

Article type : Research Article

Date Received : 04/04/2021

Date Accepted : 28/04/2021

Date published : 01/06/2021



: www.minarjournal.com

<http://dx.doi.org/10.47832/2717-8234.2-3.14>



THE EFFECT OF RHIZOBIA AND NANOPARTICLES ON THE ANATOMICAL GROWTH OF ROOT NODULES OF TWO BEAN PLANT VARIETIES PHASEOLUS VULGARIES L

Haifaa Abaas HUSSEIN¹ & Saadoon Abdul- HADISAADOON²

Abstract

An experiment was conducted during the spring season of 2018-2019 in the experimental fields of the Faculty of Agriculture / University of Al-Qadisiyah, aiming to study the response of two varieties of the Phaseolus Vulgaris L to the bio-fertilization of RizobiumPhaseolisp with two elements (iron and molybdenum) and their interactions on growth and formation root nodules of plant , as well as some of the anatomical features of theit.

The experiment was designed in a Completely Randomized Design (CRD) with three replications in a regulation of three factors (2 × 4 × 2) including bio-fertilizer (inoculated and non-inoculated), nanoscale elements (80 iron, 10 molybdenum, 80 iron + 10 molybdenum). mg. L⁻¹ and (Pole and Bush) varieties. Differences between means were determined by using Duncan's Multiple Range Test at 0.01 level of confidence. The seeds were treated with bio-fertilizer before planting, the addition of nanoscale elements was carried out after a month of cultivation through soil application method. Measurements were taken at the end of the growing season, that is, at the harvest stage. The result showed that inoculation with rhizobia and nanoparticles had asignificant effect in increasing the number of root nodules and the activity of nitrogenase enzyme, Regarding the anatomical characteristics of the root nodules ,the use of bio-fertilizer and the addition of nano-elements led to asignificant increase in the size of the root nodules (diameter of it),while it negatively affected the thickness of the epidermal and cortical layers.

Keywords: Rhizobia, Root Nodules, Phaseolus vulgaries.

¹ Al-Qadisiyah University, Iraq, haifaa.abaas@qu.edu.iq, <https://orcid.org/0000-0003-0101-9574>

² Kufa University, Iraq, Saadoon.alajeel@uokufa.edu.iq, <https://orcid.org/0000-0001-9017-2620>

تأثير بكتريا الرايزوبيا والعناصر النانوية في نمو وتكوين العقد الجذرية تشريحيًا لصنفين من نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris L*

هيفاء عباس حسين³
سعدون عبد الهادي سعدون⁴

الملخص

أجريت تجربة اصص أثناء الموسم الربيعي 2019 لشهر الشباطي الحقول التجريبية لكلية الزراعة/ جامعة القادسية. بهدف دراسة استجابة صنفين من نبات (الفاصوليا) *Phaseolus vulgaris L* الطويل والقصير للتلقيح البكتيري ببكتريا الرايزوبيا *Rhizobium Phaseolisp* مع إضافة عنصري (الحديد والموليبدنيوم) النانويين وتداخلاتها في نمو وتكوين العقد الجذرية وبعض الصفات التشريحية لها. صممت التجربة بتصميم تام التعشية *Completely Randomized Design* (CRD) بثلاث مكررات في تنظيم عاملي لثلاثة عوامل (2×4×2) تشمل تلقيح بكتيري (ملقح وغير ملقح)، عناصر نانوية (0، 80 حديد، 10 موليبدنيوم، 80 حديد +10 موليبدنيوم) ملغم. لتر⁻¹ والأصناف (طويل وقصير).

قورنت المتوسطات بحسب اختبار دنكن متعدد الحدود *Duncan,s Multiple Range Test* عند مستوى احتمال 0.01% وتمت معاملة البذور ببكتريا الرايزوبيا قبل الزراعة ونفذت معاملة إضافة العناصر النانوية بعد شهر من الزراعة وبطريقة الإضافة الأرضية. أخذت القياسات نهاية الموسم الزراعي أي في مرحلة الحصاد، وأظهرت النتائج أن التلقيح البكتيري ببكتريا الرايزوبيا والعناصر النانوية تأثيراً معنوياً في زيادة أعداد العقد الجذرية وفي فعالية أنزيم النيتروجينيز بالخاص المعاملة المكونه من خليط العناصر النانوية مع بكتريا الرايزوبيا وللصنفين إذ بلغت أعداد العقد الجذرية 24.66 و 20.66 عقدة. نبات-1 وللصنفين القصير والطويل بالتتابع مقارنة بمعاملة السيطرة. كما بينت نتائج الصفات التشريحية للعقدة الجذرية الناتجة عن استعمال التلقيح البكتيري وإضافة العناصر النانوية زيادة معنوية في حجم العقدة الجذرية إذ بلغ أعلى معدل 1.40 ملم، بينما أثرا سلباً في صفتي سمك طبقتي البشرة والقشرة. وهذا يعتبر مؤشراً إيجابياً لعملية التثبيت النيتروجيني لنبات الفاصوليا وبذلك يفتح المجال أمام استخدام تقنيتين مهمتين وصدقتين للبيئة وهي تقنيتي المخصبات الحيوية وتقنية النانو في زيادة انتاجية النباتات بدلا من المواد الكيميائية الضارة للبيئة.

الكلمات المفتاحية: بكتريا الرايزوبيا، العقد الجذرية، الفاصوليا.

المقدمة:

يعتبر نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* من النباتات التي تعود إلى العائلة البقولية *Leguminosae* وهي أكثر الأنواع البقولية شيوعاً للاستهلاك البشري وذلك لزيادة احتوائها على الكربوهيدرات والبروتينات والألياف والفيتامينات والمعادن والدهون والسعرات الحرارية لذلك تعتبر غذاء جيد وصحي وتعود على الجسم بالكثير من الفوائد فهي تخفض من مستوى الكوليسترول، تحسين وظائف الجهاز الهضمي وتقوي جهاز المناعة (2010, Mustafa).

لم تنتشر زراعتها في العراق على الرغم من الفوائد الكثيرة وزيادة الاستهلاك لها، لأسباب تتعلق بالتربة العراقية وكذلك للنبات نفسه حيث يكون حساس للرطوبة الأرضية و PH التربة، والملوحة، كما ويعود السبب إلى أن بذور الفاصوليا لا تنبت في درجة حرارة أقل من 15م أو تزيد عن 35م (2006, Al-Syed) لقد أتجه العالم اليوم إلى التقليل من استعمال الأسمدة الكيميائية لما لها من آثار سلبية على البيئة، حيث اتجه لاستخدام الأحياء الدقيقة كأسمدة حيوية منها ما يثبت النيتروجين والبعض منها يعمل على إذابة العناصر المهمة

³ جامعة القادسية ، العراق، haifaa.abaas@qu.edu.iq

⁴ جامعة الكوفة ، العراق، Saadoon.alajeel@uokufa.edu.iq

الضرورية للنبات (Hanapi واخرون، 2013). ومن الأحياء المجهرية التي تعمل على تثبيت النيتروجين الجوي هي بكتريا العقد الجذرية Rhizobium sp كما تعتبر هذه البكتريا من الأحياء التي تستخدم كسماد حيوي حيث تقوم بتثبيت النيتروجين الجوي وتمد النبات بعنصر النيتروجين بالمقابل تحصل على احتياجاتها من الكربون العضوي من النباتات بطريقة تعايشية symbiosis حيث تتميز بتخصصها على عائل أو مضيف بقولي معين بالإضافة إلى النوع المتخصص على الفاصوليا (Taha، 2007). كما تكمن الأهمية البالغة لعملية التثبيت الحيوي للنيتروجين الذي يعتبر عنصر غذائي أساسي للنبات لما له دور في تكوين المركبات العضوية المهمة للخلية النباتية (Akunda، 2002). اتجهت الدراسات الحديثة الأخرى لاستخدام العناصر النانوية من خلال تصنيع مواد نانوية تكون احجام دقائقها تتراوح ما بين (1-100) نانومتر (Lal وLiu، 2015) حيث استهدفت استخدامها في مجالات مختلفة من ضمنها مجال الزراعة وخاصة لوقاية النبات وتحسين نمو وانبات بذور النبات (Kraeova و Jampilek، 2015). ومن العناصر النانوية المستخدمة عنصر الموليبدينم والحديد إذ يلعب دور مهم في عملية تثبيت النيتروجين حيث يدخل في تركيب أنزيم Nitrogenase (Singh واخرون، 2010). تختلف الأصناف النباتية العائدة لنبات الفاصوليا من حيث النمو فالنباتات القصيرة تنمو بطول قدمين تقريباً ودون الحاجة إلى دعم، تنضج تلك الأنواع وتنتج جميع قرونها أو بذورها في فترة قصيرة نسبياً ثم تتوقف عن الإنتاج كما تعطي إنتاجاً وفيراً بالمقارنة بالمساحة التي تشغلها، اما النباتات أو الأصناف المتسلقة فتحتاج إلى دعم واسناد وتكون فترة حياتها أطول حتى تبدأ بالإنتاج (Mc Gee، 2002). لذلك هدفت الدراسة إلى:

- 1- استخدام بكتريا الرايزوبيا المتخصصة على نبات الفاصوليا والمثبتة للنيتروجين كسماد حيوي بدل من الأسمدة الكيميائية.
- 2- استخدام عنصري الحديد والموليبدينم النانويين ولاهميتهما التغذوية للنبات وقلة الحديد في الترب القاعدية والتي تكون ترب العراق من ضمنها.

Materials and Methods

المواد وطرق العمل

نفذت التجربة في اصص سعة الاصيص الواحد 12 كغم. تربة، ملئت الاصص بتربة مزيجية معقمة بطريقة (البسترة الشمسية) وهي الطريقة المتبعة في تعقيم ترب الزراعة المحمية ولم يستخدم أي مبيد كيميائي في تعقيم التربة. أخذت عينات من ماء السقي وعينات من تربة التجربة قبل الزراعة لغرض اجراء بعض التحاليل الفيزيائية والكيميائية للتربة (Naseem واخرون، 2019) وكما موضح في الجدول رقم (1)

جدول رقم (1) يمثل بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الزراعة

pH	E.C. ds.m-1	Organic matter %	N mg.kg-1	P mg.kg-1	K mm ch.L-1	Clay	Silt	Sand	Soil texture
						g.Kg-1			
.78	2.4	.110	37.2	2.13	20.3	79.76	72.84	87.4	Mixed

تم الحصول على اللقاح البكتيري Rhizobium phaseoli بكثافة احيائية قدرها 2.1×10^7 CFU/غم لقاح (معدة مكونة للمستعمرة Forming Unit Colony) والمحضر حسب طريقة (Beck واخرون، 1993) من دائرة البحوث الزراعية/ الزعفرانية/ وزارة العلوم والتكنولوجيا، اعتمدت طريقة تحميل اللقاح البكتيري على الحامل (بتموس) التي اعتمدت من قبل (Mehboob، 2010) مع التحوير زرعت البذور الملقحة مباشرة وتركت عدد من البذور بدون تلقح (معاملة سيطرة). تمت الزراعة في 2019/2/19، إذ زرعت البذور في الاصص بواقع 3-5 بذرة في الاصيص الواحد وبعد الإنبات خفت النباتات إلى نبات واحد وتم إجراء العمليات الزراعية من ري وإزالة الأعشاب يدوياً كلما دعت الحاجة لذلك.

تمت إضافة التراكيز النانوية (80 حديد، 10 موليبدينوم و(80 حديد+10 موليبدينوم)) ملغم. لتر-1 و بطريقة الإضافة الأرضية بعد شهر من الزراعة حسب التوصيات السمادية الواردة في النشرة الإرشادية أخذين بنظر الاعتبار وزن الاصيص، مع ترك معاملة المقارنة بدون إضافة.

الصفات المدروسة

صفات العقد الجذرية والمتمثلة بـ

- 1- عدد العقد الجذرية: تم حساب عدد العقد الجذرية لكل نبات (Beck واخرون، 1993).
 - 2- قياس فعالية أنزيم Nitrogenase في العقد الجذرية
- تم قياس فعالية الأنزيم باستخدام الطريقة الموصوفة من قبل Weaver و Frederick، 1982 باستخدام جهاز Gas chromatography.

الصفات التشريحية للعقدة الجذرية لنبات الفاصوليا

تحضير المقاطع التشريحية

أخذت المقاطع التشريحية للعينات (العقدة الجذرية) عند مرحلة الحصاد بعد فصلها من جذر النبات قطعت النماذج بواسطة جهاز Rotary Microtome حسب طريقة العطار وآخرون، 1982 مع التحويل. أخذت القياسات المايكرومترية للشرائح بواسطة عدسة القياس العينية ocular micrometer لمجهر ضوئي نوع Olympus مجهز بكامرة مبربوطة على الحاسبة ودرست الصفات الآتية: سمك البشرة، سمك القشرة وحجم العقدة (قطرها).

النتائج والمناقشة

1 - عدد العقد الجذرية للنبات (عقدة.نبات-1)

يبين جدول (2) اختلاف أعداد العقد الجذرية باختلاف المعاملات. إذ تفوقت معاملة السماد الحيوي معنوياً في متوسط عدد العقد الجذرية لنبات الفاصوليا على معاملة عدم استعمال السماد الحيوي، أثرت معنوياً إضافة العناصر النانوية في معدل عدد العقد الجذرية للنبات، أعلى متوسط لعدد العقد الجذرية تم الحصول عليه بإضافة خليط العناصر النانوية (حديد+موليبدينوم) بلغ 17.16 عقدة.نبات، سجلت معاملة السيطرة (عدم استعمال العناصر) أقل متوسط لعدد العقد الجذرية. كان للصفين تأثير معنوي في متوسط عدد العقد الجذرية إذ تفوق الصفين القصير بمتوسط عدد العقد الجذرية للنبات بلغ 14.66 عقدة.نبات. اختلفت المعاملات بالمعنوية في التداخل الثنائي بين التلقيح البكتيري وعناصر النانو إذ لم تختلف معاملات إضافة السماد الحيوي مع عناصر النانو معنوياً فيما بينها وقد سجلت أعلى متوسط لعدد العقد الجذرية، إذ أعطت معاملة خليط العناصر (حديد+موليبدينوم) مع التلقيح البكتيري متوسط عدد العقد 22.66 عقدة.نبات. كان للتداخل الثنائي بين التلقيح البكتيري والصفين تأثير معنوي في هذه الصفة، إذ سجل الصفين القصير مع استعمال السماد (ملقح) أعلى متوسط لعدد العقد الجذرية بلغ 20.24 عقدة.نبات، في حين أعطى الصفين الطويل مع استعمال السماد (ملقح) متوسط لعدد العقد بلغ 17.82 عقدة.نبات. اختلفت معاملات التداخل الثنائي بين العناصر والأصناف في المعنوية، كما لوحظ من نتائج التداخل زيادة في متوسط عدد العقد للنباتات، إذ بلغ أعلى متوسط عند معاملة خليط عناصر النانو مع الصفين (القصير والطويل)، على التوالي 18.50، 15.83 عقدة.نبات في حين سجل أقل متوسط عند معاملة السيطرة (دون استعمال عناصر) وللصفين القصير والطويل على التوالي 8.83، 6.99 عقدة.نبات.

أوضح التداخل الثلاثي المعنوي للسماد الحيوي وعناصر النانو والأصناف تأثيراً معنوياً في متوسط عدد العقد الجذرية لنبات الفاصوليا. استخدام السماد مع خليط العناصر (حديد+موليبدينوم) أدى إلى زيادة ملحوظة في متوسط عدد العقد وللصفين القصير والطويل إذ سجلا 24.66، 20.66 عقدة.نبات وهي أعلى من معاملات المقارنة التابعة لهما (عدم استعمال السماد+عدم استعمال عناصر) وللصفين 4.33، 3.33 عقدة.نبات جدول (2): تأثير التسميد الحيوي والعناصر النانوية والأصناف وتداخلاتها في صفة عدد العقد الجذرية (عقدة.نبات-1) لنبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris*

التداخلات الثنائية بين التسميد الحيوي والعناصر	الأصناف		العناصر النانوية	التسميد الحيوي
	القصير	الطويل		
3.83 d	4.33 hi	3.33 l	0	غير ملقح
10.16 bc	11.66 de	8.66 efg	Fe	
7.76 c	8.00 fg	7.33 gh	Mo	
11.67 b	12.33 d	11.00 edf	Fe+Mo	
11.99 b	13.33 d	10.66 defg	0	ملقح
21.33 a	21.00 bc	21.66 abc	Fe	
20.16 a	22.00 ab	18.33 c	Mo	
22.66 a	24.66 a	20.66 bc	Fe+Mo	
	14.66 a	12.70 b	متوسط الأصناف	
التداخلات الثنائية بين التسميد الحيوي والأصناف				

متوسط التسميد الحيوي	الأصناف		التسميد الحيوي
	القصير	الطويل	
8.33 b	9.08 b	7.58 b	غير ملقح
19.03 a	20.24 a	17.82 a	ملقح
التداخلات الثنائية بين العناصر والأصناف			
متوسط العناصر	الأصناف		العناصر
	القصير	الطويل	
7.91 c	8.83 bc	6.99 c	0
15.74 b	16.33 ab	15.16 abc	Fe
13.91 b	15.00 ab	12.82 abc	Mo
17.16 a	18.50a	15.83 ab	Fe+Mo

المتوسطات التي تحمل نفس الحرف ضمن كل معاملة لا تختلف عن بعضهما معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وعند مستوى احتمال ($P < 0.01$)

2- قياس فعالية أنزيم النتروجينيز

يوضح جدول (3) فعالية أنزيم النتروجينيز معبرًا عنها بكمية الاثلين المنتج من اختزال الاستيلين. اختلفت المعاملات المستخدمة في الدراسة في تأثيرها على فعالية أنزيم النتروجينيز في العقد الجذرية لنبات الفاصوليا. انلاستعمال السماد الحيوي تأثير معنوي في فعالية الأنزيم إذ كان معدل الاثلين المنتج 69.72 جزء بالمليون/نبات/ساعة مقارنة مع عدم استعمال السماد الحيوي إذ بلغت كمية الاثلين المنتجة 39.62 جزء بالمليون/نبات/ساعة وبنسبة زيادة قدرها 75.9%. وظهرت النتائج ان لإضافة الحديد النانوي أو الموليبدينوم النانوي أو اضافتهما معا (خليط) تأثير معنوي في زيادة كمية الاثلين المنتجة. الا ان أعلى كمية من الاثلين تم الحصول عليها من معاملة أو إضافة العنصرين معا 77.53 جزء بالمليون مقارنة بعدم استعمال العناصر (السيطرة) إذ اعطت كمية للاثلين منخفضة جدا 24.31 جزء بالمليون.

جدول (3): تأثير السماد الحيوي والعناصر النانوية والأصناف وتداخلاتها في صفة قياس فعالية أنزيم النتروجينيز في العقد الجذرية لنبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris*.

التداخلات الثنائية بين التسميد الحيوي والعناصر	الأصناف		العناصر النانوية	التسميد الحيوي
	القصير	الطويل		
22.64 e	26.73i	18.56 j	0	غير ملقح
46.73 d	50.96 f	42.50 gh	Fe	
32.25 e	45.13 g	19.36 j	Mo	
56.86 d	74.80 d	39.93 h	Fe+Mo	
25.98 e	24.26 i	27.70 i	0	ملقح
85.58 b	90.80 b	80.36 c	Fe	
69.13 c	78.23 c	60.03 e	Mo	
98.19 a	99.03 a	97.36 a	Fe+Mo	
	61.12a	48.22 b		متوسط الأصناف
التداخلات الثنائية بين التسميد الحيوي والأصناف				
متوسط التسميد الحيوي	الأصناف		التسميد الحيوي	
	القصير	الطويل		
39.62 b	49.15 bc	30.08c		غير ملقح
69.72 a	73.08 a	66.36 ab		ملقح
التداخلات الثنائية بين العناصر والأصناف				

متوسط العناصر	الأصناف		العناصر
	القصير	الطويل	
24.31 d	25.49 c	23.13 c	0
66.15 b	70.88 a	61.43 ab	Fe
50.68 c	61.68 ab	39.69 bc	Mo
77.53 a	86.91a	68.64 a	Fe+Mo

المتوسطات التي تحمل نفس الحرف ضمن كل معاملة لا تختلف عن بعضهما معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ($P < 0.01$) كان للصنف تأثير معنوي في نشاط الأنيون من خلال كمية الاثلين المنتجة إذ تفوق الصنف القصير باعطاء أكبر كمية من الاثلين كان مقدارها 61.12 جزء بالمليون أظهر التحليل الاحصائي للتداخل الثنائي بين التسميد الحيوي والعناصر تأثير معنوي إذ أن إضافة الحديد أو الموليبدنيوم والنانونين أو الأثنين مع التلقيح البكتيري تأثير واضح في زيادة كمية الاثلين المنتج، إذ أدت إضافة الحديد والموليبدنيوم معاً (خليط) مع التلقيح إلى زيادة كمية الاثلين المنتج 98.19 جزء بالمليون/نبات/ساعة وهي أكبر كمية تم الحصول عليها في هذا التداخل بالمقارنة مع معاملة السيطرة الذي سجلت 22.64 جزء بالمليون في كمية الاثلين المنتج التداخل الثنائي بين التسميد والأصناف كذلك كان له تأثير معنوي في هذه الصفة إذ سجل الصنف القصير مع السماد الحيوي كمية من الاثلين المنتج 73.08 جزء بالمليون/نبات/ساعة في حين سجل الطويل مع السماد الحيوي 66.36 جزء بالمليون بالمقارنة مع معاملي السيطرة (عدم التسميد) التابعة لهما وعلى التوالي 49.15، 30.08 جزء بالمليون/نبات/ساعة التداخل الثنائي بين العناصر والأصناف كان له تأثير معنوي في فعالية أنزيم النيتروجيناز إذ أدت معاملة إضافة خليط العناصر (حديد+موليبدنيوم) وللصنفين (القصير، الطويل) إلى زيادة في كمية الاثلين المنتجة 86.91، 68.64 جزء بالمليون/نبات/ساعة تلتها في زيادة كمية الاثلين معاملة إضافة الحديد لوحده للصنفين (القصير، الطويل) وبالتتابع 70.88، 61.43 جزء بالمليون/نبات/ساعة مقارنة بمعاملة السيطرة (عدم استعمال عناصر) وللصنفين إذ سجلت بالتتابع 25.49، 23.13 جزء بالمليون/نبات/ساعة

بعض الصفات التشريحية للعقدة الجذرية للنبات

1: قياس حجم العقدة الجذرية للنبات (قطرها) (ملم)

يوضح جدول (4) تأثير عوامل الدراسة على معدل حجم العقدة الجذرية لنبات الفاصوليا. لم يكن للتسميد الحيوي تأثير معنوي على معدل حجم العقدة الجذرية. أثر استعمال العناصر النانوية في زيادة حجم العقدة إذ بلغ أعلى معدل للحجم العقدة الجذرية عند استعمال خليط العناصر بلغ 1.33 ملم وباختلاف معنوي مع معاملة السيطرة عدم استعمال العناصر التي أعطت أقل معدل لحجم العقدة بلغ 1.14 ملم. لم يكن للأصناف تأثير معنوي في هذه الصفة.

التداخل الثنائي بين التسميد والعناصر أدى إلى زيادة معنوية في معدل حجم العقدة الجذرية إذ بلغ أعلى معدل لحجم العقدة عند معاملة السماد مع خليط العناصر 1.38 ملم، بينما سجل أقل معدل لحجم العقدة عند معاملة السيطرة (عدم استعمال سماد وعدم استعمال عناصر) بلغ 1.12 ملم. لم يكن للتداخل الثنائي بين التسميد والأصناف تأثير معنوي على صفة حجم العقدة الجذرية. التداخل الثنائي بين العناصر والأصناف أدى زيادة معنوية في معدل حجم العقدة إذ سجل الصنف القصير والطويل مع خليط العناصر أعلى معدل لحجم العقدة بلغ 1.34 و 1.33 ملم لكل منهما على التوالي، في حين سجلت معاملة السيطرة عدم استعمال عناصر التابعة للصنفين القصير والطويل بلغ 1.15 و 1.13 ملم على التوالي ضمن هذا التداخل. أدى التداخل الثلاثي بين السماد والعناصر والأصناف إلى وجود اختلافات معنوية في معدل حجم العقدة الجذرية للنبات، إذ سجل أعلى معدل لها عند معاملة السماد مع خليط العناصر وللصنفين الطويل 1.40 ملم والقصير 1.36 ملم وباختلاف معنوي مع معاملة السيطرة (عدم استعمال سماد وعدم استعمال عناصر) التابعة للصنفين الطويل والقصير التي أعطت أقل معدل لحجم العقدة ضمن التداخل بلغ 1.13 و 1.10 ملم على التوالي

جدول (4) تأثير التسميد الحيوي والعناصر النانوية والأصناف وتداخلاتها في صفة حجم العقدة الجذرية أو قطرها (ملم)

التداخلات الثنائية بين التسميد الحيوي والعناصر	الأصناف		العناصر النانوية	التسميد الحيوي
	القصير	الطويل		
1.12 a	1.10 abc	1.13 bc	0	غير ملقح
1.23 b	1.23 abc	1.23 abc	Fe	
1.24 b	1.23 abc	1.26 abc	Mo	
1.29 ab	1.33 abc	1.26 abc	Mo+Fe	
1.17 ab	1.20 c	1.14 bc	0	ملقح
1.21 b	1.23 abc	1.20 abc	Fe	
1.26 ab	1.33 abc	1.20 abc	Mo	
1.38 ab	1.36 ab	1.40 a	Mo+Fe	
	1.25a	1.23a	متوسط الأصناف	
التداخلات الثنائية بين التسميد والأصناف				
متوسط التسميد الحيوي	الأصناف			التسميد الحيوي
	القصير	الطويل		
1.22a	1.22a	1.22a		غير ملقح
1.25a	1.28a	1.23a		ملقح
التداخلات الثنائية بين العناصر والأصناف				
متوسط العناصر	الأصناف			العناصر
	القصير	الطويل		
1.14 a	1.15 a	1.13a		0
1.22 b	1.23ab	1.21 b		Fe
1.25 b	1.28 b	1.23ab		Mo
1.33 b	1.34 ab	1.33ab		Mo+Fe

المتوسطات التي تحمل نفس الحرف ضمن كل معاملة لا تختلف عن بعضها معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ($P < 0.01$)

2 : سمك طبقة البشرة (مايكروميتر)

يوضح جدول (5) تأثير السماد والعناصر والأصناف وتداخلاتها في متوسط سمك طبقة البشرة للعقدة الجذرية لنبات الفاصوليا. لم يكن للتسميد الحيوي تأثير معنوي على متوسط سمك البشرة للعقدة الجذرية. أدى استعمال العناصر النانوية إلى وجود فروق معنوية في متوسط سمك البشرة، إذ إن استعمال العناصر قلل من سمك طبقة البشرة للعقدة، سجل أقل متوسط سمك للبشرة عند استعمال خليط العناصر إذ بلغ 1.32 مايكروميتر وباختلاف معنوي مع معاملة السيطرة عدم استعمال العناصر التي أعطت أعلى متوسط لسمك طبقة البشرة بلغ 2.03 مايكروميتر. ومن الجدول نفسه يلاحظ أن تأثير المعنوي للأصناف على هذه الصفة إذ بلغ متوسط سمك البشرة للنبات القصير 1.08 مايروميتر بينما سجل الصنف الطويل أقل متوسط لسمك البشرة بلغ 1.61 مايكروميتر. أظهر التداخل الثنائي المعنوي بين السماد الحيوي والعناصر أن استعمال السماد مع العناصر أدى إلى تقليل من سمك طبقة البشرة للعقدة الجذرية للنبات إذ سجلت معاملة سماد مع خليط العناصر أقل متوسط لسمك البشرة بلغ 1.26 مايكروميتر وباختلاف معنوي مع معاملة السيطرة عدم استعمال سماد وعدم استعمال العناصر التي أعطت أعلى متوسط لسمك البشرة بلغ 2.18 مايكروميتر. وأن التداخل الثنائي بين التسميد والأصناف لم يكن له تأثير معنوي على هذه الصفة.

جدول (5) تأثير التسميد الحيوي والعناصر النانوية والأصناف وتداخلاتها في صفة سمك طبقة البشرة للعقدة الجذرية (مايكروميتر)

التداخلات الثنائية بين التسميد والعناصر	الأصناف		العناصر النانوية	التسميد الحيوي
	القصير	الطويل		
2.18 a	2.38 a	1.98 ab	0	غير ملقح
1.82 ab	1.96 ab	1.68 dc	Fe	
1.75 b	1.97 ab	1.53 bcd	Mo	
1.39 c	1.25 cb	1.53 bcd	Mo+Fe	
1.88 ab	1.75 bc	2.02ab	0	ملقح
1.80 b	1.91 ab	1.70 bc	Fe	
1.51 b	1.70 bc	1.31 cd	Mo	
1.26 b	1.48 bcd	1.03 d	Mo+Fe	
	1.80 a	1.61 b	متوسط الأصناف	
التداخلات الثنائية بين التسميد والأصناف				
متوسط التسميد	الأصناف			التسميد الحيوي
	القصي	الطويل		
1.78a	1.89 a	1.68 a		غير ملقح
1.64a	1.77 a	1.52 a		ملقح
التداخلات الثنائية بين العناصر والأصناف				
متوسط العناصر	الأصناف			العناصر
	القصير	الطويل		
2.03 a	2.07 a	2.00 a		0
1.81 b	1.94 ab	1.69 bc		Fe
1.63 b	1.83abc	1.42 abc		Mo
1.32 c	1.37 c	1.28 c		Mo+Fe

المتوسطات التي تحمل نفس الحرف ضمن المعاملة لا تختلف عن بعضها معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ($P < 0.01$)

التداخل الثنائي بين العناصر والأصناف كان له تأثير معنوي، إذ إن استعمال العناصر مع الأصناف قلل من سمك البشرة، حيث سجل أقل متوسط لسمك البشرة للعقدة عند معاملة خليط العناصر مع الصنفين الطويل والقصير بلغ لكل منهما على التوالي 1.28 و 1.37 مايكروميتر، في حين حصل على أعلى متوسط لسمك طبقة البشرة عند معاملة السيطرة عدم استعمال العناصر وللصنفين الطويل والقصير بلغ 2.00 و 2.07 مايكروميتر. اختلفت معاملات التداخل الثلاثي بين عوامل الدراسة بالمعنوية إذ استعمال السماد مع العناصر والأصناف قلل من سمك البشرة للعقدة الجذرية، إذ سجل أقل متوسط لسمك البشرة عند معاملة السماد مع خليط للعناصر وللصنفين الطويل والقصير بلغ لكل منهما على التوالي 1.03 و 1.48 مايكروميتر في حين أعطت معاملة السيطرة عدم استعمال سماد وعدم استعمال عناصر وللصنف القصير أعلى متوسط لسمك طبقة البشرة للعقدة بلغ 2.38 مايكروميتر.

3 : سمك طبقة القشرة للعقدة الجذرية (مايكروميتر)

من النتائج الواردة في جدول (6) تبين أن استعمال التسميد الحيوي أدى إلى تأثير معنوي في متوسط سمك القشرة، إذ إن استعمال السماد قلل من سمك القشرة للعقدة الجذرية مقارنة بمعاملة السيطرة عدم استعمال السماد التي أعطت أعلى متوسط لسمك القشرة إذ بلغ لكل من المعاملتين على التوالي 1.90 و 2.26 مايكروميتر. كما أن استعمال عناصر النانو قلل أيضًا من سمك طبقة القشرة للعقدة الجذرية لنبات الفاصوليا وبشكل معنوي إذ سجل أقل

متوسط لسماك القشرة عند استعمال خليط عناصر النانو بلغ 1.72 مايكروميتر في حين سجلت معاملة السيطرة عدم استعمال العناصر أعلى متوسط لسماك القشرة بلغ 2.65 مايكروميتر. الأصناف كان لها تأثير معنوي على الصفة المدروسة إذ سجل الصنف الطويل أقل متوسط لسماك البشرة بلغ 2.02 مايكروميتر، في حين سجل الصنف القصير أعلى متوسط بلغ 2.13 مايكروميتر.

جدول (6) تأثير التسميد الحيوي والعناصر النانوية والأصناف وتداخلاتها في سمك طبقة القشرة للعقدة الجذرية (مايكروميتر)

التسميد الحيوي	العناصر النانوية	الأصناف	
		القصير	الطويل
غير ملقح	0	3.07 a	2.87 ab
	Fe	2.49 bc	1.93 def
	Mo	2.05 de	1.91 def
	Mo+Fe	1.94 def	1.81 def
ملقح	0	2.34 b	2.20 cd
	Fe	1.91 cd	1.93 def
	Mo	1.78 de	1.76 def
	Mo+Fe	1.55 e	1.61 ef
متوسط الأصناف		2.13a	2.02b
التداخلات الثنائية بين التسميد والأصناف			
متوسط التسميد الحيوي	الأصناف		التسميد الحيوي
	القصير	الطويل	
غير ملقح	2.26a	2.39 a	2.13 ab
	1.90b	1.87 b	1.92 b
التداخلات الثنائية بين العناصر والأصناف			
متوسط العناصر	الأصناف		العناصر
	القصير	الطويل	
0	2.65 a	2.64 a	2.67 a
	2.05 b	2.20 b	1.91 bc
	1.88 bc	1.91 bc	1.86 bc
	1.72 c	1.77c	1.66 c

المتوسطات التي تحمل نفس الحرف ضمن كل معاملة لا تختلف عن بعضها معنويًا حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال ($P < 0.01$)

التداخل الثنائي بين التسميد والعناصر كان له تأثير معنوي في صفة سمك القشرة للعقدة الجذرية إذ سجل أقل متوسط لسماك القشرة عند معاملة السماد مع خليط العناصر بلغ 1.55 مايكروميتر وسجلت معاملة السيطرة عدم استعمال سماد وعدم استعمال عناصر أعلى متوسط لسماك القشرة بلغ 2.97 مايكروميتر. التسميد والأصناف كان لهم تأثير معنوي على سمك القشرة للعقدة، سجل أقل متوسط لسماك القشرة عند معاملة السماد وللصنفين الطويل والقصير بلغ 1.92 و1.87 مايكروميتر على التوالي بينما سجلت معاملة السيطرة عدم استعمال سماد وللصنفين الطويل والقصير أعلى متوسط لسماك القشرة للعقدة الجذرية بلغ 2.13 و2.39 مايكروميتر. التداخل الثنائي بين العناصر والأصناف اثر معنويًا على متوسط سمك القشرة للعقدة الجذرية إذ حصل على أقل متوسط عند معاملة خليط العناصر وللصنفين الطويل والقصير بلغ 1.66 و1.77 مايكروميتر على التتابع، في حين حصل على أعلى متوسط لسماك القشرة ضمن التداخل عند معاملة السيطرة عدم استعمال عناصر وللصنفين الطويل والقصير بلغ 2.64 و2.67 مايكروميتر على التتابع.

التداخل الثلاثي اثر بشكل معنوي إذ ادت عوامل التجربة إلى تقليل من سمك طبقة القشرة للعقدة الجذرية، إذ أعطت معاملة السماد مع خليط العناصر وللصنفين الطويل والقصير أقل متوسط لسمك القشرة البالغ 1.50 و 1.61 مايكرومتر على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة عدم استعمال سماد وعدم استعمال عناصر وللصنفين الطويل والقصير باعطاء أعلى متوسط لسمك القشرة البالغ 2.87 و 3.07 مايكرومتر على التوالي وباختلاف معنوي. ان استعمال التلقيح البكتيري قد اثر معنويا في زيادة أعداد العقد الجذرية والوزن الجاف للعقدة الجذرية وقد يعود السبب إلى زيادة أعداد بكتريا الرايزوبيا في التربة وقدرتها على احداث الاصابة للنبات العائل واختراق الجذور وبالتالي تكوين العقد الجذرية ومن ثم زيادة الوزن الجاف للعقدة (سعد وجبار، 2014) هذا ما أكدته Hussain وآخرون، (2014) على نبات الماش. كما ان لحاجة النبات لعنصر الموليبدنيوم خاصة البقولية منها لدخوله في العديد من العمليات الحيوية لذا فان إضافة الموليبدنيوم ستساعد على نمو افضل للنبات وبالاخص النباتات الملقحة ببكتريا العقدية وبالتالي ينعكس على زيادة حاصل النبات. يتفق مع ماتوصل اليه (Jat و Rathore، 1994) على نبات الماش. وقد يعزى اثر الموليبدنيوم في تنشيط أنزيم النيتروجيناز من خلال تحرير الالكترن من دورة كربس وانتقاله بواسطة Ferredoxin إلى أنزيم Nitrogenase لزيادة قابليته الاختزالية حيث الأنزيم مكون من جزئين الاول بروتين يحوي حديد ويسمى Fe-protein complex وجزء اخر يحوي على الحديد والموليبدنيوم يسمى Fe:Mo protein complex فللكترولونات تنساب داخل الجزء البروتيني الاول ثم إلى الجزء الثاني مما يؤدي إلى رفع من الطاقة الاختزالية لهذا الأنزيم او من خلال تحويل الموليبدنيوم من الصورة المختزلة إلى الصورة المتأكسدة وبالعكس نتيجة لفقدته واكتسابه للالكترولونات.

أما فيما يخص الصفات التشريحية للعقد الجذرية لنبات الفاصوليا فقد تعود زيادة حجم العقد الجذرية (قطرها) بوجود السماد الحيوي وهذا يتفق مع عبدواخرون، 2009 إلى زيادة كثافة الرايزوبيا النشطة إذ تساعد على تحقيق الاصابة لجذور النبات مبكرا (Doyle و Luckowa، 2003)، كما اوعز AL-Kinany، 2017 زيادة قطر العقدة الجذرية إلى ان الجذور تمد وتزود البكتريا بالافرازات المهمة مثل السكريات والأنزيمات مما يؤدي إلى زيادة حجم العقدة الجذرية أو يعزى إلى نشاط الانقسام الخيطي في الخلايا الانشائية المصابة مع توزيع الخلايا البكتيرية عن طريق عملية انقسام الخلايا المضيفة مما يؤدي إلى حدوث منطقة بكتيرية كبيرة مع الخلايا المصابة وهذا يؤدي إلى ضغط المنطقة المركزية للعقدة على طبقتي القشرة والبشرة مؤدية إلى تراص الخلايا لهذه المناطق بالتالي قلة في سمك منطقتي القشرة والبشرة، من جهة أخرى أعزى الباحث Luqueno وآخرون، 2008 إلا أن قلة سمك البشرة والقشرة إلى وصول العقدة مرحلة الشيخوخة حيث تبدأ الخلايا بالتوقف عن الانقسامات وبالتالي قلة في سمك الطبقتين وبالتالي حصول اندماج للمنطقتين مما يمهد الطريق لحصول انحلال لهذه المناطق كي تتمكن الخلايا البكتيرية من الخروج إلى التربة لتبدأ نشاطها من جديد كما اشار الباحث أن مرحلة الشيخوخة للعقدة الجذرية تختلف من نبات إلى آخر فقد تكون في مرحلة التزهير أو مرحلة الحصاد أو ما بعد الحصاد

الاستنتاجات Conclusion

أدى تلقيح بذور الفاصوليا ببكتريا الرايزوبيا إلى زيادة في أعداد العقد الجذرية مما انعكس على كفاءة التثبيت النيتروجيني، تحقق إضافة العناصر النانوية كل من الحديد + الموليبدنيوم مع السماد الحيوي نتائج أفضل من عدم التلقيح أو من التلقيح البكتيري لوحده بسبب دورهما في زيادة نشاط أنزيم النيتروجيناز وعدد العقد الجذرية. كما نستنتج ان الصنف القصير قد لائتمته الظروف البيئية أكثر في بلدنا. أعطت الصفات التشريحية للعقدة الجذرية لنبات الفاصوليا أعلى متوسط لحجم العقدة (قطرها) عند استعمال السماد الحيوي مع إضافة العناصر بينما أدى استعمال السماد الحيوي مع إضافة العناصر النانوية إلى قلة سمك طبقتي البشرة والقشرة للعقدة الجذرية.

المصادر

- الطار، عدنان عبد الامير والعلاف، سهيلة محمود والمختار، كواكب عبد القادر، (1982) التحضيرات المجهرية، الطبعة الاولى.
- سعد، تركي وصوفيا جبار (2014) تأثير التلقيح ببكتريا Rhizobiumleguminosarum ومستويات مختلفة من صخر الفوسفات في نمو وحاصل نبات الماش. vigna radiate. مجلة المثني للعلوم الزراعية (1): 123- 128
- Akunda, U.W.J. (2002). Symbiotic nitrogen fixation between legumes and rhizobia. www. New phytologist. Com.
- AL-Syed, S.F, (2006) vegetable production Technology inside the green house and Tunnels in the desert land. Egyptian Library, Alexandria, Egypt pp. 478.

- AL-Kinany , F.S. (2017) Effect of Bacterial inoculation and phosphate fertilization in growth lathyrussativus L and production of plant.Karbala Journal of Agricultural Sciences.4(3):184-193.
- Beck, D.P.; L.A. Materon and A Fandi. (1993). Particle Rhizobium – legume Technology Manual – Technical Manual No.19. ICARDA Aleppo, Syria.
- Doyle ,J.J. and Luckow ,M.A.(2003) The Rest of Iceberg.legume Diversity and Evolution in aphylogentic context. plant physiology Journal.131(3):900-910.
- Hanapi, Sitizulaiha., Hassan. M, Awad., Sheihk, Imran udin sheikh.AL., sitiHajar, Mat, Sarip., Mohamad, Rojiandsarmidi, Ramlan, Aziz (2013) Agriculture wastes conversion for bio fertilizer production using beneficial micro organisms for sustainable agriculture application. Malay. J. Micro boil. 9(1): 60-67.
- Hussain, A., A. Amjed, K. Tasneem, A. Ashfaq, A. Zubair and A. Muhammad (2014) Growth nodulation and yield components of mung bean as affected by phosphorus in combination with rhizobium inoculation. Afri. J. Agri. Res., 9(30): 2319-2323.
- Jampilek, J. and Kraeova, K. (2015) Application of nano technology in agriculture and food industry. Its prospects and risks. Ecol. Chem. Eng., 22(3): 321-361.
- Jat, R.L. and P.S., Rathore (1994) Effect of sulphur, molybdenum and Rhizobium inoculation on green gram phaseolus radiates). Indian J. Agron. 39(4): 651-654.
- Liu, R,and R. Lal. (2015) potentials of engineered nano particles as fertilizer for increasing agronomic production. A review science of the total Environment 514, 131-139
- Luqueno, F.F.; L. Dendooven; A. Munive; L. corbychee.; L.M. Serrano-covarrubias and D. Espinosa Victoria. (2008) Micro-morphology of common bean (phaseolus vulgaris L.) nodules under going senescence. Acta. Physiol. Plant. 30: 545-552.
- MCGee, Rose Marie Nichols (2002) The Bountiful Container. Workman publishing.
- Mehboob, I. (2010) plant growth promoting activities of Rhizobium with non legumes. A thesis submitted in soil science, institute of soil and environmental science, university of agriculture, Faisalabad, Pakistan.
- Mustafa,M.A.A.F.(2010).Vegetables (food- prevention – Medication) knowledge Library grove, Egypt. Pp. 552.
- Naseem ,M.J. ,M.A.A.M.Hussein and W.H.Mohammed Ali (2019) Basics of plant Nutrition.Alexandria University.Faculty of Agriculture.Saba Pasha.
- Singh, A.L., Jat, R.S., Chaudhari, V., Bariya, H., and Sharma, S.J. (2010) Toxicities and tolerance of mineral elements born, coblt, molybdenum and nickel in crops plants. Plant stress, 4,31-56.
- Taha, S.M.R. (2007) Bio fertilizers and organic Agriculture healthy food and a Tunnles in the desert land. Egyptian Library, Alexandria, Egypt. Pp 478.
- 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. of Am. Madison WI-USA.