على نوع النبات ألبقولي والصنف ونوع الرايزوبيا والسلالة والظروف البيئية ومقدار ما يجهز للنبات من عناصر مغذية ضرورية ، ويعد الحديد احد العناصر المغذية الصغرى وتحتاجه النباتات البقولية بكميات تفوق احتياجاتها من بقية العناصر لعملية تثبيت النتروجين الجوي . يؤثر Fe في النبات العائل من خلال مشاركته في العديد من المجموعات التكميلية (prosthetic groups) للعديد من الأنزيمات والسايتوكرومات وبعض البروتينات الأخرى ، كذلك فهو يساعد في تكوين الكلوروفيل بالرغم من انه لا يدخل في تركيبه(Hopkins,1999) ، كذلك فان للحديد دوراً مهماً في العلاقة التعايشية بين النبات ألبقولي (العائل) وبين بكتريا الرايزوبيا , ويلعب دوراً مهماً في وظيفة العقدة الجذرية فهو يدخل في

تركيب بروتيني أنزيم الداينتروجينيز المسؤول المباشر عن عملية اختزال النتروجين الجوي حيث يحوي الأنزيم على حوالي 30 ذرة حديد في كل جزيئة منه(Kim and Rees, 1992) ، كذلك يدخل في تركيب السايتوكرومات والفيرودوكسين الموجودة في البكتيرويد ويساعد في تخليق وتكوين الهيموغلوبين البقولي (leghaemoglobin) . يشير Tang, 1995 إلى إن الحديد يؤدي إلى زيادة أعداد بكتريا الرايزوبيا في وسط النمو ويساعد في عملية الإصابة infection ، وفي عملية تكوين العقد الجذرية لاسيما تكوين بادئات العقد nodule initials (Tang and Robson, 1992) .

إن مصادر أسمدة الحديد متعددة وتختلف كثيراً في فعاليتها وكفاءتها فضلاً عن اختلاف كميات وطرق استعمال هذه الأسمدة اعتماداً على خصائص التربة وعلى نوع المحصول وشدة النقص بالعنصر والظروف البيئية (Heckman, 2003) . ومن بين أهم طرق الأضافة : ألأضافة المباشرة الى التربة (وخاصة الاسمدة الخالبة) ، والرش على المجموع الخضري ، والاضافة مع البذور (تنقيع البذور في محاول العنصر ، او تلطيخ البذورفي محلول كثيف القوام ، أو خلط البذور مع السماد بوجود لواصق مثل الصمغ العربي) ، او امكانية اضافة الاسمدة مع ماء الري ... .

وبرغم العديد من الدراسات حول دور الحديد وتأثيره في النباتات البقولية وعملية التعايش (عبد الرضا ، 1997 ; O'Hara ; Johnson and Youngblood , 1991 ; Tang, 1995 *et al*.,1988) إلا أن هذه الدراسات لا تزال مستمرة بسبب اختلاف تأثير هذا العنصر في البيئات المختلفة وللأنواع المختلفة من البقوليات وللأصناف المختلفة من النوع الواحد، ويصل الاختلاف إلى التراكيب والهجن الوراثية التي تظهر في كل وقت، وهذا ما ينطبق أيضا على تأثير الحديد في الأنواع والأصناف والسلالات المختلفة من الرايزوبيا

ولأهمية هذا العنصر، وندرة الدراسات في تأثيره في تثبيت النتروجين حيوياً في المنطقة الجنوبية من العراق (والتي تمتاز بارتفاع نسبة الملوحة فيها) ، فضلاً عن ندرة الدراسات حول طرق إضافته لا سيما في منطقة الدراسة، فقد أجري هذه البحث .

المواد وطرق العمل

تم تحضير اللقاح البكتيري اولاً من خلال عزل بكتريا رايزوبيا ألجت ***Rhizobium meliloti*** من العقد الجذرية لجذور نباتات ألجت المزروعة في حقل محطة البحوث والتجارب الزراعية في الهارثة حسب الطريقة المذكورة من قبل Beck *et al*. 1993. ثم أعيدت تنميتها في بيئة مستخلص الخميرة - المانيتول السائلة (Yeast Mannitol Broth (YMB.

حضرت أنابيب زجاجية اسطوانية (180×30) ملم ووضع في كل واحدة منها (120) غم من الرمل المغسول، وأضيف إلى كل أنبوبة 25 مل من محلول Brouton-Dilworth المعدل المغذي للنبات (Beck *et al*., 1993، المتكون من المحاليل الأساسية التالية:

Stock	Compounds	Amount g/l
1	$CaCl_2.2H_2O$	294.1
2	KH_2PO_4	136.1
3	$MgSO_4.H_2O$	123.3
	K_2SO_4	87.0
	$MnSO_4.H_2O$	0.338
4	H_3BO_3	0.247
	$ZnSO_4.7H_2O$	0.288
	$CuSO_4.5H_2O$	0.1
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.048
	$CoSO_4.7H_2O$	0.056

يؤخذ (0.5)مل من كل واحد من هذه المحاليل الأساسية ويوضع في دورق حجـم (1) لتر ويكمل الحجم بالماء المقطر.

وقد حذف من المحلول المركبات الحاوية على الحديد وأضيفت بعد ذلك بالتراكيز التاليـة (علـى هيئـة Fe-EDDHA : (Ferrous-ethylene diamine di-(o-hydroxy-phenylacetic acid) (6%حديد)،

Fe : 0, 0.05, 0.10 mmol

وقد اضيف الحديد بثلاث طرق :

1ـ الأضافة الأرضية : أضيفت مع المحلول

2ـ الرش على النبات بمرحلتين : بعد 20 يوماً وبعد شهر واحد من الانبات ، وقد اضيفت مادة Tween 20 مع محاليل الرش كمادة ناشرة للمحافظة على ثبات المحلول على سطح الاوراق .

3ـ خلطاً مع البذور

هيئت كمية من بذور الجت صنف محلي نسبة انباتها 90% ، عقمت وغسلت ثم تركت في وعاء الغسل الأخير لمدة ساعة واحدة إلى أن تشربت بالماء ، ونقل قسم منها الى اطباق معقمـة حاوية على السماد Fe-EDDHA بالتراكيز المدروسة من الحديد لغرض تلويثها ولتمثل طريقـة الاضافة مع البذور ، بعدها نقلت البذور تحت ظروف معقمة الى اطباق بتري تحوي Agar 2% و $CaSO_4$ 600 mM و H_3BO_3 2 (Tang *et al.*,1990)

لغرض تشجيع تكون الجذور. بعد حصول عملية الانبات وتكون جذور ذات طول 1-3 سم تم اختيار البادرات ذات النمو المتجانس والجذور المستقيمة ونقلت تحت ظروف التعقيم بواسـطة ملقط الى داخل الانبوبة الزجاجية الحاوية على الرمل والمغذي (بادرة واحـدة لكـل انبوبـة) ، بعدها اضيف 0.2مل من اللقاح السائل الى محتويات الأنبوبة (معـدل الكثافـة العدديـة للقـاح 2.31×10^7 CFU/مل) . سدت فوهات الأنابيب بواسطة القطن للمحافظة على عـدم التلـوث

وللحصول على تبادل غازي . وضعت الأنابيب داخل قطع خشبية (Rack) ووضعت في غرفة النمو (Growth chamber) بدرجة حرارة 28 ^{0} م وضوء حوالي (6-8) × 10^3 لوكس .

اضيف المحلول المغذي الذي حذف من تركيبته الحديد الى الأنابيب المزروعة بواسطة نابذة (سرنجة) معقمة عند ظهور علامات الجفاف للتربة. بعد 75 يوماً من الزراعة تمت دراسة عدد العقد الجذرية وأوزانها ووزن المادة الجافة للأجزاء الخضرية , كذلك قيست فعالية أنزيم الداينتروجينيز باستخدام الطريقة الموصوفة من قبل Weaver & Frederick, 1982 والتي تعتمد على كمية الأستيلين المختزلة الى اثيلين من قبل الأنزيم الموجود في العقد الجذرية , وقد اجري هذا الفحص في مختبر فصل الغازات في مختبرات الشركة العامة للصناعات البتروكيمياوية في البصرة .

كذلك تم هضم النباتات (المجموع الخضري) حسب طريقة Cresser & Parsons, 1979 وأستخدمت العينات المهضومة في تقدير محتوى النتروجين بأستخدام جهاز التقطير بالبخار . تم تحليل البيانات إحصائيا من خلال تحليل التباين و مقارنة المعاملات المفردة بأستخدام البرنامج الأحصائي SPSS , أما الفروق بين التداخلات الموجودة بين المعاملات فقد حسبت باستخدام اقل فرق معنوي المعدل .R.L.S.D وحسب (الراوي وخاف الله 1980).

النتائج والمناقشة

1- عدد العقد الجذرية

أدت إضافة الحديد إلى زيادة معنوية ($P< 0.01$) في أعداد العقد الجذرية المتكونة على جذور نباتات ألجت , حيث بلغ عددها 13.72 و 16.64 عقدة .نبات $^{-1}$ بإضافة 0.05 أو 0.1 مليمول Fe على التوالي مقارنة ب 4.36 عقدة . نبات $^{-1}$ عند عدم إضافة الحديد (جدول 1) . لاحظ Johnson & Youngblood, 1991 أن إضافة الحديد المخلبي Fe – EDDHA بتركيز 33 مايكرومول ساعد في زيادة أعداد العقد الجذرية في نبات ألجت . وفي واحدة من التجارب المختبرية ذكر Tang *et al.*, 1991 إن محدودية تكوين العقد الجذرية عند نقص الحديد يعزى إلى أعاقة الخطوة التي تبدأ في اليوم الرابع من عملية التلقيح البكتيري وهي عملية انقسام خلايا القشرة الداخلية والتي تبدأ بعدها عملية تكوين بادئات العقد nodule initials في نبات الترمس, وفي بحث آخر أكد Tang *et al.*, 1992 هذه الحالة ، وأشار إلى إن الانقسامات الإضافية لخلايا القشرة في الشعيرات الجذرية تتحدد تحت ظروف نقص الحديد ولا تتكون الخلايا المرستيمية المولدة لبادئات العقد .

توضح النتائج في الجدول (1) أيضاً اختلاف العقد الجذرية معنويا نتيجة اختلاف طريقة الإضافة , إذ أعطت معاملة إضافة الحديد مع البذور أعلى عدد من العقد الجذرية بلغت 14.53 عقدة . نبات $^{-1}$ باختلاف معنوي عن الإضافة مع المحلول (12.97 عقدة . نبات $^{-1}$) والإضافة رشاً على المجموع الخضري (7.22 عقدة. نبات $^{-1}$) . وهنا يمكن ملاحظة عدم كفاءة طريقة

الرش الورقي إذ أن أعراض نقص العناصر خاصة في التجارب المختبرية عادة ما تظهر في بداية نمو المحصول حيث المساحة الورقية قليلة وان كمية الاستفادة من الحديد في حالة أضافته رشاً على الأوراق يكون قليلاً جداً، فضلاً عن ذلك فان عنصر الحديد الذي يتميز بأنه عنصر بطيء – متوسط الحركة في أنسجة النبات قد لا ينتقل بالسرعة والكمية المطلوبة إلى الجذور والعقد الجذرية مما يؤثر في تكوين العقد الجذرية ، وهذه النتيجة تعزز ما ذكره Tang *et al.*, 1990 من إن الرش الورقي يقلل من نقص الحديد في الجزء الخضري لنباتات الترمس ألا أنه لا يؤدي إلى زيادة العقد الجذرية , وأن جزءاً قليلاً منها ينتقل الى الجذر أو العقد . إن طريقة الإضافة مع البذور تجعل السماد أكثر تجانساً في التوزيع، فضلاً عن مشاركته المباشرة في العمليات الحيوية منذ بداية نمو النبات عكس طريقة الرش الورقي حيث تتأخر إضافة العنصر لحين ظهور الأوراق. وفي هذا المجال فقد أشار O'Hara *et al.*, 1988 إلى أن النباتات التي حصلت على عنصر الحديد بطريقة الرش الورقي لم تختلف معنوياً عن النباتات التي لم تستلم الحديد فيما يخص أعداد وأوزان العقد الجذرية ، لان النبات لا يستطيع تجهيز العقدة الجذرية بالحديد بسبب ضعف حركته داخل أنسجة النبات.

أظهر التداخل بين مستويات الحديد المضافة و طريقة أضافتها تأثيراً معنوياً في أعداد العقد الجذرية (جدول 1) إذ تفوق مستوى الإضافة 0.1 مليمول بطريقة الإضافة مع المحلول أو مع البذور في أعطاء أكبر عدد من العقد الجذرية بلغ 20.08 و 21.50 عقدة . نبات $^{-1}$ على التوالي في حين كانت الأعداد 4.33 – 4.42 عقدة . نبات $^{-1}$ عند عدم أضافة الحديد .

2- وزن العقد الجذرية

أثرت الإضافات السمادية لعنصر الحديد معنوياً ($P<0.01$) في معدل الوزن الجاف للعقدة الجذرية وفي وزن العقد الكلية في النبات (جدول 1) , حيث بلغ معدل وزن العقدة الجاف 0.126 و 0.186 و 0.233 ملغم عند مستويات الإضافة صفر و 0.05 و 0.1 مليمول Fe على التوالي , ونلاحظ تفوق المعاملة 0.1 مليمول Fe معنوياً على المعاملتين صفر و 0.05 مليمول Fe وبنسبة زيادة بلغت 85 % و 25% على التوالي. أما الوزن الكلي للعقد فبلغ 0.54 و 2.61 و 3.75 ملغم/ نبات عند تراكيز الحديد صفر و 0.05 و 0.1 مليمول على التوالي ، حيث تفوقت المعاملة 0.1 مليمول معنوياً على المعاملتين صفر و 0.05 مليمول Fe وبنسبة زيادة 648 % و 44 % على التوالي، ويبدو من خلال هذه النتائج أن أعداد العقد الجذرية قد ساهمت بشكل اكبر في زيادة الوزن الكلي أكثر من الزيادة المتأتية من معدل الوزن الجاف للعقدة الواحدة. تتفق هذه النتيجة مع ما وجده عبد الرضا والمختار (2000) إذ لاحظا أن أوزان العقد الجذرية الجافة لفول الصويا كانت 26 و38 و 67 و 1.6 ملغم/ نبات وان وزن العقدة الجاف كان 1.82 و 2.66 و 3.59 و 0.53 ملغم باستخدام تراكيز من الحديد صفر و 0.5 و 1.5 و 4.5 على التوالي.

ذكر O'Hara *et al.*, (1988) أن نقص الحديد في نباتات فستق الحقل يوقف انقسام خلية الرايزوبيا دون ان يعيق ايضها وتبدو الخلايا متطاولة ومشوهة، وأكـدوا أن أكثـر المراحـل حساسية لنقص الحديد في عملية التعايش هي مرحلة التطور المبكر للعقدة وليس بدايـة تكـوين العقد، ولاحظوا أعدادا متماثلة من بادئات العقد قد ظهرت في نباتات المقارنـة والنباتـات التـي جهزت بالحديد بطريقة الرش الورقي.

اختلفت طريقة إضافة الحديد معنوياً ($P<0.01$) في تأثيرها فـي أوزان العقـد الجذريـة (جدول 1) وتم الحصول على أعلى معدل لوزن العقدة الجاف بلغ 0.205 ملغـم عنـد إضـافة العنصر مع البذور، في حين لم تختلف طريقة الإضافة مع المحلول والرش الورقي عن بعضهما وأعطت 0.170 و 0.171 ملغم/ عقدة على التوالي، واختلفت الطرق الثلاث عن بعضها معنويـاً فيما يخص تأثيرها في الوزن الكلي للعقد، وتم الحصول على أعلى وزن بلغ 3.26 ملغم/ نبـات عند استخدام طريقة الإضافة مع البذور, ثم 2.35 ملغم/ نبات عند الإضافة مع المحلول واقـل وزن عند الإضافة رشاً على الأوراق (1.30 ملغم/ نبات).

لم تظهر اي تأثيرات معنوية للتداخل بين الحديد وطرق إضافته في معدل الوزن الجـاف للعقدة الواحدة (جدول 1) ، في حين أنها أثرت في الوزن الكلي للعقد وتم الحصول علـى أعلـى وزن بلغ 5.15 ملغم/ نبات باستخدام 0.1 مليمولFe بطريقة الإضافة مع البـذور. كـذلك فقـد أعطت طريقة الإضافة مع المحلول في المعاملة 0.1 مليمول Fe وزن عقد بلـغ 4.27 ملغـم/ نبات. أن الحديد المضاف في هذه الطريقة ونتيجة لعدم وجود ما يسبب ترسيبه أو تثبيته يكـون جاهزاً للاستعمال من قبل النبات بصورة مثلى وبكفاءة , وبالرغم من ذلك فان كفاءة هذه الطريقة كانت اقل من كفاءة طريقة إضافة الحديد مع البذور.

جدول (1) : تأثير مستويات وطرق إضافة الحديد في عدد العقد الجذرية وأوزانها لنباتات الجت بعد 75 يوماً من الزراعة

مستويات Fe (مليمول) / طرق الإضافة	عدد العقد/ نبات			المتوسط	معدل وزن العقدة الجاف(ملغم)			المتوسط
	0	0.05	0.10		0	0.05	0.10	
أرضي	4.33	14.50	20.08	12.97 b	0.117	0.161	0.232	0.170 b
رشا	4.42	8.92	8.33	7.22 c	0.112	0.178	0.223	0.171 b
مع البذور	4.33	17.75	21.50	**14.53 a**	0.151	0.221	0.243	**0.205 a**
متوسط الحديد	**4.36 c**	**13.72 b**	**16.64 a**		**0.126 c**	**0.186 b**	**0.233 a**	
اقل فرق معنوي (0.05) للتداخل	**2.25**				**N.S.**			

مستويات Fe (مليمول) / طرق الإضافة	وزن العقد (ملغم/ نبات)			المتوسط
	0	0.05	0.10	
أرضي	0.49	2.31	4.27	**2.35 b**
رشا	0.48	1.57	1.84	**1.30 c**
مع البذور	0.66	3.96	5.15	**3.26 a**
متوسط الحديد	**0.54c**	**2.61b**	**3.75a**	
اقل فرق معنوي (0.05) للتداخل	**0.362**			

3- اختزال الاستيلين (نشاط إنزيم الداينتروجينيز)

يعتبر تقدير اختزال الاستيلين تقديراً غير مباشر لنشاط إنزيم الداينتروجينيز وكفاءته في تثبيت النتروجين الجوي. نلاحظ من الجدول (2) أن إضافة الحديد أدت إلى زيادة معنوية ($P<0.01$) في كمية الاستيلين المختزلة. كانت الكمية المختزلة عند معاملة المقارنة 316 نانومول/ نبات. ساعة، وارتفعت إلى 581 والى 661 نانومول/ نبات. ساعة بإضافة 0.05 و 0.1 مليمولFe وبنسبة زيادة بلغت 84 % و 109 % على التوالي عن معاملة المقارنة (عدم إضافة الحديد). أشار Johnson and Youngblood, 1991 إلى أن إضافة الحديد المخلبي FeEDDHA إلى ألجت بتراكيز 10 و 33 و 100 و 200 مايكرومول قد أدت إلى زيادة فعالية إنزيم الداينتروجينيز، وان الزيادة قد بلغت أربعة أضعاف بين التركيزين 10 و 33 مايكرومول.

تتأتى أهمية الحديد في تنشيط إنزيم الداينتروجينيز كونه يشترك بثلاثين ذرة في تركيب كل جزيئة من جزيئات الإنزيم (Kim and Rees, 1992) وكذلك أهميته في تركيب الهيموغلوبين البقولي والفيريدوكسين والسايتوكرومات وإنزيم الهيدروجينيز والتي تشترك كلها في عملية اختزال وتثبيت النتروجين داخل العقدة البكتيرية (Hopkins, 1999) .

أما فيما يخص طريقة الإضافة فقد أوضحت البيانات في الجدول (2) أن إضافة الحديد مع البذور أعطت اكبر كمية من الاستيلين المختزل بلغت 603 نانومول/ نبات. ساعة بزيادة معنوية 18% عن طريقة الإضافة مع المحلول و 36 % عن طريقة الرش. كما اختلفت طريقة الإضافة مع المحلول معنوياً عن طريقة الرش .

ان كمية الاستيلين المختزلة في النباتات البقولية تعتمد بالدرجة الأساس على عدد وحجم العقد الجذرية ، وهو ما تمت ملاحظته من خلال علاقات الارتباط التي حسبت بين هذه الصفة وأعداد العقد الجذرية ($r = 0.808^{**}$) ، ومعدل وزن العقدة الواحدة ($r = 0.675^{**}$)والوزن الكلي للعقد الجذرية في النبات ($r = 0.827^{**}$) مما يعني وجود علاقة موجبة عالية المعنوية بين الكمية المختزلة من الاستلين والصفات المذكورة.

أثرت معاملات التداخل بين الحديد وطرق إضافته معنوياً ($P<0.01$) في كمية الاستيلين المختزلة، وتم الحصول على أعلى كمية بلغت 792 نانومول/ نبات. ساعة عند إضافة الحديد مع البذور بالتركيز 0.1 مليمول (جدول 2) ، وهي نفس المعاملة التي أعطت اكبر عدد من العقد الجذرية وأعلى الأوزان. ولغرض التنبؤ بكمية الاستيلين المختزلة اعتماداً على الوزن الكلي الجاف للعقد الجذرية في النبات فقد تم الحصول على المعادلة التالية :

$$Y = 266.65 + 20.97\ X \qquad r = 0.827^{**}$$

إذ Y = كمية الاستيلين المختزلة (نانومول/ نبات. ساعة) في نباتات ذات وزن جاف كلي للعقد الجذرية = X ملغم

4- الوزن الجاف للجزء الخضري

أثرت إضافة الحديد معنوياً ($P<0.01$) في الوزن الجاف لنباتات ألجت، وأعطت معـدل وزن بلغ 202.6 و 239.5 و 246.8 ملغم/ نبات باستخدام صـفر و 0.05و 0.1 مليمـول Fe على التوالي (جدول 2). ولم يختلف التركيزان 0.05 و 0.1 مليمولFe عن بعضهما معنوياً في التأثير في هذه الصفة، وكانت زيادتهما عن معاملة المقارنة بنسبة 18% و 22% على التـوالي. تتفق هذه النتائج مع ما وجده Papastylianou, 1993 في نباتات البزاليا إذ حصل على زيـادة معنوية في حاصل المادة الجافة عند إضافة الحديد مع اللقاح البكتيري. ومع ما وجده Tang *et al.*, 1990 في نباتات اللوبيا بعد 45 يوماً من الزراعة ، حيث لاحظ أن أعلى وزن جاف تـم الحصول عليه باستخدام 0.1 مايكرومول Fe والذي لم يختلف معنوياً عن 5 و 20 مايكرومول.

إن النباتات في دراستنا المختبرية هذه تعتمد بصورة رئيسة على النتروجين المتـأتي مـن التثبيت الحيوي في العقد الجذرية وان أي عامل يؤثر سلباً في عملية التثبيت سـيؤثر فـي نمـو النبات بصورة عامة لان النتروجين يعمل كوحدة بنائية في كثير من مكونات النمو (السـاهوكي 1991). يتضح من خلال النتائج السابقة أن نقص الحديد يؤدي إلى ضعف فـي تكـوين العقـد الجذرية ومن ثم الإخلال في عملية التثبيت مما سيؤثر سلباً في نمو وتكـون الأوراق والسـيقان لعدم حصول النبات على حاجته من النتروجين، وبالنتيجة ضعف النمو والوزن الجاف . فضـلاً عن ذلك فان نقص الحديد يؤثر في تكوين الكلوروفيل Mengel, and Kirkby, 1982 ومن ثم يؤدي إلى حصول ضعف في عملية التركيب الضوئي وخفض كمية المواد المصنعة ومـن ثـم انخفاض في مجمل صفات النمو التي تساهم في بناء النبات (ارتفاع النبـات وعـدد التفرعـات والأوراق).

ويمكن أن تلاحظ علاقات الارتباط الموجبة عالية المعنوية بين الوزن الجـاف وكـل مـن الوزن الكلي للعقد الجذرية (r=0.699**) وكمية الاستيلين المختزلة (r=0.781**) ومحتـوى النتروجين في النبات (r=0.889**) وان نتائج تحليل الانحدار تشير الى العلاقة التاليـة بـين الوزن الجاف والصفات أعلاه :-

Dry wt. (mg/ plant) = 142.46 – 3.86 Nods weight/pl – 0.138 nmol C_2H_2 reduced + 29.99 mg N/pl. r = 0.934**

ان اختلاف طريقة إضـافة سماد الحديد أدت الى اختلافات في الأوزان الجافة ($P<0.01$) (جدول 2) وتم الحصول علـى أعلى وزن جاف للجزء الخضري بلغ 250.2 ملغم/ نبات عند إضافة الأسمدة مع البذور، تليهـا معاملة الإضافة مع المحلول وبلغت 225.5 ملغم/ نبات وأعطت معاملة الرش الورقي اقـل وزن جاف بلغ 213.2 ملغم/ نبات

ان طريقة الإضافة التي تضمن تجهيز العنصر للنبات في الوقت الملائم وبالكميـة الكافيـة ستكون هي الطريقة الأفضل والأكثر كفاءة، وهو ما توضح من خلال هـذه النتـائج حيـث إن الإضافة مع البذور تضمن الحصول على اكبر كمية من السماد المضاف بسبب تماسه المباشر مع

مصدر الامتصاص فضلاً عن كفاءة هذه الطريقة في زيادة مفردات نمو العقد الجذريـة ، وهـذه النتائج تتفق مع توصـ ـ ـ ـيات (Hickman, 2003).

اثر التداخل بين الحديد وطريقة إضافته معنوياً (P<0.01) في حاصل الوزن الجاف للجزء الخضري، وتم الحصول على أعلى وزن باستخدام 0.05 او 0.1 مليمولFe بطريقة الإضافة مع البذور بلغ 265.3 و 282.4 ملغم/ نبات على التوالي (جدول 2).

جدول (2) : تأثير مستويات وطرق إضافة الحديد في كمية الاستيلين المختزلة والوزن الجـاف لنباتات ألجت بعد 75 يوماً من الزراعة

مستويات Fe (مليمول) / طرق الإضافة	الاستيلين المختزل(نانومول/ نبات.ساعة)			المتوسط	الوزن الجاف (ملغم /نبات)			المتوسط
	0	0.05	0.10		0	0.05	0.10	
أرضي	301	582	649	**511 b**	202.7	231.3	242.4	**225.5 b**
رشا	300	491	542	**445 c**	202.1	221.9	215.6	**213.2 b**
مع البذور	348	669	792	**603 a**	203.0	265.3	282.4	**250.2 a**
متوسط الحديد	**316 c**	**581 b**	**661 a**		**202.6 b**	**239.5 a**	**246.8 a**	
اقل فرق معنوي (0.05) للتداخل	**57.4**				**19.1**			

5 - تركيز النتروجين وكميته الممتصة

اختلفت تراكيز النتروجين وكميته الممتصة في الجزء الخضـري للنباتـات التـي عوملـت بمستويات مختلفة من الحديد معنوياً (P<0.01) إذ ارتفع التركيز من 19.5 غم/كغم عند عـدم إضافة الحديد إلى 28.7 و 30.5 غم/كغم باستخدام 0.05 و 0.1 مليمول Fe وبنسبة زيادة بلغت 47% و 56% عن معاملة المقارنة على التوالي. وبنفس الاتجاه ازدادت الكمية الممتصـة مـن 3.97 ملغم/ نبات إلى 6.98 و 7.66 ملغم/ نبات باستخدام المستويات السـمادية نفسـها علـى التوالي. وبنسبة زيادة بلغت 76% و 93 % عن معاملة المقارنة (جدول 3).

أظهرت نتائج دراسة Johnson & Youngblood, 1991 أن نقص الحديد في نباتات الجـت يؤدي الى نقص في تركيز ومحتوى النباتات من النتروجين . كما لاحظ عبد الرضا والمختـار، 2000 ان إضافة 0.5 أو 1.5 ملغمFe/ لتر قد ساهم في زيادة كمية النتروجين المثبتة من قبـل أربع سلالات رايزوبيا في فول الصويا وانعكس ذلك ايجابياً على كمية النتروجين في النبات.

يشير الجدول (3) إلى وجود فروقات معنوية (P<0.01) بين كل مـن تراكيـز النتـروجين ومحتواه نتيجة اختلاف طريقة إضافة عنصر الحديد ، حيث بلغ التركيز 27.6 غـم/كغـم عنـد اضافة الحديد خلطاً مع البذور، وانخفضت هذه النسبة إلى 26.3 و 24.7 غم/كغـم باسـتخدام طريقة الإضافة مع المحلول وطريقة الرش الورقي وبنسبة انخفاض مقدارها 5 % و 11% على التوالي. أما محتوى النتروجين فقد انخفض من 7.21 ملغم/ نبات عند إضافة العنصر خلطاً مـع البذور إلى 6.09 و 5.31 ملغمN /نبات باستخدام طريقتي الإضافة مع المحلول والرش الورقي وبنسبة انخفاض مقدارها 16 % و 26 % على التوالي.

ان الزيادة في تركيز ومحتوى النتروجين في النبات عند زيادة إضافة الحديـد هـو نتيجـة طبيعية لزيادة نشاط وفعالية إنزيم الداينتروجينيز، وبما ان النباتات في هذه التجربـة المختبريـة تعتمد بصورة كلية تقريباً على النتروجين المثبت في العقد الجذرية، فأن أي عامل يرفـع كفـاءة إنزيم الداينتروجينيز سيعمل على زيادة تثبيت النتروجين والذي سينعكس على زيادة محتواه فـي النبات .

لقد لوحظ وجود علاقة ارتباط موجبة عالية المعنوية بين محتوى النتروجين في النبات وكـل من الوزن الجاف الكلي للعقد الجذرية (r=0.838**) ونشـاط إنـزيم الـداينتروجينيز (r = 0.945 **).

وأوضحت نتائج تحليل الانحدار وجود العلاقة التالية بين المحتوى والصفتين أعلاه:-

mg-N/pl.=0.767 + 0.245 Nods wt. (mg/pl.) + 0.00946 nmole C_2H_2 reduced

r = 0.951**

أثرت معاملات التداخل بين الحديد وطرق إضافته معنوياً (P<0.01) فـي كـل مـن تركيـز النتروجين ومحتواه في النبات، وتم الحصول على أعلى تركيز مقداره 32.9 غم/ كغم عند إضافة 0.1 مليمول Fe مع البذور، ونفس هذه المعاملة أعطت أعلى محتوى بلغ 9.46 ملغم N/ نبـات (الجدول 3).

جدول (3) : **تأثير مستويات وطرق إضافة الحديد في تركيز النتروجين وكميته الممتصة لنباتات الجت بعد 75 يوماً من الزراعة**

مستويات Fe (مليمول) / طرق الإضافة	تركيز النتروجين (غم/كغم)			المتوسط	النتروجين الممتص (ملغم/نبات)			المتوسط
	0	0.05	0.10		0	0.05	0.10	
أرضي	18.5	29.8	30.7	**26.3 b**	3.76	7.03	7.49	**6.09 b**
رشا	19.7	26.5	27.9	**24.7 c**	4.00	5.90	6.03	**5.31 c**
مع البذور	20.1	29.7	32.9	**27.6 a**	4.14	8.02	9.46	**7.21 a**
متوسط الحديد	**19.5 c**	**28.7 b**	**30.5 a**		**3.97 c**	**6.98 b**	**7.66 a**	
أقل فرق معنوي (0.05) للتداخل	**1.62**				**0456**			

المصادر

الراوي. خاشع محمود وخاف الله، عبد العزيز محمد 1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي/ جامعة الموصل.

الساهوكي، مدحت مجيد. 1991. فول الصويا، إنتاجه وتحسينه. دار الحكمة للطباعة والنشر. جامعة بغداد.

عبد الرضا، حسن علي 1997. تاثير الحديد والموليبدينم في كفاءة بكتريا الرايزوبيا وفي نمو وحاصل فول الصويا اطروحة دكتوراه ـ كلية الزراعة ـ جامعة بغداد.

عبد الرضا، حسن علي ؛ والمختار، منذر محمد علي 2000. تأثير الحديد في كفاءة ***Bradyrhizobium japonicum*** ونمو وحاصل فول الصويا. مجلة إباء للأبحاث الزراعية – 15 (2) : 141- 157.

Beck,D.P.; Materon,L.A. and Afandi. F. 1993. *Practical **Rhizobium** – Legume technology manual*. International center for agricultural

research in the dry areas (ICARDA). Technical Manual No. 19, Aleppo, Syria.

Cresser, M. S. and Parsons, J. W. 1979 . Sulphuric-perchloric acid digestion of plant material for the determination of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium. Analytica Chimica Acta, 109:431-436 .

Heckman, J.R. 2003. Iron needs of soils and crops in New Jersey. Rutgers cooperative extension, N. J. Agric. Exp. Station. (www.rce.rutgers.edu.).

Hopkins, W.G. 1999. *Introduction to Plant Physiology*. John Wiley and Sons Inc.

Johnson, G.V. and Youngblood , G.J. 1991. Responses of nitrogen – fixing and nitrate – supplied alfalfa ***(Medicago sativa*** L.) to iron chelates in an alkaline hydroponics medium. Plant and Soil 130: 219 – 224.

Kim, J.; and Rees, D.C. 1992. Structural model for the metal centers in the nitrogenase molybdenum-iron protein. Science, 257:1677-1682.

Mengel, K. and Kirkby, E.A. 1982. *Principles of plant nutrition* 3rd Ed. International potash Institute, Bern, Switzerland.

O'Hara, G.W.; Dilworth, M.J. ; Boonkerd, N. and Parkpian, P. 1988. Iron deficiency specifically limits nodule development in peanut inoculated with ***Bradyrhizobium sp.*** New Phytologist, 108: 51- 57.

Papastylianou, I. 1993. Interaction of iron chelate and nitrogen fixation in peanuts grown on calcareous soil. J. Plant Nutr. 16 (7): 1205- 1213.

Tang, C. 1995. Iron in symbiotic nitrogen fixation in legumes. In: Advance in iron nutrition research. Hemantaranjan, A. (ed). Pp: 145- 175. Scientific Publishers, Jodhpur.

Tang, C. and Robson,A. 1992. The role of iron in the ***Bradyrhizobium*** legume symbiosis. J. Plant Nutri. 15: 2235- 2252.

Tang, C.; Robson, A.D. and Dilworth, M.J. 1990. The role of iron in nodulation and nitrogen fixation in ***Lupinus angustifulius*** L. New Phytol. 114: 173- 182.

Tang, C.; Robson, A.D. and Dilworth, M.J. 1991. Which stage of nodule initiation in ***Lupinus angustifolius*** is sensitive to iron deficiency? New Phytol. 117: 243- 250.

Tang, C.; Robson, A.D. and Kuo, J. 1992. Microscopic evidence on how iron deficiency limits nodule initiation in ***Lupinus angustifolius*** L. New Phytol. 121 (3) : 457- 467.

Weaver, R. W. and Frederick, L. R. 1982 . ***Rhizobium*** . In: Methods of soil analysis. Part 2, Chemical and microbiological properties 2nd ed. Page, A.L.; Miller, R.H. and Keeny, D.R. (eds) . Soil Sci. Soc. of Am. Madison WI- USA.