Bull. Fac.Agric.,Cairo Univ., 64: 186-193(2013).

ISOLATION OF RHIZOBIUM BACTERIA IN COMPARISON WITH LOCAL AND GLOBAL STRAINS AND ITS AND ITS SIGNIFICANCE IN THE INOCULATION OF *Phasoelus vulgaris*

(Received: 26.2.2013)

By
M. G. Abd allah

Faculty of Agricultural, Omdurman Islamic University, Sudan

ABSTRACT

This research aimed to study the inoculation of *Phasoelus vulgaris* variety 012R seeds with 4 strains of rhizobium bacteria. These strains were, two imported, namely USDA-2674 & USDA-2669 as well as a local strain ENRRI-2. A fourth strain was isolated from Ph.*vulgaris* in the River Nile State. Additionally, Nitrogen fertilized was added at 120/kg/ha. All the experiments were carried out. The two imported strains were more effective than the two local strains. Than in clay soil USDA-2674 was more effective than USDA-2669. The high dose of 120/kg/N/ha had an inhibitory effect on the formation of the nodules, and it reduced the green and dry matters weight compared to the four test strains.

Key words: *bean inoculation,local and global strains, isalation of Rhizobia.*

عزل بكتيريا Rhizobium ومقارنتها بسلالات محليـة وعالمية وجدوي إستخدامها في تلقيح الفاصوليا

محي الدين جمعة عبدالله

كلية الزراعة - جامعة أم درمان الاسلامية - السودان

ملخص

يهدف البحث لدراسة تلقيح الفاصوليا بأربع سلالات من بكتيريا العقد الجذرية،إثنان منها مستوردتان هما USDA-2669 &USDA-2674 وسلالة محلية ENRRI-2 وهناك سلالة رابعة تم عزلها من مناطق زراعة الفاصوليا في ولاية نهرالنيل بالأضافة كذلك فقد تم تطبيق 120كجم نيتروجين/هكتار بدون إستخدام التلقيح. تم إجراء كل التجارب في أصص فخارية توضع فيها كمية من الطمي. كانت السلالتان المستوردتان أكثر تأثراً من السلالتين المحليتين، كما كانت السلالة المستوردة USDA-2674 أكثر تأثراً من السلالة المستوردة الأخري. أما المعاملة بأستحدام 120 /كجم/نيتروجين/هكتار فق د كان لها تاثيرمثبط علي تكوين العقد كما أنها قللت وزن المادة الخضراء الجافة مقارنة بالأربع سلالات من البكتيريا العقدية.

1. المقدمـــة

تلعب البقول دوراً هاماً في تغذية الإنسان وتستعمل في التغذية أما بطريقة مباشرة باستعمال حبوبها في الغذاء، أو بطريقة غير مباشرة عن طريق تغذية الحيوان الذي يحولها إلى منتجات حيوانية ، وتعتبر مصدراً هاماً للبروتين والكالسيوم التي تفتقر إليها الحبوب النجيلية مما يوفر تغذية متوازنة عند تعذر الحصول على البروتين الحيواني كما أنها غنية بالعناصر المعدنية والفيتامينات. ويساعد إنجاح زراعة البقوليات توفر البكتريا العقدية الملائمة للمحصول التي لها القدرة على تثبيت النيتروجين من الهواء في العقد الجذرية للبقوليات وتعتبر زراعة البقوليات وسيلة إقتصادية للاستفادة منها في المحافظة على خصوبة التربة.

وجد أن نبات الفاصوليا يثبت كميات أقل من النيتروجين مقارنة بالبقوليات الأخرى بواسطة بكتيريا العقد الجذرية ويتم تحسين ذلك عن طريق الانتخاب والاختبار لأنواع السلالات، لذلك كانت هذه الدراسة لمعرفة أثر التلقيح ببكتيريا الرايزوبيا على نمو وإنتاجية الفاصوليا واختيار حسن السلالات من حيث فعاليتها لتلقيح الفاصوليا وتثبيت النيتروجين.

2. البحوث والدراسات السابقة

2-1. تأثير نيتروجين التربة على التلقيح بالرايزوبيوم وتثبيت البقول للمركبات النيتروجينية

يؤدى إضافة تركيزات عالية من سماد النيتروجين إلى تثبيط عملية تكوين العقد الجذرية وتثبيت النيتروجين في العلاقة التكافلية بين الرايزوبيوم والبقوليات (Swaraj *et al.*,1993) ويعتمد مدى الأثر المثبط على النبات العائل وسلالة الرايزوبيا وعمر النبات ومعدل تركيب المركب النيتروجيني المضاف إضافة إلى عدة عوامل بيئية أخرى (حياتي، 1993م).

تختلف حساسية البقوليات لاختلاف التركيزات العالية من نيتروجين التربة وإختلاف نوع النبات البقولي فمثلاً نجد أن فول الصويا يلي الفاصوليا تأثراً بإضافة سماد النيتروجين لدرجة عدم تكون العقد الجذرية وإنخفاض معدل تثبيت النيتروجين (Abaidoo *et al.*, 1993) بينما نجد أن بقوليات أخرى مثل الفول السوداني والفول المصري أقل تأثراً بالتركيزات العالية لنيتروجين التربة (Giller and Wilson, 1991). في تجربة لعدة أصناف من فول الصويا وجد أن صنف واحد فقط لم يتأثر بالمعدلات العالية لمحتوى التربة من النيتروجين (Hardarson *et al.*, 1984) مما يدل على اختلاف أنواع الجنس الواحد من النباتات البقولية لتأثرها بتركيز نيتروجين التربة (Singh and Singh, 1989). وعليه فإن تثبيت البقوليات للنيتروجين يكون أعلى عندما يكون نيتروجين التربة المتاح قليلاً جداً لذلك ينصح بإضافة كمية قليلة من النيتروجين مع الأسمدة المستعملة للمحاصيل البقولية عند الزراعة ريثما تتمكن الرايزوبيا من تكوين العقد على جذورها وتثبيت النيتروجين فيما بعد أما إذا أضيفت كميات كبيرة من النيتروجين وبإستمرار لهذه المحاصيل فذلك يخفض نشاط الرايزوبيا وتعتبر ممارسة غير اقتصادية (تيسريل ونيلسون 1987م) ديسموفا وديكوف 1990م) وقد وجد أن إضافة جرعات عالية من سماد النيتروجين أدت إلى تثبيط تكوين العقد الجذرية في الفول المصري (Mukhtar and Babiker, 1994)، والحلبة (Desperrier *et al.*, 1985) وفول الصويا (*Glycine max*) (Cheizey *et al.*, 1992)، والفاصوليا (Floor, 1985)، وعلى العموم وجد أن الكميات القليلة من عنصر النيتروجين في المراحل الأولى من الإنبات يحفز تكوين العقد الجذرية (Freire, 1984) ووجد أن إضافة 20 كجم نيتروجين /هكتار إلى اللقاح أعطت أعلى عائدات للمحصول والحد الأعلى لعدد العقد الجذرية لفول الصويا والفول السوداني (Tripathi *et al.*, 1994) وإن استخدام 20 كجم نيتروجين /هكتار مع التلقيح ببكتيريا الرايزوبيا أدت لزيادة إنتاج محصول القوار بمعدل أعلى مقارنة باستخدام سماد النيتروجين أو لقاح الرايزوبيا كل على حده (Singh and Singh, 1989).

2-2 مواصفات سلالات الرايزوبيا الأصلية

يعتبر بعض هذه المواصفات ضرورياً في حين أن بعضها الأخير يستحسن وجودها اعتماداً على الهدف من الاختيار، المواصفات الضرورية يمكن تلخيصها في الأتي:

2-2-1- المواصفات الضرورية

- القدرة على تكوين العقد الجذرية في البقول في مكان زراعته والظروف الحقلية السائدة (Infectiveness).
- القدرة على تثبيت النيتروجين بفعالية تؤدى إلى إنتاجية تماثل إنتاجية المحصول المعامل بالسماد الصناعي (Effectiveness).
- المقدرة على الإصابة والتثبيت عندما تكون الرايزوبيا في شكل لقاح تجاري.
- المقدرة على الاستمرار حية خلال توزيع اللقاح على المزارعين وخلال فترة استعمالهم له.
- قابلية الرايزوبيا على مقاومة درجات الحرارة العالية والمقدرة على العيش على البذور والتربة (Abd Elgani, 1997).

2-2-2- الصفات التي يستحسن توفرها

- طول فترة البقاء في الحامل أو التربة وبالذات لقاحات المحاصيل المعمرة. هذا يعنى تمكن السلالة من العيش فترة طويلة في غياب المحصول وقدرتها على المنافسة.
- مقاومة مبيدات الحشرات والفطريات. إن اختلاف الرايزوبيا في هذه الصفات المذكورة أعلاه يمثل الأساس العلمي لاختيار الرايزوبيا. فبينما يتم اختبار الرايزوبيا ذات الصفات المرغوبة من بين الرايزوبيا الطبيعية المتوطنة يتم انتخاب واختبار عينات البقوليات الملائمة من بين العينات المتوفرة (Abd Elgani, 1997).

2-3- البكتيريا المثبتة للنيتروجين بالتشارك

أكدت العديد من الأبحاث باستخدام طريقة اختزال الاستيلين وباستخدام نظير النيتروجين 15N أن المجال الجذري لكثير من النباتات خاصة النجيلية به نشاط عالي من حيث تثبيت النيتروجين. وبدراسة هذه الترب تمكن الباحثون من عزل العديد من البكتيريا الحرة المثبتة للنيتروجين في المجال الجذري (الرايزوسفير) ومن سطوح الجذور (الرايزوبلان). برهنت هذه البحوث أن العديد من النباتات العليا ترتبط بعدد من البكتيريا المثبتة للنيتروجين وأن هذا الارتباط يبدو أحياناً متخصصاً جداً، مثلا البكتيريا من نوع *Azotobacter paspali* والتي تم عزلها من جذور بعض الحشائش من نوع *Paspalun notatum*. الأجناس الأخرى المشاركة لنباتات أخرى تبدو أقل تخصصاً، فمثلاً البكتيريا من جنس Derxia ترتبط ارتباطاً وثيقاً بعدد من النباتات المدارية خاصة في الأراضي الغدقة ، (Baldani and Doberomer, 1980).

2-4- البكتيريا المتكافلة مع البقوليات

وجد أن معظم النباتات البقولية التي تم فحصها (ما عدا تحت عائلة *Caesalpinioidae*) تتكافل مع الرايزوبيا وتكون عقداً جذرية على تثبيت النيتروجين. ثلاثون بالمائة فقط من عائلة *Caesalpinioidae* وجدت أنها بها عقد جذرية وهذا يعنى أن ليس كل البقوليات لها هذه القدرة

التكافلية (Ciat 1988). هذه البقوليات تتكافل بشكل أساسي مع بكتيريا تنتمي إلى جنسين هما *Rhizobium* و*Bradyhizobium* وقد أضيف حديثاً جنس ثالث هو *Azorhizobium*، وتكون هذه البقوليات بالتكافل مع هذه البكتيريا عقداً جذرية تتم فيها عملية تثبيت النيتروجين.

2-5- الباكتريا جنس *Rhizobium*

يضم هذا الجنس الرايزوبيا سريعة النمو والتي تنتج حامضاً في وسط النمو وهذه تشمل الأنواع : *Rhizobium meliloti* المتكافلة مع مجموعة البرسيم، ونوع *Rhizobium leguminosarum* بعيناته الثلاثة (Biovars) *Viciae* و *Phaseoli* و*Trifolii* وهذه تتكافل مع عدد كبير من البقوليات المحصولية مثل الفول المصري والفاصوليا والبسلة والعدس والبرسيم الأصفر ونوع *Rhizobium loti* والتي تتكافل مع عدد من المحاصيل العلفية.

من الأنواع الجديدة التي أضيفت إلى جنس *R.hizobium* نوع *R. fredii* وهي من النوع سريع النمو والذي يتكافل مع فول الصويا (معلوم أن غالبية عينات فول الصويا تتكافل مع الرايزوبيا بطيئة النمو من جنس *Bradyhizobium* أيضاً نوع *Rgalegae* تتكافل مع بقول علفي من المناطق المعتدلة ينتمي لجنس *Galega*، ونوع *R. huakuii* والتي تم عزلها من نبات *Astragalus sinicus* والذي يستخدم كسماد اخضر في جنوب الصين وأخيراً نوع *Rhizobium tropici* وقد أطلق على الرايزوبيا المعزولة من الفاصوليا في المناطق المدارية والتي تستطيع أيضاً إصابة نباتات الـ*Leucaena* (Chen *et al.*, 1991).

2-6- العوامل الفيزيائية المؤثرة على تثبيت النيتروجين

1- درجة الحرارة: تعتبر درجة الحرارة أحد أهم العوامل المؤثرة على تثبيت النيتروجين وذلك لأن درجة الحرارة تؤثر على كل العمليات الفسيولوجية بجانب تأثيرها على النشاط الإنزيمي والذي يعتمد عليه النشاط الحيوي إعتماداً كبيراً.

عموماً فإن مقاومة البكتيريا لدرجات الحرارة العالية أقل في الترب الرطبة عنها في التربة الجافة. كما أن الرايزوبيا المتوطنة يمكن أن تكون أكثر مقاومة للحرارة العالية من البكتيريا المضافة بالتلقيح خاصة تلك التي استجلبت أصلاً من مناطق باردة (مختار وبابكر، 2001).

2- الجفاف: يعتبر الجفاف من أهم العوامل الفيزيائية التي لها تأثير كبير على عملية تثبيت النيتروجين، فيما قد أثبتت العديد من التجارب أن أعداد الرايزوبيا يتناقص لحد كبير كلما جفت التربة. ولكن احتمال الجفاف يختلف باختلاف عينات الرايزوبيا فقد ثبت أن عينات الـ *Bradyhizobium* أكثر احتمالاً للجفاف من عينات الـ *Rhizobium* في خلال فترات قصيرة من الجفاف.

2-7- العوامل الكيمائية المؤثرة على تثبيت النيتروجين

تشمل العوامل الكيميائية المؤثرة على تثبيت النيتروجين الملوحة ودرجة الحموضة والعناصر الضرورية والكيماويات التي تضاف للتربة مثل المبيدات والأسمدة وقد ركزت الكثير من البحوث على العناصر الكبرى مثل النيتروجين والفسفور على الملوحة ودرجة pH وتأثيرها على عملية تثبيت النيتروجين.

1- تأثير الأملاح: إستعرض (حياتي 1990) تأثير الأملاح على العلاقة التكافلية بين الرايزوبيا والبقوليات والبحوث التي أجريت في السودان في هذا الشأن خلصت إلى أن الرايزوبيا أكثر مقاومة للملوحة من البقوليات، وأن عزلات الرايزوبيا سريعة النمو أكثر مقاومة من العزلات بطيئة النمو من جنس *Bradyhizobium*. ومن البديهي أن الأملاح الزائدة تقلل نمو البقوليات وتؤثر سلباً على عملية تكوين العقد وتثبيت النتروجين. تحت ظروف الملوحة أعطت عملية التلقيح بالرايزوبيا نتائج ايجابية ولكن الاستجابة للتلقيح تختلف باختلاف العزلات ونوعية النبات. وأن التأثير المهم للأملاح يأتي نتيجة لزيادة الضغط الأسموزي وبالتالي على قدرة النباتات على امتصاص الماء. هذا بالإضافة إلى التأثير المباشر للأيونات الزائدة مثل الصوديوم والكلوريد والبورون والتي توجد في مستخلص التربة في المناطق الجافة وقد دلت بعض الأبحاث على قدرة عدد من العزلات من بكتيريا *Azospirillum halopraeferens* على مقاومة الملوحة.

2-درجة تركيز أيون الهيدروجين: تعتبر من العوامل الكيميائية المهمة، وقد أثبتت التجارب تأثير الحموضة على البكتيريا المثبتة للنيتروجين. ويعزى هذا التأثير في الأساس للتسمم بواسطة أيون الألمونيوم. إن معظم أراضي السودان باستثناء بعض الولايات الجنوبية قلوية في تفاعلها ولذلك فإن تأثير الحموضة في كافة المشاريع الكبرى ليس له أهمية وإنما التأثير إن كان هنالك تأثير ما يكون نتيجة للقلوية وللخصائص الجيرية لغالبية الأراضي الزراعية. إن هذه الأراضي القلوية الجيرية تفتقر للعديد من العناصر الصغرى الضرورية والتي ربما تكون لها تأثير على عملية تكوين العقد وتثبيت النيتروجين

3-العناصر الغذائية: أن العناصر الغذائية تلعب دوراً كبيراً في عملية تكوين العقد وتثبيت النيتروجين وقد أثبتت التجارب الأثر المعنوي في تخفيض عدد العقد وحجمها وفعاليتها لنقص عدد من العناصر الضرورية (مختار وبابكر 2001م).

3 -المواد وطرق البحث

3-1- التربة

احضرت تربة من ثلاث مناطق في ونهر النيل وهي منطقة الباوقة ومنطقة دار مالي ومنطقة المكابراب لتمثل تلك المناطق ولاية نهر النيل. تم تكسير هذه الترب ومن ثم غربلتها بغربال 0.5 سم وأخذت عينات منها لقياس الرقم الهيدروجيني (ph) ووجد 7.4 في المتوسط.

3-2- أصص التجارب

تم الحصول على أصص تجارب فخارية متساوية الحجم بارتفاع 24 سم وقطر فوهة 22سم لكل أصيص مع وجود ثقب عند القاعدة مما يسمح بالتخلص من الماء الزائد عند

الري وتبلغ سعة الأصيص 2كجم من التربة. وقد تمت تعبئة 6 أصص بكل نوع من أنواع التربة.

3-3- زراعة التجربة

تم الحصول على بذور الفاصوليا من محطة أبحاث شمبات التابعة لهيئة البحوث الزراعية (عينة 012R) وبعد فرزها تم اختيار البذور السليمة وزرعت خمسة بذور في كل أصيص ثم خففت بعد الإنبات إلى ثلاثة نباتات في كل أصيص. زرعت البذور على عمق 1.5 سم من السطح وتم ري الأصيص بعد الزراعة مباشرة باستخدام مياه الصنبور ومن ثم كانت كل الأصص كلما تطلب الأمر.

4-3- اخذ العينات

تم اخذ العينات (النباتات) في كل المعاملات وذلك بقلب الأصص ودق حافته على التربة بحيث تخرج كتلة التربة المحتوية على النباتات ووضعت في غربال 0.5 سم وغسلت بتيار هادئ من مياه الصنبور لغسل التربة من الجذور وروقبت العقد الجذرية المتكونة على النباتات وذلك بعد مضي شهر من الزراعة وكانت النتيجة بان التربة التي جلبت من مشروع المكابراب فقط هي التي كونت العقد الجذرية على نباتاتها إلا أن النباتات التي زرعت في تربة منطقتي دار مالي والباوقة فلم تكون عقداً جذرية على نباتاتها.

5-3- عزل رايزوبيا الفاصوليا

بعد انبات بذور الفاصوليا المزروعة في أصص التجارب تم البحث عن العقد الجذرية بين 3-4 اسابيع من عمر النبات وذلك عن طريق الحفر على شكل دائري ببعد 15سم من النبات وعمق 20سم وتم نزع كتلة التربة المحتوية على النبات وتمت إزالة التربة العالقة على الجذور برفق وتم وضع النبات في كيس شبكي وتم غسلها بواسطة الماء. وفحصت العقد الجذرية وفصلت من الجذور بقطع الجذر إلى مسافة 0.5سم في كل جانب واعطت السلالة المعزولة الرمز R012R.

6-3- دراسة فعالية سلالات رايزوبيا الفاصوليا (تجربة الأصص)

تم إجراء هذه التجربة في أصص تجارب فخارية بتصميم عشوائي كامل في الموسم الشتوي 2000-2001م لاختيار أفضل السلالات من بكتريا الرايزوبيا من بين أربعة سلالات وهي:

1- سلالة USDA-2669 من خارج السودان.
2- سلالة USDA-2674 من خارج السودان.
3- سلالة ENRR1-2 من داخل السودان.
4- السلالة المعزولة 012R (المركز القومي للبحوث – السودان،199).

7-3- المعاملات

1- شاهد (عدم تلقيح النباتات ببكتريا الرايزوبيا وعدم إضافة سماد نتروجيني).
2- إضافة نتروجين بمعدل 120 كجم/هكتار في شكل يوريا.
3- إضافة 5مل من اللقاح لكل نبات باستخدام لقاح سائل من السلالة ENRR1-2.
4- إضافة 5مل من اللقاح لكل نبات باستخدام لقاح سائل من السلالة USDA-2674.
5- إضافة 5مل من اللقاح لكل نبات باستخدام لقاح سائل من السلالة R012R.
6- إضافة 5مل من اللقاح لكل نبات باستخدام لقاح سائل من السلالة USDA-2669.

8-3- أصص التجارب

استخدمت أصص بنفس المواصفات المبينة في 3-1-2 لتجربة الموسم السابق وكانت بواقع أربعة أصص لكل معاملة من المعاملات الستة.

9-3- تربة التجربة

تم إحضار تربة من منطقة شمبات من الجروف وتم تكسيرها وغربلتها جيداً بغربال 0.5 سم ووضعت في الأصص بواقع 2كجم لكل أصيص.

10-3- زراعة التجربة

تم الحصول على بذور الفاصوليا عينة 012R وبعد فرزها تم اختيار البذور السليمة وتمت زراعتها بواقع خمسة بذور في كل أصيص على عمق 1.5 سم من السطح وتم ري الأصص بعد الزراعة مباشرة باستخدام مياه الصنبور وكانت تروي كلما تطلب الأمر وبعد الإنبات خففت إلى أربعة نباتات في كل أصيص.

11-3- اخذ العينات

تم اخذ النباتات في كل المعاملات وذلك بقلب الأصيص ودق حافته على التربة بحيث تخرج كتلة التربة المحتوية على النباتات ووضعت في غربال 0.5سم وتم غسلها بتيار هادئ من مياه الصنبور وذلك بعد مضي شهر من الزراعة وتم عزل العقد الجذرية المتكونة على جذور النباتات في كل المعاملات وذلك باخذ 3 نباتات من كل أصيص في كل معاملة ومن ثم اخذت للمعمل وتم فصل المجموع الجذري ومن ثم جففت النباتات في فرن كهربائي لمدة يومين تحت درجة حرارة 70-80 درجة مئوية واخذ الوزن الجاف للمجموع الخضري والمجموع الجذري والعقد الجذرية وقد اخذت نفس العينات في (45، 60) يوماً من الزراعة.

12-3- إضافة السماد النتروجيني

تمت إضافة السماد النتروجيني في شكل يوريا بعد انبات البادرات وعلى مقربة من النبات بواقع120 كجم/هكتار من اليوريا.

13-3- تجهيز اللقاح السائل من السلالات الأربع

تم تحضير الوسط الغذائي السائل (YEMB) من YEAST, NaCL 0.1g, MGSO4. ،Mannitol 10g 7H2O 0.2G, K2HPO4 0.5g, EXTRACT 0.5 وذلك لتحضير لتر واحد من مرق الخميرة والمانيتول (تضاف 15جرام من الأجار لكل لتر من الوسط السائل للحصول على وسط الخميرة والمانيتول) يتم تعقيم الوسط الغذائي في درجة حرارة 121 درجة مئوية وضغط 15 رطل/بوصة باستخدام جهاز الاوتوكليف لمدة 15-30 دقيقة وبعد ذلك يتم زراعة السلالات الأربع كل في وسط منفصل (Somasegaran and Hoben,1994).

4-النتائج والمناقشة

4-1- اثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنيتروجين علي متوسط عدد العقد الجذرية

نتج عن التلقيح بالسلالة المستوردة USDA-2669اعلي متوسط أثره معنوي (P=0.01) لعدد العقد الجذرية في نباتات الفاصوليا من بين المعاملات المختلفة إلا الشاهد والذي تفوق معنوياً (P=0.01) علي المعاملات الاخري إلا ENRR1.2 وذلك بعد 30 يوماً من الزراعة إلا أن ذلك العدد انخفض انخفاضاً ملحوظاً عند 45 يوماً و60 يوماً بعد الزراعة . إضافة النيتروجين 120 كجم /هكتار سجلت أقل متوسط لعدد العقد الجذرية من بين السلالات عند 30 يوماً من الزراعة . سجلت السلالات المستوردة مجتمعة اعلي متوسط لعدد العقد الجذرية مقارنة بالسلالات المحلية (جدول 1).

سجلت السلالة المحلية عند 45 يوماً من الزراعة ENRR1-2 اعلي متوسط لعدد العقد الجذرية من بين السلالات المختلفة تليها في الزيارة السلالة المستوردة USDA-2669وكان الفرق معنوياً (P=0.01) إلا أن معاملة النتروجين بمعدل 120 كجم/هكتار منعت تكون العقد الجذرية وايضاً نجد أن السلالات المستوردة مجتمعة أعطت اعلي متوسط لعدد العقد الجذرية مقارنة بالسلالات المحلية وذلك عند 45 يوماً من الزراعة (جدول 1) .

جدول (1): أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنيتروجين على متوسط عدد العقد الجذرية جرام/أصيص.

المعاملات	عمر النبات (يوماً)		
	30	45	60
CONTROL	33.25	11.50	11.50
N	7.00	0.00	2.00
ENRR1-2	18.66	30.25	0.00
USDA-2674	11.50	18.00	25.25
O12R	10.00	8.00	5.00
USDA-2669	43.75	23.50	2.75
LSD	19.01	17.04	11.12

سجلت المعاملة المستوردة USDA-2674 اعلي متوسط لعدد العقد الجذرية من بين جميع المعاملات عند 60يوماً من الزراعة وكان الفرق معنوياً (P=0.01)تليها معاملة الشاهد بينما نجد أن معاملة النتروجين 120 كجم/هكتار والسلالة المحلية ENRR1-2 سجلت أقل متوسط لعدد العقد الجذرية عند 60 يوماً من الزراعة (جدول 1) .

وهذا وافق النتائج التي تحصل عليها (مختاروبابكر2001) في أن إرتفاع عدد العقد في المراحل الأولي وأرتفاعه أو إنخفاضه قد يرجع إلي المنافسة بين الرايزوبيا المتوطنة والمضافه وإضافة النيتروجين 120/كجم/ هكتارتثبط تكوين العقد الجذرية ووافقت أيضاً ماقالـه (Abaido*et et al.*,1989) أمـا السلاله المحليه 012R فقد سجلت إنخفاضا ملحوظا في متوسط عدد العقد الجذريه عن بقية المعاملات عدا معاملة إضافة النتروجين التي سجلت أكثر إنخفاضا علي الإطلاق وكلا المعاملتين كان الإنخفاض معنوي مقارنة بالزياده في بقية المعاملات.

4-2- اثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنيتروجين علي متوسط الوزن الرطب للعقد الجذرية

سجلت السلالة المستوردة USDA-2674اعلي وزن لمتوسط الوزن الرطب للعقد الجذرية من بين جميع السلالات والمعاملات وكان الفرق معنوياً (P=0.01) إلا علي السلالة المستوردة USDA-2669 وكما وجد أن إضافة النتروجين 120كجم /هكتار أعطت انخفاضاً في الوزن الرطب للعقد الجذرية وذلك بعد 30 يوماً من الزراعة . أما مقارنة السلالات المستوردة بالمحلية نجد أن السلالات المستوردة أظهرت تفوقاًَ علي السلالات المحلية في متوسط الوزن الرطب للعقد الجذرية عند 30 يوماً من الزراعة (جدول2) .

عند 45 يوماً من الزراعة أظهرت السلالة المستوردة USDA-2669 تفوقاُ كان أثره معنوي (P=0.01) علي جميع المعاملات في متوسط الوزن الرطب للعقد الجذرية تليها في ذلك السلالة المحلية ENRR1-2 أما إضافة الجرعات العالية من النتروجين 120كجم/هكتار فقد أعطت انخفاضاً في متوسط الوزن الرطب للعقد الجذرية أما السلالتان المحليتان 012R وENRRI-2 سجلتا إنخفاضا ملحوظا كان أثره معنوي عند مقارنته بالسلالتان المستوردتان (جدول 2) .

جدول (2):أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنيتروجين على متوسط الوزن الرطب للعقد الجذرية (جرام /أصيص).

المعاملات	عمر النبات (يوم)		
	30	45	60
CONTROL	0.19	0.10	0.18
N	0.06	0.00	0.07
ENRR1-2	0.13	0.23	0.00
USDA-2674	0.32	0.13	0.16
O12R	0.11	0.07	0.05
USDA-2669	0.30	1.59	0.03
LSD	0.17	0.69	0.09

4-3- أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنيتروجين على متوسط الوزن الجاف للعقد الجذرية (جرام / أصيص)

سجلت السلالة المستوردة USDA-2669اعلي وزن جاف كان أثره غير معنوي لمتوسط الوزن الجاف للعقد الجذرية من بين السلالات المستعملة تليها في ذلك السلالة المعزولة أما معاملة النتروجين 120 كجم/هكتار فلم تسجل أي قراءة للوزن الجاف لانعدام تكوين العقد الجذرية عند 30 يوماً من الزراعة (جدول 3) وهذا يوافق ماقاله

تيسريل وأخرون 1987 وديكوف، 1990 علي أن تثبيت البقوليات للنيتروجين أعلي عندما يكون نيتروجين التربه المتاح قليلاً.

أعطت معاملة الشاهد ارتفاعاً أثره معنوياً (P=0.01) في متوسط الوزن الجاف للعقد الجذرية من بين جميع المعاملات خلاف السلالة المعزولة O12R عند 45 يوماً من الزراعة بينما سجلت معاملات USDA-2674, ENRR1-2 ارتفاعاً في الوزن الجاف في هذه المرحلة (جدول 3) .

جدول (3): أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنيتروجين على متوسط الوزن الجاف للعقد الجذرية (جرام/أصيص).

المعاملات	عمر النبات (يوماً)		
	30	45	60
CONTROL	0.05	0.28	0.16
N	0.00	0.00	0.02
ENRR1-2	0.04	0.04	0.00
USDA-2674	0.02	0.04	1.02
O12R	0.05	0.14	0.01
USDA-2669	0.08	0.05	0.00
LSD	0.09	0.17	0.14

4-4- أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنيتروجين على متوسط الوزن الرطب للمجموع الخضري.

سجلت إضافة النتروجين 120 كجم / هكتار ارتفاعاً كان أثره معنوي (P=0.01) في متوسط الوزن الرطب للمجموع الخضري عند 30 يوماً من الزراعة من بين جميع المعاملات الاخري . أما من بين جميع السلالات نجد أن السلالة المستوردة USDA-2674سجلت ارتفاعاً كان أثره معنوياً (P=0.01) ولكنه ارتفاع لم يتفوق علي الشاهد في متوسط الوزن الرطب للمجموع الخضري من بين السلالات الاخري عند 30 يوماً من الزراعة . أما أقل متوسط للوزن الرطب للمجموع الخضري كان عند إضافة سلالة بكتريا الرايزوبيا USDA-2669 (جدول 4) .

سجلت السلالة المستوردة USDA-2669 عند 45 يوماً من الزراعة اعلي وزن لمتوسط المجموع الخضري بالرغم من أنها سجلت أقل وزن للمتوسط عند 30 يوماً من الزراعة وكانت الزيادة كبيرة مقارنة بالسلالات والمعاملات الأخرى . أما أقل وزن لمتوسط المجموع الخضري فقد سجلته السلالة المحلية ENRR1-2 أما السلالات المستوردة فقد أظهرت تفوقاً علي السلالات المحلية في متوسط الوزن الرطب للمجموع الخضري عند 45 يوماً من الزراعة (جدول 4) .

أعطي الشاهد ارتفاعاً أثره غير معنوي إلا علي السلالة USDA-2669 بزيادة نسبية قدرها (5-54) في متوسط الوزن الرطب للمجموع الخضري عند 60 يوماً من الزراعة من بين المعاملات المختلفة تليها السلالة المحلية O12R (جدول4) وهذا وافق ماقاله (Mohamed and Osman,1994) اللذان وجدا أن التلقيح بالسلاله تال 1400 أدي إلي زيادة الوزن الأخضر للمجموع الخضري.

جدول (4): أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنيتروجين على الوزن الرطب للمجموع الخضري(جرام/أصيص).

المعاملات	عمر النبات (يوماً)		
	30	45	60
CONTROL	6.43	3.58	2.08
N	9.05	3.20	1.75
ENRR1-2	5.23	2.50	1.35
USDA-2674	6.45	3.16	1.63
O12R	5.50	3.35	1.98
USDA-2669	2.88	6.73	0.63
LSD	1.85	3.32	1.21

4-5- أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنتروجين علي متوسط الوزن الجاف للمجموع الخضري

أعطت السلالة المستوردة USDA-2674 اعلي متوسط للوزن الجاف للمجموع الخضري كان أثره معنوي (P=0.01) مقارنة بالمعاملات الاخري تليها في زيادة الوزن الجاف الخضري معاملة النتروجين الجرعة العالية 120 كجم/هكتار أما السلالة ENRR1-2 فقد سجلت انخفاضاً ملحوظاً في الوزن الخضري من بين المعاملات (جدول5).

جدول (5): أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنيتروجين علي متوسط الوزن الجاف للمجموع الخضري جرام/أصيص.

المعاملات	عمر النبات (يوماً)		
	30	45	60
CONTROL	5.89	1.45	0.52
N	1.21	0.64	0.55
ENRR1-2	0.68	0.43	0.75
USDA-2674	1.39	0.45	0.43
O12R	1.13	0.73	0.79
USDA-2669	0.72	1.42	0.25
LSD	0.72	0.75	0.55

سجلتا معاملة الشاهد والسلالة USDA-2669 ارتفاعاً كان أثره معنوي (P=0.01) في متوسط الوزن الجاف الخضري عند 45 يوماً من الزراعة مقارنة بالزيادة التي كانت عند 30 يوماً من الزراعة (جدول 5). هناك ارتفاعاً كان أثره غير معنوي بزيادة نسبية قدرها (5-216) % في متوسط الوزن الجاف للمجموع الخضري في السلالات المحلية مقارنة بالسلالات المستوردة عند 60 يوماً من الزراعة كما وجد أن السلالات المستوردة أعطت أقل وزن جاف لمتوسط الوزن الجاف للمجموع الخضري من بين جميع المعاملات الاخري عند 60 يوماً من الزراعة. (جدول5) وهذا يوافق ماقالـهKherelseed,1995 بان

التلقيح يؤدي إلي زياده في الوزن الجاف للنبات خلال 8 أسابيع.

4-6- أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنتروجين علي متوسط الوزن الرطب للمجموع الجذري

أضافة النتروجين 120كجم/هكتار أعطت اعلي وزن لمتوسط الوزن الرطب للمجموع الجذري أثره المعنوي (P=0.01) إلا علي السلالة ENRR1-2 والسلالة المعزولة O12R من بين المعاملات المختلفة علي التوالي عند 30 يوماً من الزراعة . أما السلالات المستوردة USDA-2674 وUSDA -2669 سجلتا انخفاضاً في متوسط الوزن الرطب للمجموع الجذري مقارنة مع السلالات المحلية عند 30 يوماً من الزراعة كما وجد ايضاً أن السلالة المحلية O12R سجلت ارتفاعاً كان أثره غير معنوي بزيادة نسبية قدرها (2-5)% في متوسط الوزن الرطب للمجموع الجذري عند 45 يوماً من الزراعة (جدول 6) .

زراعة النباتات بدون إضافة لقاح و بدون إضافة سماد والتي تمثل معاملة الشاهد سجلت ارتفاعا كان أثره معنوي (P=0.01) إلا على السلالة المستوردة -USDA , 2674 ومعاملة النتروجين 120 كجم/هكتار على التوالي في متوسط الوزن الرطب للمجموع الجذري من بين جميع المعاملات عند 60 يوما من الزراعة والسلالة المستوردة USDA-2669 سجلت انخفاضاً ملحوظاً من بين جميع المعاملات عند 60 يوما من الزراعة (جدول 6).

جدول (6) :أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنتروجين علي متوسط الوزن الرطب للمجموع الجذري (جرام/أصيص).

المعاملات	عمر النبات (يوم)		
	30	45	60
CONTROL	0.53	0.31	1.43
N	4.35	0.25	0.70
ENRRI-2	3.23	0.63	0.39
USDA-2674	0.69	0.63	0.75
012R	2.45	0.79	0.33
USDA-2669	0.32	0.77	0.29
LSD	2.04	0.39	0.18

7-4- أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد بالنتروجين علي متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري

معاملة السلالة المحليةR 012 أعطت أعلى وزن كان أثره غيرمعنوي بزيادة نسبة قدرها (22-65) % لمتوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري مقارنة بالسلالات والمعاملات الأخرى عند 30 يوماً من الزراعة. بينما وجد أن هناك انخفاضاً في الوزن الجاف الجذري في السلالة المحلية ENRRI-1 (جدول 7).

تماثلت السلالة المستوردة USDA-2674 والسلالة المحلية 012R في متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري والذي كان ثاني أعلى متوسط بين جميع المعاملات الأخرى وذلك عند 45 يوما من الزراعة.

بينما وجد أن أعلى متوسط للوزن الجاف الجذري سجلته السلالة المستوردة USDA-2669 أما معاملة النتروجين فقد سجلت الجرعات العالية انخفاضاً في الوزن الجاف للمجموع الجذري عند 45 يوماً من الزراعة (جدول 7).

عند 60 يوماً من الزراعة ارتفع الوزن الجاف للمجموع الجذري عند إضافة السلالة المستوردة USDA-2669 التي سجلت ارتفاعاً كان أثره غير معنوي مقارنة بالمعاملات الأخرى تليها في ذلك السلالة المحلية 012R أما السلالة المحلية ENRRI-2 فقد أعطت انخفاضاً في جميع المراحل المختلفة لمتوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري (جدول 7).

جدول (7) : أثر التلقيح ببكتريا الرايزوبيا والتسميد النتروجين علي متوسط الوزن الجاف للمجموع الجذري (جرام/أصيص).

المعاملات	عمر النبات (يوم)		
	30	45	60
CONTROL	0.27	0.15	0.22
N	0.22	0.13	0.14
ENRRI-2	0.20	0.19	0.13
USDA-2674	0.25	0.25	0.17
012R	0.33	0.25	0.26
USDA-2669	0.23	0.31	0.27
LSD	0.29	0.15	0.18

5. المراجع

المركز القومي للبحوث (1998) التقرير العلمي السنوي لمعهد أبحاث البيئة والموارد الطبيعية للعام 1997- المركز القومي للبحوث.

تيسريل، أس- أل ونيلسون، دبليو إل (1987). خصوبة التربة والأسمدة. الطبعة الثانية. ترجمة نزار يحي وترهت أحمد ومنذر محمد وعلى المختار، جامعة كورنيل، نيويورك.

حياتي، الصديق أحمد المصطفي. (1993). الأحياء الدقيقة في التربة – دار جامعة الخرطوم للطباعة والنشر. (260) صفحة.

ديسوفا، رادكا وديكوف، ديكو (1990). ترجمة خليل إبراهيم محمد علي. مطابع التعليم العام بالموصل (432) صفحة.

مختار، نوري عثمان وبابكر، هاشم محمود (2001) تثبيت النتروجين الجوي والتسميد الحيوي- إدارة التدريب والنشر هيئة البحوث الزراعية (177) صفحة.

Abaidoo R. C., George T., Bohlool B.B and Singleton P.W (1993). Influence of elevation and applied nitrogen on rhizosphere colonization and competition for nodule occupancy by different rhizobial strains on field – grown soybean and common bean. Canadian Journal of microbiology 63:92-96.

Abdelgani M. E. (1997). Effect of Rhizobium on nitrogen fixation, yield and seed quality of fenugreek *(Trigonella foenum-gracum* L.). ph. D. (Agric.) thesis, university of Khartoum.

Baldani V.L.D. and Doberomer J. (1980). Host plant specificity in the interaction of Creal with *Azospirillum* spp. Soil Biology and Biochemistry. 12:433-440.

Cheizey U.F., Yayock J.Y. and Shebayan J.A. (1992) Response of soy bean (*Glycine max* (L) Merill) to nitrogen and phosphorus fertilizer levels. Tropical Science 32:361-368.

Chen W.X., Li G.S., Wang E.T., Yuan, H.L. and Li, J.L. (1991). *Rhizobium huakuii* sp. Nov. isolated from the root nodules of Astralagus *sinicus* International Journal Systematic bacteriology 41:275-280.

Ciat (1988). The legume-*Rhizobium* symbiosis: evaluation, selection and agronomic management. Cali, Columbia.

Desperrier N., Baccou J. and Sauvaire Y. (1985). Nitrogen fixation and nitrate assimilation in field-grown fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). Plant and Soil 92 (2): 189-199.

Floor J. (1985). Effect of soil fertility stauts, moisture and application of fertilizers and inoculum on nodulation and growth of dry beans in Kenya. In : proceedings of the first conference of the African Association for Biological nitrogen fixation, Nairobi, Kenya, 23-27 July 1984 (ed. H. Sali and S.O. Kenya). pp 253-261.

Freire J. R. (1984). Important limiting factors in soil for the Rhizobum – legume symbiosis. In: Biological nitrogen fixation ecology, technology and physiology (ed. M. Alexander) pp51-74. plenum press, New York.

Giller K.E. and Wilson, K.J. (1993). Nitrogen fixation in tropical cropping systems. C.A.B. international, Wallingford, U.K.

Hardarson G. Zapata F. and Danso S.K. (1984). Effect of plant genotype and nitrogen fertilizer on symbiotic nitrogen fixation by soybean cultivars. Plant and soil 82:397-405.

Mohamed S.S and Osman A.G. (1994). The biofertilizer use of *Rhizobium* strain TAL 380 for increasing alfalfa production in three different location in Khartoum State. Environment and Natural Research Institute. Annual Scientific Report.

Mukhtar N.O. and Babiker H. M. (1994). N2 – fixation research in Sudan: An overview. Albuhuth. 4 (1-B): 85-101.

Singh R.V. and Singh R.R (1989). Effect of nitrogen, phosphorus and seeding rate on Yied, nutrient uptake and water use of guar under dry condition. Annuals of Agricultural research 10 (3): 299-309.

Somasegaran P. and Hoben ,H.J. (1994).Hand book for Rhizobia: Methods in legume-Rhizobium Technology.Spriner-verlag-New York. 450 pp.

Swaraj K., Laura J.S., and Bishnoi N.R. (1993). Nitrate induced nodule senesence and changes in activities of enzymes scavenging H2O2 in cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* Taub). Journal of Plant Physiology 141: 202-2-5.

Tripathi M.L., Namdeo K. N., Tiwari K.P. and Kurmranshi S.M. (1994). Relative efficiency of nitrogen and rhizobium inoculation on growth and yield of Kharif pulses and oil seeds – Crop Research Hisar – 7: 328-333.