تأثير عزلات بكتيرية محلية من *Pseudomonas spp* في النمو وامتصاص العناصر الغذائية لنباتي اللوبيا *Vinga sinesis* والفجل *Rhaphanus stativus*

اصيل منذر حبه
محمد عبد الجليل خليل
سهاد ياسين الفيلي
رامي محمود عيدان
قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية

استلم في:27كانون الثاني 2016، قبل في :8ايار 2016

الخلاصة

درس تأثير اربع عزلات من *Pseudomonas spp* في معدل نمو نباتي اللوبيا والفجل وفي تركيز العناصر الغذائية الكبرى والصغرى للمحتوى الخضري . وتضمنت التجربة جزأين : الجزء الاول عزل وتشخيص اربع عزلات بكتيرية من *Pseudomonas spp* من الترب العراقية في بغداد . وتضمن الجزء الثاني من التجربة زراعة بذور نباتي اللوبيا والفجل في اصص بلاستيكية حجم 5 كغم وتم اجراء التجربة في البيت الزجاجي التابع لقسم علوم الحياة - كلية العلوم- الجامعة المستنصرية . وبعد يوم من زراعة البذور تم اضافة العزلات البكتيرية الى ترب النباتات المزروعة في الاصص البلاستيكية ، وبعد 10 ايام من الزراعة تم احتساب نسبة الانبات للبذور ,وبعد 50 يوما من الزراعة تم دراسة بعض مقاييس النمو لنباتات اللوبيا والفجل وشملت الطول، الوزن الطري والجاف، وتم قياس تراكيز كل من العناصر الكبرى Ca, Fe, K, P, Mg، والعناصر الصغرى Mo, Cl, Zn, Ba, Cu. أظهرت النتائج أن العزلات البكتيرية كانت فعالة معنويا في تعزيز نمو النباتين في صفات طول النباتات , نسبة الانبات والوزن الطري والجاف مقارنة مع نباتات السيطرة . واظهرت النتائج ايضا فروقا معنوية في نسبة تركيز العناصر الكبرى والصغرى في الجزء الخضري وفي جميع المعاملات لكلا النباتين بعد اضافة البكتريا الى النباتات .وتم تحليل النتائج احصائيا باستعمال اقل فرق معنوي Least significant difference وعند مستوى احتمال 0.05.

الكلمات المفتاحية : *Pseudomonas spp.* . محفزات النمو . الفجل واللوبيا .

المقدمة

بعد التوجه الحديث للسيطرة البيولوجية لحماية النباتات ذات الاهمية الاقتصادية والطبية من الملوثات بشتى انواعها وجد ان عددا من الأنواع البكتيرية مثل *Pseudomonas* spp لها القدرة الكبيرة على التمركز حول جذور النباتات المزروعة وانتاجها لمواد ايضية محفزة لنمو النباتات فضلا عن كبحها لنشاط المكروبات التي تهاجم النبات بالوقت نفسه عن طريق افرازها لمواد antibiotically active substances مثل siderophores and effective pyoverdines التي لها قابلية للارتباط بالحديد اذ يصبح غير متاح استغلاله من قبل الممرضات الفطرية او الجرثومية [1] . وتقنية التسميد الحيوي باستعمال الاحياء المجهرية التي تعيش بالتربة مثل : *Rhizobium , Pseudomonas, Bacillus , Azotobacter , Asospirillum* تعد من اهم الطرائق الفعالة والناجحة في زراعة المحاصيل لكون هذه الكائنات تحفز نمو النباتات وتنظم وتزيد من جاهزية العناصر المغذية لجذور النباتات وتزيد من خصوبة التربة [2] . هذا فضلا عن انها تقنية صديقة للبيئة واقل تلوثا لها واقل تكلفة مادية كونها بديلا عن استعمال الاسمدة الكيمياوية والتي تسبب تلوثا للبيئة نتيجة سوء استعمالها وبقائها لمدة طويلة في التربة دون ان تحلل او تذوب [3]. ومن احد اهم الاحياء المجهرية الموجودة اصلا بالتربة التي تمتلك اليآت متعددة لتحفيز النمو في النباتات هي بكتريا ال *Pseudomonas spp* والتي تعد ضمن مجموعة البكتريا المحفزة لنمو النبات plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) [4,5]. ولعل من اهم الاليات التي تقوم بها *Pseudomonas* هي زيادة او رفع جاهزية عنصر الفسفور (P) الموجود في المحيط الجذري للنبات للامتصاص من قبل الجذور , وبهذا تعد ضمن مجموعة البكتريا المذيبة للفسفور في التربة (PSB) (Phosphorus-solubiling bacteria) [6,7] .كما اشارت بعض الدراسات الى ان لبكتريا *Pseudomonas* دورا غير مباشر في حياة النباتات من خلال التقليل من تأثير مثبطات النمو وتطور عوامل سيطرة بيولوجية وهذا يؤثر ايجابيا في عملية نمو النبات .[8]. ولأن استعمال الأحياء المجهرية في المجالات التطبيقية الاحيائية يعد واحدا من ابرز الانجازات في مجالات التقنيات الحياتية المختلفة. وفعلا حققت الكثير من النجاحات لاستعمال بعض العزلات البكتيرية كمخصبات حيوية من جانب وتأثيرها ألمثبط في كبح نمو الفطريات الممرضة على النبات من جانب آخر [9]. وهناك تزايد واضح في اجراء التجارب الحيوية التي يتم فيها معاملة البذور بالمخصبات الحيوية والتي أدت إلى تحسن الصفات النوعية والكمية للنباتات الحقلية المختلفة [10.]

لذلك كان الهدف من هذه الدراسة هو: عزل سلالات من بكتريا *Pseudomonas* المتواجدة في مناطق مختلفة من بغداد و تقييم كفاءة هذه السلالات في رفع معدلات النمو لنباتي اللوبيا والفجل .

المواد وطرائق العمل :

الاوساط الزرعية المستعملة :

1. وسط الاكار الغذائي nutrient agar
2. وسط غذائي متخصص في نمو بكتريا ال *Pseudomonas* : chromoagar for *Pseudomonas* & *Pseudomonas* agar base.

جمع عينات التربة : تم اخذ اربع عينات تربة محلية من مشاتل زراعية من منطقتي شارع المشاتل قرب كلية الادارة والاقتصاد - جامعة بغداد . ومنطقة السبع بكار ضمن محافظة بغداد . ووضعت بأكياس بلاستيكية واخذت الى المختبر في قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية , لإتمام الدراسة .

عزل وتشخيص بكتريا ال (*Pseudomonas*) : تم نخل عينات التربة بشكل جيد لإزالة بقايا جذور النباتات والحصى . ثم وزن 50 غم من التربة المنخولة واضيف اليها الماء المقطر لتحضير عالق تربة وبحجم 250 مل . تم اخذ 1 مل من عالق التربة ولقحت به اطباق بتري حاوية على الاوساط الزرعية المذكورة اعلاه . حضنت الاطباق بدرجة حرارة 27^0 لمدة 2-3 يوم لغاية ظهور المستعمرات البكتيرية . بعد ذلك اجريت الاختبارات التالية لتشخيص بكتريا ال *Pseudomonas* :

1. التصبيغ بصبغة كرام والفحص المجهري .
2. اختبار ال catalase .
3. اختبار ال oxidase .
4. اختبار الtest & citrate ,Voges-Proskauer , methel-red , Indole forming (IMVIC).[11,12,13]

تنقية البكتريا : بعد ظهور المستعمرات الخضراء اللون واجراء الاختبارات اعلاه والتأكد من جنس البكتريا اخذت مسحة من المستعمرات واجريت لها تخافيف متسلسلة ولغاية 10^{-6} تم أُخذ 1مل من اخر تخفيف وزرع على اطباق حاوية على الوسط الزرعي الاختياري Pseudomonas agar base . وحضنت بدرجة حرارة 27^0 لمدة يومين , وكررت العملية عدة مرات لغاية ظهور مستعمرات نقية .

تحضير عالق البكتريا : تم اخذ مسحة من المستعمرات النقية ولقحت بها انابيب حاوية على 10مل من الوسط الزرعي N.agar broth وحضنت لمدة يومين بدرجة حرارة 27 . بعدها اخذ العالق البكتيري ووضع بجهاز الطرد المركزي لمدة 5 دقائق وبسرعة 300 دورة-دقيقة ومن ثم اخذ الراسب وعلق بمحلول normal saline ثم اكمل الحجم الى 100مل واضيف الى التربة في السنادين بعد يوم من زراعة بذور النباتات .

تحضير التربة وزراعة النباتات : استعملت التربة المزيجية في الزراعة ,اذ نخلت التربة وعقمت بجهاز التعقيم لقتل الاحياء المجهرية فيها . ثم وضعت التربة بأصص بلاستيكية سعة 5 كغم وبوزن 4 كغم تربة في كل سندانه , ثم زرعت بذور نباتي اللوبيا *Vinga sinesis* والفجل الاحمر *Rhaphanus stativus* في هذه الأصص وبواقع 10 بذرات في كل اصيص , وكانت المكررات اربعة اصص لكل معاملة ولكلا النباتين .

وضعت الأصص في البيت الزجاجي التابع لقسم علوم الحياة في كلية العلوم -الجامعة المستنصرية . وتمت الزراعة في شهر شباط - 2015 . ثم لقحت السنادين ب 100مل من العالق البكتيري بعد يوم واحد من زراعة البذور ولكل العزلات الاربعة , وبعد 10 ايام من الزراعة تم احتساب نسبة انبات البذور , وبعد 50 يوما من الزراعة حصدت النباتات وغسلت جيدا بالماء واخذت للمختبر وتم اخذ القياسات الآتية :

1. طول النبات .
2. الوزن الطري .
3. الوزن الجاف .
4. نسبة العناصر الكبرى Mg , Fe , P, K, Ca .
5. نسبة العناصر الصغرى Zn, Cl, Mo, Ba, Cu.

قياس نسبة العناصر : تم قياس نسبة العناصر الكبرى والصغرى بوساطة جهاز X-ray fluorescense (XRF) . الموجود بقسم الجيولوجي - كلية العلوم - جامعة بغداد . اذ تم اخذ (3غم) من الوزن الجاف للنبات وطحن بطاحونة خاصة وصولا الى حجم (70مايكرون) للجزء المطحون وتم احتساب نسبة العناصر اعلاه بالوزن المطحون .

التحليل الاحصائي : صممت التجربة بحسب التصميم الكامل المعشاة R.C.D بثلاثة مكررات لكل معاملة وقورنت المتوسطات باستعمال اقل فرق معنوي (Least significant difference (L.S.D عند مستوى احتمالية 0.05 . [14]

النتائج والمناقشة :

اظهرت نتائج التجربة المظهرية والكيميائية على ان البكتريا المعزولة تعود الى جنس ال *Pseudomonas* اذ نمت المستعمرات على الوسط الزرعي الاختياري لبكتريا السيدوموناس chromoagar for Pseudomonas وكانت المستعمرات ذات لون اخضر. وبعد الفحص المجهري للبكتريا كانت سالبة لصبغة كرام وعصوية الشكل . كما اظهرت النتائج ان العزلات الاربعة اظهرت نتيجة موجبة لفحص الاوكسيديز والكاتليز فحص السيتريت اذ تحول لون الوسط الزرعي Simon citrate من اللون الاخضر الى اللون الازرق واظهرت العزلات نتيجة سالبة لفحص المثيل الاحمر والفوكس – بروسكاور والاندول . وقد اتفقت هذه النتائج مع نتائج دراسات اخرى [15,16,17]. ولقد رمز للعزلات البكتيرية الاربعة SP1 ,SP2,SP3,SP4. وتبين من النتائج جدول (1) زيادة معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 في معدل نمو النباتات المعاملة بالعالق البكتيري من حيث الطول والوزن الطري والجاف ومعدل نسبة الانبات وللعزلات البكتيرية SP1, SP4 ,SP3 على التوالي, ماعدا العزلة SP2 كان تأثيرها طفيفا في معدل النمو ولكلا النباتين اذ كانت معدلات النمو للنباتات الملقحة بالعزلة SP2 كانت مقاربة لنباتات السيطرة , بينما اظهرت العزلة SP1 اعلى تأثير في معدلات النمو واكثر زيادة معنوية حاصلة و لكلا النباتين قيد الدراسة . اذ تراوحت معدل اطوال نباتات اللوبيا للعزلات الأربعة sp1 , sp2 , sp3 ,sp4 على التوالي (28.6, 14.4, 18.3, 23.3)سم مقارنة بنباتات السيطرة التي سجلت معدل طول 12.8 سم . في حين تراوحت معدل اطوال نباتات الفجل للعزلات الأربعة sp1, sp2 , sp3 , sp4 على التوالي (9.6,19.8, 10.7 , 15.2)سم مقارنة بالسيطرة التي سجلت 8.5 سم .في حين سجل معدل الوزن الطري لنباتات اللوبيا للعزلات الأربعة على التوالي sp1(8.9, 4.9, 6.4, 6.6)غم مقارنة بالسيطرة التي سجلت 2.78 غم. اما معدل الوزن الطري لنباتات الفجل للعزلات الأربعة على التوالي sp1, sp2 , sp3 , sp4 (10.6, 4.7 , 6.8 , 8.51)غم مقارنة بالسيطرة والتي سجلت 4.1 غم .اما معدل الوزن الجاف لنبات اللوبيا للعزلات الأربعة على التوالي , sp2

sp1 , sp4, sp3 (2.76 , 2.5 , 2.32 , 2.71) غم مقارنة بالسيطرة التي سجلت 1.2 غم .في حين سجل الوزن الجاف لنباتات الفجل للعزلات الأربعة على التالي الأربعة sp1, sp4, sp3, sp2 (3.71, 2.6, 3.05, 3.52)غم في حين سجلت نباتات السيطرة 2.0 غم . اما معدل نسبة الانبات للنبات اللوبيا فبينت نتائج الجدول رقم (1) للعزلات الاربعة sp1, sp2, sp3, sp4 (82 ,76,55,94)% مقارنة بمعدل نسبة الانبات لنبات السيطرة 56%. في حين سجلت نسبة الانبات لنبات الفجل وبالعزلات الاربعة sp1, sp2, sp3, sp4 (78, 70, 48,90)% مقارنة بالسيطرة 35%.اظهرت نتائج التجربة كما هو موضح في جدول رقم (2) وجود فروق معنوية في نسبة العناصر الكبرى ونسبة العناصر الصغرى وعند مستوى احتمالية 0.05 لنباتات اللوبيا التي اضيفت لها العزلات البكتيرية sp1 و sp3 و sp4 مقارنة مع نباتات السيطرة , بينما لم تظهر فروق معنوية واضحة في النباتات التي لقحت بالعزلة sp2 . لقد كانت العزلة sp1 هي اكفأ العزلات من حيث التأثير المعنوي اذ اظهرت النباتات الملقحة بها زيادة معنوية في نسبة العناصر الكبرى (Mg, P, S, K, Ca, Fe) اذ كانت نسبها في النباتات (1.15,7.1,3.96,4.82,1.93,3.85) % على التوالي مقارنة مع نسبها في نباتات السيطرة اذ كانت (1.07,6.6,3.61,4.27,1.53,3.04) %على التوالي . وتليها من حيث التأثير في زيادة نسب العناصر الكبرى والصغرى العزلتين sp4 وsp3 . اما العزلة sp2 فلم تظهر تأثيرا معنويا واضحا في نسب العناصر الكبرى سوى في عنصري ال Mg وS فقط اذ كانت نسبتهما 3.45 ,4.31 %على التوالي بينما كانت نسبتهما في نباتات السيطرة 4.27,3.04% . كما اظهرت العزلة sp2 تأثيرا معنويا في نسبة العناصر الصغرى (Mo, Zn, Cu, Mn, Cl), فقط , اذ كانت النسب في النباتات الملقحة بالبكتريا (1.02,1.03,1.01,1.04,2.81)% على التوالي مقارنة مع نباتات السيطرة اذ كانت النسب العناصر الصغرى (1.00,1.00,1.00,1.00,2.62)% على التوالي .اظهرت النتائج الموضحة في جدول رقم (3) وجود فروق معنوية في نسب العناصر الكبرى والصغرى وعند مستوى احتمالية 0.05 في نباتات الفجل الملقحة بالعزلات البكتيرية Sp1 و sp3 و sp4 , اذ اظهرت العزلات الثلاثة كفاءة في حصول زيادة معنوية في نسبة العناصر الكبرى ونسبة العناصر الصغرى في النبات وكانت العزلة sp1 الاكثر تأثيرا في الزيادة الحاصلة مقارنة مع العزلات الاخرى, تليها العزلتان sp4 و sp3 . اذ اظهرت العزلة sp1 فروقا معنوية في نسب العناصر الكبرى Fe (Mg, P, S, K, Ca,) وكانت نسبها (1.71,5.98,3.16,4.96,2.59,3.66) % على التوالي ,مقارنة مع نسب تلك العناصر في نباتات السيطرة اذ كانت (1.24,5.43,2.7,3.91,1.65,2.62)% على التوالي . وكذلك بالنسبة للعناصر الصغرى (Ba, MO, Zn, Cu, Mn, Cl) , اذ كانت نسبها (1.07,1.03,1.04,1.03,1.01,3.86)% على التوالي مقارنة بنسب تللك العناصر في نباتات السيطرة اذ كانت (1.02,1.00,1.006,1.00,1.007,2.68)% على التوالي .اما العزلة sp2 فلم تظهر تأثيرا معنويا في زيادة نسبة العناصر الكبرى والصغرى في النباتات التي لقحت بها , باستثناء عنصر الفسفور P فقط ,اذ كانت نسبته 1.83% مقارنة بنسبته في نباتات السيطرة اذ كانت 1.65% , وعنصر الكلور Cl فقط اذ كانت نسبته في النباتات الملقحة بالبكتريا 2.82% بينما كانت نسبة العنصر 2.68% في نباتات السيطرة . وقد اتفقت نتائج هذه التجربة من اذ التأثير الايجابي لعزلات ال *Pseudomonas spp* في تحفيز وزيادة النمو في النباتات مع دراسات وابحاث اخرى [18,19,20] في تحفيز النمو في نباتات فول الصويا والحنطة والطماطم على التوالي . وقد تعود قدرة بكتريا ال*Pseudomonas* في تحفيز النمو وزيادته في النباتات الى الاليات والفعاليات الحيوية التي تقوم بها بهذه البكتريا في المحيط الجذري للنباتات , والتي اثبتها العديد من الابحاث والتجارب العلمية . اذ اكدت العديد من الدراسات العلمية ان اجناس عديدة من بكتريا السيدوموناس تمتلك قابلية انتاج ال(IAA) Indole-3-acetic acide حول المحيط الجذري لجذور النبات ومما لا يخفى دور حامض ال(IAA) في زيادة النمو في النباتات اذ يحفز على انبات البذور ويفز انقسام الخلايا واستطالتها , ويحفز استطالة الجذور . [21] . واشارت دراسة Patten ان ال (IAA) الذي تنتجه بكتريا ال *P. putida GR1202* كان له دور كبير في زيادة النمو واستطالة الجذور في نبات الفول mungbea [22] .وكما واشارKumar واخرون الى الدور الفعال ل (IAA) الذي تفرزه عدة عزلات محلية من Pseudomonas spp. في تحفيز النمو في نبات الطماطم [19] . هذه الزيادة المعنوية او التحفيز الحاصل في نمو النباتات ضمن الدراسة الحالية قد يعزى الى الاليات او الفعاليات الحيوية التي يقوم بها بكتريا السيدوموناس في المحيط الجذري للنباتات , ومن ضمن الاليات التي تقوم بها السيدوموناس لتحفيز النمو في النباتات وهي انتاج ال Siderophors وهي Low-molecular mass iron cheators اذ اظهرت بعض الابحاث والدراسات الى ان الsiderophors لها دور كبير في زيادة جاهزية عنصر الحديدFe-uptake للنبات اذ تعمل هذه المركبات على تحويل اكاسيد الحديد الموجودة في المحيط الجذري الى شكل ذائب يسهل على الجذور امتصاصها , اذ اشارت دراسات الى ان مركبات الsiderophors المنتجة من قبل بكتريا P. fluorescence C7 قد ادت الى زيادة نسبة الحديد داخل انسجة نبات *Arabidopsis thaliana* وهذا قد زاد النمو في النبات [23] . كما ودلت دراسة اخرى Sharma 2003 ان مركبات السايدوفور التي تنتجها السلالة *Pseudomonas*

GP3 قد ادت الى زيادة نسبة الحديد ومحتوى الكلوروفيل زيادة النمو في نباتات الحمص الاخضر *Vigna radiata* الذي لقحت بالبكتريا بعد مرور 45 يوما من الزراعة [24] . كما ان مركبات الsiderophors تتحد مع العناصر الثقيلة في المحيط الجذري Pb, Zn, Cu, Al وتعمل على تخفيف تركيز تلك العناصر وهذا يؤدي الى تقليل وتخفيف الشد او الضغط الحاصل من تلك العناصر على النبات وهذا بدوره يساعد على زيادة نمو النبات [25] .وان من اهم العمليات الحيوية الفعالة التي يقوم بها ال Pseudomonas spp لزيادة النمو في النباتات هي زيادة جاهزية عنصر الفسفور للامتصاص من قبل الجذور والفسفور من المغذيات الاساسية التي يحتاجها النبات لنموه , اذ تقوم بكتريا السيدوموناس بتحويل مركبات الفسفور غير الذائبة الى الشكل الذائب الذي يسهل على الجذور امتصاص اكبر كمية من عنصر الفسفور لزيادة نموه. [27,26,18].واظهرت بعض الدراسات ان لبكتريا السيدوموناس دورا ايجابيا غير مباشر في تحفيز النمو في النبات اذ اشارت تلك الدراسات الى ان للبكتريا قابلية افراز انزيم ال ACC – deamiase (1-amino cyclopropane-1-) carboxylate ولهذا الأنزيم دور ايجابي في نمو النبات لاسيما خلال ظروف الشد الملحي والجفاف , (خلال ظروف الشد الملحي والجفاف تزداد مستويات الEthylene داخل الانسجة النباتية وهذا بدوره يؤثر في انقسام الخلايا ويقلل من نمو النبات) هنا يأتي دور انزيم ال ACC-deamiase في التقليل من مستويات او تركيز ال(ethylene) داخل الانسجة النباتية مما يقلل من تاثير ظروف الشد المائي والملحي في النبات.[(29,28] .

المصادر

1- Kloepper J.W .;Leong J. ; Teintze M. and Schroth M.N .(1980). Enhanced. Plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria . Nature, 286:885-886.

2-Frietas ,ADS .;Vieira ,CL.; Santos ,CERS.; Stamford ,NP., and Lyra ,MCCP. (2007).Characterization of rhizobateria isolated from L.Pachyrhyzus erosus cultivated in saline soil of the state of Pernambuco ,Brazil . Braganta , 66:497-504.

3-Vessey ,J.K. (2003). Plant growth promoting rhizo bacteria as a bio fertilizers . Plant soil , 255 : 571-586.

4-Rana,A.;Saharan,B.;Joshi,M.;Prasanna,R.;Kumar,K.,&Nain.(2011). Identification of multi-trail (PGPR) isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat. Ann. Microbiol., 68:893-90.

5-Bhattaccharyya,P.K. & Jha,D.K.(2012). Plant growth –promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World J. Microbiol. Biotechnol. , 28:1327-1350.

6-Ahemad M.,& Khan M.S.(2011). Pseudomonas aeruginosa strain PS1 enhances growth parameters of greengram [Vigna radiata(L.) Wilczek] in insecticide-stressed soil. J.Pest.Sci., 84:123-131.

7-Tank N.,and Saraf M .(2009). Enhancement of plant growth and decontamination of nikel-spiked soil using (PGPR). J.Basic Microbiol., 49:195-204.

8-Glick,B.P. (2012). Plant growth-promoting bacteria : Mechanisms and applications . Handawi publishing Corporation, Scintifi.

9- الرجب، أشواق طالب حميد (2005). عزل *Pseudomonas aureofaiciens* & بكتيريا *Pseudomonas chlororaphis* من الترب الرسوبية في محافظة الانبار وتقييم كفاءة *Pseudomonas aureofaiciens* مخصبا ومبيدا حيويا، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الانبار.

10-Hossain M. (1987). The antagonistic effect of fluorescent Pseudomonas sp. on plant growth and the control of soft rot and black leg of potato. Plant Pathogenic Bacteria, Martinis Nijhoff Pub. U.S.A.

11- Harly J.P., and Prescott L.M. (1996) . Lab rotary exercises in microbiology . 3rd ed. . U.S.A. . P: 484.

12-Holt et.al. (1994). Bergey′ s Manual of Determinative Bacteriology . (9th). Williams &Wikins , Baltimore , Mayland , USA.

13-Brenner,J. ; Kreig,R. , and Stanly,T. (2005). Bergey′ s Manual of systematic Bacteriology. The Probacteria , part A , Introductory Essay, springer, New York.

14-SAS. (2012). Statistical Analysis System , users guide statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Cary. N.C. USA.
15 - الحاج علي , انور و يازجي ,صباح . (2011). عزل بكتريا Pseudomonas aeruginosa وتشخيصها من ترب سورية ملوثة بالزيت وتقييم انتاجها لانزيم الليباز . مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية . (27). (1): 229-242.
16-Laskshmi,V. ; Kumari ,S. ; Singh,A. , and Prabha,C. (2015). Isolation and characterization of deleterious Pseudomonas aeruginosa KC1 from rhizospheric soil and its interaction and weed seedling . J. of King Saud uni.-Sci., 27(2):113-119.
17-Mayz,Julian ; Manzi,L. , and Larez,A. (2013). Isolation , characterization and identification of hydrocarbon clastic Pseudomonas species inhibiting the rhizosphere of Crotalaria micans Link . Euro. J. of Experimental Bio. , 3(5):313-321.
18-Parni,K.,and Saha ,B.K. (2012). Prospects of using phosphate-solubiling Pseudomonas as a bio fertilizer. Euro. J. Biol. Sci. , 4(2):40-44.
19-Kumar,P.;Kaushal ,Neha ,and Dubey R.C.(2015). Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria (Pseudomonas spp.) and their effect on the growth promotion of *Lycopersicon esculentum L.* . Academic Arena .7(5):44-51.
20-Sharma,S.K.;Johri,B.N.;Ramesh,A.;Joshi,O.P.,and Prassad,S.V.S. (2011). Selection of plant growth –promoting Pseudomonas spp. that enhanced productivity of soybean, and wheat cropping system in central India. J. Microbial. Biotechnology. 21:1127-1142.
21-Kamble ,K.D. ,and Galero ,D.K..(2015). Indole acetic acid production from Pseudomonas sp. isolated from rhizosphere of garden plants in Amaravati. Int. J. Adv. Pharmacy Bio. Chem.,4(1):23-31.
22-Patten,Cherly L. ,and Glick ,B.R. (2002). Role of Pseudomonas putida(GR1202) indole acetic acid in development of host plant root system . Appl.&Envior. Microbiol.,68(8):3795-3801.
23-Vansuyt G.;Robin A.;Briat J.F.;Curie C., & Lemanceau P. (2007). Iron acquisition from Fe-Pyoverdine by Arabidopsis thaliana . Mol. Plant Microbe. Interact.,20:441-447.
24-Sharma,A.;Johri,B.N.;Saharma,A.K.,and Glick,B.R. (2003). Plant growth promoting bacterium Pseudomonas sp. strain GRP3 influences iron acquisition in mung bean (*Vigna radiate L. Wilzeck*) . Soil Biochem.,35:887-894
25-Rajkumar,M.;Ae.N.;Passad,M.N.V.,and Freitas ,H. (2012). Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. Trends Biotechnology,28:142-149.
26-Ahemad,M.,and Kibret,M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. J.King saud Uni. Sci. ,26(1):1-20.
27-Zaidi,A.;Khan,M.S.,Ahemad,M.,and Oves,M. (2009). Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. Acta. Microbial. Immunology. ,56:263-284.
28-Zahir,Z.A.;Ghani,U.;Naveed,M.;Nadeem,S.M.,and Asghar,H.N. (2009). Comparative effectiveness of Pseudomonas and Serratia sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum L.*) under salt-stressed conditions . Arch. Microbial. ,191:415-424.
29-Nadeem,S.M.;Zahir,Z.A.;Naveed,M.,and Arshad,M. (2009). Rhizobacteria containing . ACC-deaminase confer salt tolerance in maize grown on salt-affected fields. Cand. J. .Microbial. ,55:1302-1309

جدول (1) كفاءة عزلات ال Pseudomonas spp. في معدل طول النبات , الوزن الطري والجاف ، ونسبة انبات البذور لنباتي اللوبيا *Vinga sinesis* والفجل *Rhaphanus stativus*

المعاملة	معدل طول النبات (سم)		معدل الوزن الطري للمجموع الخضري (غم)		معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم)		معدل نسبة الانبات (%)	
	اللوبيا	الفجل	اللوبيا	الفجل	اللوبيا	الفجل	اللوبيا	الفجل
Sp1	28.6* ±0.5	19.8* ±1.8	8.9* ±1.4	10.6* ±1.3	2.76* ±0.4	3.71* ±0.9	94%* ±5	90%* ±3.5
Sp2	14.4 * ±0.6	9.6 ±1.7	4.9* ± 0.7	4.7* ±0.5	2.5* ±1.3	2.6 * ±0.5	55%* ±0.9	48%* ±3.0
Sp3	18.3* ±1.6	10.7* ±2.0	6.4* ±1.2	6.8* ±0.6	2.32* ±1.5	3.05* ±0.5	76%* ±2.0	70%* ±2.0
Sp4	23.3* ±1.4	15.2* ±0.9	6.6* ±0. 2	8.51* ±0.5	2.71* ±1.9	3.52* ±0.6	82%* ±3.0	78%* ±1.5
control	12.8 ±0.7	8.5 ±1	2.78 ±1.5	4.1 ±0.3	1.2 ±2.0	2.0 ±2.9	56% ±3.0	35% ±0.5
L.S.D	1.2		2.3		1.9		7.5	

*** فرق معنوي على مستوى احتمالية 0.05 .**

جدول (2) تأثير العزلات البكتيرية الاربعة في نسبة العناصر الكبرى والصغرى في نبات اللوبيا *Vinga sinesis*.
*** فرق معنوي على مستوى احتمالية0.05.**

المعاملات	نسبة العناصر الكبرى (%)						نسبة العناصر الصغرى (%)					
	Mg	P	S	K	Ca	Fe	Cl	Mn	Cu	Zn	Mo	Ba
Sp1	3.85* ±0.2	1.93* ±1.5	4.82* ±2.1	3.96* ±1.9	7.1* ±2.0	1.15* ±1.6	3.46* ±1.4	1.2* ±0.04	1.1* ±1.5	1.09* ±1.8	1.10* ±2.8	1.06* ±3.6
Sp2	3.45* ±2.0	1.55 ±2.7	4.31* ±1.0	3.62 ±1.4	6.68 ±0.3	1.07 ±2.4	2.81* ±1.6	1.04* ±0.5	1.01* ±1.2	1.03* ±1.6	1.02* ±0.6	1.01 ±2.7
Sp3	3.66* ±1.4	1.62* ±2.5	4.65* ±1.3	3.81* ±0.6	6.79* ±0.04	1.11* ±2.6	3.22* ±0.8	1.08* ±0.07	1.06* ±0.5	1.06* ±2.05	1.05* ±1.7	1.05* ±2.6
Sp4	3.76* ±1.2	1.83* ±2.5	4.73* ± 1.8	3.89* ±0.9	6.96* ±1.5	1.13* ±0.5	3.31* ±2.2	1.1* ±0.1	1.09* ±1.6	1.07* ±1.03	1.08* ±0.9	1.06* ±1.00
Control	3.04 ±0.3	1.53 ±2.0	4.27 ±0.7	3.61 ±1.3	6.6 ±0.9	1.07 ±0.6	2.62 ±2.1	1.00 ±0.3	1.00 ±0.5	1.00 ±4.8	1.00 ±4.0	1.01 ±3.2
L.S.D	0.7	1.2	0.7	1.4	2.0	1.8	1.3	0.7	0.8	0.2	0.5	0.5

جدول (3) تأثير العزلات البكتيرية الاربعة في نسبة العناصر الكبرى والصغرى في نبات الفجل*Rhaphanus stativus* .

المعاملات	نسبة العناصر الكبرى (%)						نسبة العناصر الصغرى (%)					
	Mg	P	S	K	Ca	Fe	Cl	Mn	Cu	Zn	Mo	Ba
Sp1	3.66* ±1.9	2.59* ±1.0	4.96* ±2.5	3.16* ±3.1	5.98* ±0.7	1.71* ±2.4	3.86* ±3.0	1.01* ±2.0	1.03* ±4.2	1.04* ±0.5	1.03* ±0.6	1.07* ±3.6
Sp2	2.69 ±0.45	1.83* ±1.7	3.96 ±1.5	2.82* ±3.0	5.43 ±1.9	1.25 ±1.7	2.82* ±3.1	1.007 ±2.8	1.004 ±2.9	1.008 ±3.6	1.004 ±3.0	1.03* ±2.8
Sp3	3.48* ±0.8	2.36* ±1.5	4.35* ±0.5	2.96* ±0.5	5.79* ±0.8	1.65* ±1.7	3.11* ±0.5	1.009 ±2.6	1.01* ±1.6	1.02* ±1.8	1.01* ±4.0	1.05* ±0.5
Sp4	3.49* ±2.1	2.48* ±4.2	4.36* ±2.3	2.98* ±2.3	5.81* ±1.5	1.68* ±2.6	3.22* ±3.4	1.009 ±4.0	1.02* ±0.7	1.03* ±5.2	1.02* ±4.7	1.06* ±6.5
ontrol	2.62 ±2.0	1.65 ±1.5	3.91 ±0.7	2.70 ±2.0	5.43 ±1.8	1.24 ±0.5	2.68 ±0.6	1.007 ±0.5	1.000 ±3.1	1.006 ±3.6	1.000 ±4.5	1.02 ±5.1
L.S.D	0.2	0.6	1.6	1.3	0.8	2.0	2.2	1.9	1.0	0.5	0.3	0.4

* فرق معنوي على مستوى احتمالية 0.05.

The Effect of a Local Bacterial Isolates of *Pseudomonas spp* in Growth and Elements Nutrition Uptake of (*Vinga sinesis*) & (*Rhaphanus stativus*)

Asseel M.M. Habh
Mohammed A. Al-Jaleel Khalil
Suhad Y. Alfili
Rami M. Idan
Dept. of Biology, College of Sciences ,University of Mustansiryah

Received in:27January2016, Accepted in :8May2016

Abstract

An experiment was conducted to study the effect of four isolates *of Pseudomonas spp*. on the growth of two plants Radish & Cowpea and on the concentrations of macro elements & microelements . This experiment included two parts , the 1st. part included isolation and characterization of 4 isolates of Pseudomonas bacteria from local Iraqi soils Baghdad . The 2nd part included planting two plants Radish & Cowpea in plastic pots size 5Kg -soil in the green house Biology Dept. College of Science , after planting we added the isolates to the pots , and after 50 days, the growth parameters length , fresh and dry weight , percentage of germination were recorded , and the concentrations of macro elements Mg ,P ,K ,Fe, and Ca ,and microelements Zn ,Cl ,Mo ,Cu ,and Ba. The results showed that the bacterial isolates were effective in promoting the growth of two plants comparing with control plants , the concentrations of maco & microelements were increased in both plants after adding the bacteria to the plants. Results were analyzed statistically using the least significant difference and at the level of probability of 0.05.

Key words : *Pseudomonas spp*. . promoting growth . Radish & Cowpea.