عزل وتوصيف البكتريا المحفزة للنمو المعزولة من المحيط الجذري لنبات الكرفس

إيمان إبراهيم* [(1)] ونجوى مسلماني [(1)] وعماد الدين الخلف [(1)] وعبير الرمو [(1)]

(1) قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة حلب، حلب، سورية.

(*للمراسلة الباحثة: إيمان إبراهيم، البريد الإلكتروني: iman.sy@hotmail.com)

تاريخ الاستلام: 2021/02/5 تاريخ القبول: 2021/09/27

الملخص:

يعد التسميد الحيوي من طرائق تعزيز مؤشرات النمو النباتي، هدف هذا البحث عزل وتوصيف البكتريا من المحيط الجذري لنبات الكرفس، ودراسة بعض خصائصها المحفزة للنمو، أجري البحث في مختبرات كلية العلوم بجامعة حلب خلال عامي 2019-2020 عزلت البكتريا وصنفت اعتماداً على صفاتها الشكلية واختباراتها الحيوية الكيميائية، بينت النتائج التوصل إلى توصيف 45 عزلة بكتيرية من المحيط الجذري للكرفس، كانت جميع العزلات البكتيرية تمتلك للخصائص المحفزة للنمو بنسب متفاوتة إذ كانت (96)% منها قادرة على تثبيت الآزوت و (51)% مذيبة للفوسفات وأنتجت (46)% من العزلات العزلات هرمون حمض الأندول الخلي وممخلبات الحديد بنسبة (75)%، كما أن (49)% تمكنت من إنتاج غاز سيانيد الهيدروجين، حددت فيما بعد هوية العزلات الأكثر امتلاكاً للخصائص المحفزة للنمو وكانت معظم هذه العزلات تابعة للجنسيين العصويات *Bacillus* والزوائف *pseudomonas*. تشير النتائج في هذا البحث إلى إمكانية استخدام هذه العزلات في الممارسات الزراعية كأسمدة حيوية لتشجيع نمو المحاصيل المختلفة، بعد اختبارها على المحاصيل الزراعية.

الكلمات المفتاحية: الكرفس، لقاح بكتيري، البكتريا المحفزة للنمو، عزل، توصيف.

المقدمة:

يعد استخدام المواد الكيميائية (الأسمدة والمبيدات) طريقة فعّالة لزيادة إنتاجية المحاصيل وحمايتها من الأمراض، إلا أن الاستخدام العشوائي والمفرط لهايمكن أن يؤدي إلى العديد من الآثار السلبية كتطور سلالات مقاومة لمسببات الأمراض والأضرار الكبيرة على مكونات النظام البيئي وتراكم هذه المواد في أجزاء النباتات الصالحة للأكل(Gupta *et al*., 2014) ، مما يستدعي تبني استراتيجيات بديلة ومستدامة للحفاظ على خصوبة التربة وزيادة إنتاج المحاصيل دون الحاجة إلى استخدام الأسمدة الكيميائية. استخدمت بكتريا المحيط الجذري المعززة لنمو النبات Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) لدراسة الآثار الإيجابية في مختلف مجالات القطاع الزراعي التي تشمل المبيدات والأسمدة والصادات الحيوية (Karnwal, 2017)، تلعب هذه البكتريا دوراً مهماً كبديل عن الأسمدة (Adnan *et al*., 2016)، تتواجد بكتريا PGPR في منطقة المحيط الجذري للنباتات، إذ تستعمر هذه المنطقة وتؤدي أدواراً مختلفة تقدم فيها فوائد عدة للنبات، تتمثل بتعزيز

النمو وتسهل امتصاص بعض العناصر الغذائية مثل الفوسفور وتثبيت الآزوت وإنتاج ممخلبات الحديد Siderophores وانتاج الهرمونات النباتية وكعوامل مكافحة حيوية Biocontol Agent لمسببات الأمراض النباتية من خلال إنتاج الصادات الحيوية وسيانيد الهيدروجين HCN (Goswami *et al.*, 2016;Mhatre *et al.*, 2019). وتعد البكتريا التابعة لجنس الفصلاء *Arthrobacter* والعصوية *Bacillus* والزائفة *Pseudomonas* والمستجذرة *Rhizobium* أكثر البكتريا استخداماً في مجال التسميد الحيوي (Shakeela *et al.*, 2017)، ففي دراسة أجراها Rostamikia وآخرون (2016) أدى تطبيق لقاحات بكتيرية للأنواع *Pseudomonas putida* و*Bacillus subtilis* و*Enterobacter cloacae* إلى كسر طور السكون في بذور نبات *Corylus avellana* وتحسين مؤشرات الإنبات ونمو البادرات، وبيّنت دراسة (Karnwal, 2017) أن السلالات المعزولة من المحيط الجذري أثرت إيجابياً في مؤشرات النمو لنبات الأرز. كما أدى استخدام مزيج من جراثيم PGPR وهي *Azotobacter chroococcum*، *Azospirillu mlipoferum*، *Bacillus* sp. إلى تحسين إنبات ونمو الذرة الرفيعة وزيادة طول الجذور وارتفاع النبات والوزن الجاف الكلي للبادرات (Widawati and Suliasih, 2018). بينت دراسات عديدة أهمية تطبيق التسميد الحيوي باستخدام PGPR على نطاق واسع لدعم وتحسين نمو العديد من النباتات وخصوصاً المعروفة بأهميتها وفوائدها، يعد نبات الكرفس (*Apium gravolens* L.) من أهم الخضروات التابعة للفصيلة الخيمية Apiaceae، يزرع في جميع أنحاء العالم ويستخدم في الصناعات الغذائية والتجميلية، لكونه مصدراً كبيراً للفيتامينات والبروتينات والمركبات الفينولية والزيوت الطيارة، بالإضافة إلى أهميته في الصناعات الدوائية بسبب خصائصه الطبية المختلفة، كمضاد للبكتريا والالتهابات وخافض للسكر والشحوم (Khalil *et al.*, 2015) لذا جاء فقد هدف البحث إلى عزل وتوصيف البكتريا من المحيط الجذري لنبات الكرفس، ودراسة خصائصها المعززة لنمو النبات.

مواد العمل وطرائقه:

1. جمع عينات التربة وعزل البكتريا: زرعت بذور الكرفس في الحديقة البيئية التابعة لقسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم بجامعة حلب في الموسم الزراعي (2018) في الشهر الثامن آب وبعد وصول النبات إلى عمر أربعة أشهر جمعت عدة عينات من تربة منطقة المحيط الجذري لنباتات الكرفس من أعماق تتراوح بين (15-20) سم ضمن عبوات معقمة. ثم أخذ 10 غ من عينة التربة ووضعت في دورق يحوي 90 مل محلول ملحي بتركيز 0.85٪، حضرت سلسلة من التخفيفات وزع0.1 مل على أطباق بتري تحوي على الوسط المغذي Nutrient agar، وحضنت الأطباق لمدة 24 ساعة عند درجة الحرارة 30 مئوية، وبعد التنقية تم الحصول على مستعمرات مفردة.

2. التحري عن خصائص العزلات المعززة لنمو النبات: تم التحري عن قدرة البكتريا المختبرة على تعزيز نمو النبات باستخدام الاختبارات الكيميائية الحيوية الآتية:

تثبيت الآزوت: تم التحري عن قدرة العزلات في تثبيت الآزوت من خلال زرعها على وسط خال من الآزوت Nitrogen Free Medium، بحسب طريقة (Dobereiner *et al.*, 1995)، حيث حضّر وسط مغذي يحوي حمض الماليك وأضيف إليه مشعر أزرق البروموثيمول بتركيز 0.5%، بعد 5 أيام من الحضن عند الدرجة 30م°، اعتبرت العزلات التي كانت قادرة على النمو وتشكيل المستعمرات مع تغيير لون الوسط إلى اللون الأزرق من البكتريا القادرة على تثبيت الآزوت.

إذابة الفوسفات: لتحديد قدرة البكتريا على إذابة عنصر الفوسفور، استخدم وسط Pikovskaya، حيث تم تعقيم الوسط ومن ثم أضيف إليه 5 غ/ل من الفوسفات ثلاثية الكالسيوم. بعد صب الوسط في الأطباق، تم تلقيحها بالعزلات البكتيرية، ثم حضنت لمدة 7 أيام بدرجة حرارة 30 م°، تم تحديد قدرة البكتريا على إذابة الفوسفات من خلال تكوين هالات شفافة حول المستعمرات (Pikovskaya, 1948).

إنتاج حمض الاندول الخلي (Indole acetic acid IAA): زرعت العزلات المختبرة في وسط Nutrient broth، مضافاً إليه 5 مل من التريبتوفان كطلائع لتركيب حمضض الأندول الخلي و1% غليسرين، وضعت في الحاضنة الهزازة عند 250 (دورة/الدقيقة) بدرجة 30 م° لمدة 72 ساعة، أجري الطرد المركزي للوسط عند 15000 (دورة/الدقيقة) لمدة 20 دقيقة، أخذ 2 مل من السائل الطافي وأضيف إليه 3 مل من كاشف سالكوفسكي، تركت الانابيب في الظلام لمدة 30 دقيقة حتى حدوث التفاعل والتغير اللوني. حيث يشير ظهور اللون الوردي في أنابيب الاختبار إلى قدرة العزلة على إنتاج الحمض IAA ولتقدير كمية الحمض الناتجة استخدمت تراكيز متدرجة من حمض الاندول الخلي العياري، ثم قيست الامتصاصية بجهاز Spectrophotometer عند طول موجة 535 نانو متر، تم رسم المنحنى القياسي لتغير الامتصاصية لسلسلة حمض الاندول الخلي بدلالة تغير التركيز ومن خلال معادلة الخط البياني تم حساب كمية الهرمون لكل عزلة إيجابية (Brick *et al*., 2004).

إنتاج الأمونيا: حددت قدرة البكتريا على إنتاج الأمونيا بطريقة (Cappuccino and Sherman, 1992) حيث تم تلقيح كل عزلة جرثومية في 10 مل من ماء الببتون Peptone water وتم ضبط درجة الحموضة عند (pH=7) حضنت الأنابيب عند درجة حرارة 28 ± 2 درجة مئوية لمدة 4 أيام، ثم أضيف1 مل من كاشف نيسلر Nesslers' reagent إلى المعلق الجرثومي، يدل تشكل لون متدرج من الأصفر إلى البني على انتاج الأمونيا بشكل متزايد.

إنتاج ممخلبات الحديد Siderophores: تم اختبار قدرة الجراثيم على انتاج مركبات السايدروفور بطريقة Chrome-azurol-S (CAS) plate assay بحسب (Schwyn and Neilands, 1987)، حيث حضر وسط الكشف بإضافة المركب أزرق الكروم أزورول المعقم CAS (60.5 ملغ/50 مل الماء المقطر) إلى 5 مل من محلول ثلاثي كلوريد الحديد $FeCl_3.6H_2O$، و5 مل من حمض كلور الماء HCl. أضيف هذا المحلول بعد التعقيم ببطء إلى مادة بروميد الأمونيوم هيكساديسيل ترايميثيل (HDTMA) المحضرة بحل 72.9 ملغ/40 مل من الماء المقطر. أضيف الوسط السابق إلى الوسط المغذي Nutrient agar وبعد صب الأطباق نقلت اليها المستعمرات المختبرة، حضنت الأطباق لمدة 72 ساعة عند درجة حرارة 30 م°، يشير تكوين منطقة شفافة مع لون مصفر إلى إنتاج مركبات Siderophore.

إنتاج سيانيد الهيدروجين HCN: تم التحري عن إنتاج العزلات المختبرة لغاز سيانيد الهيدروجين من خلال التفاعل بين حمض البيكريك وغاز سيانيد الهيدروجين HCN بحسب طريقة (Baker and Schippers, 1987)، حيث زرعت العزلات على وسط مغذ يحوي الغليسين بتركيز 4.4 غ /ل. ووضعت على السطح العلوي للطبق ورقة ترشيح مشربة بمحلول مكون من 2٪ كربونات الصوديوم في 0.5٪ محلول حمض البيكريك، غلفت الأطباق بالبارافيلم وتم تحضينها عند 30 م° لمدة 4 أيام. إن وجود أي تغير في لون ورق الترشيح من الأصفر إلى البني الغامق يشير إلى قدرة العزلات على إنتاج غاز سيانيد الهيدروجين HCN.

3–تحديد هوية البكتريا: لتحديد هوية الأنواع المختبرة والتي تمتلك خصائص معززة للنمو النباتي، أخذت المستعمرات المفردة كل على حدة، ونميت على وسط الآغار المغذي بهدف دراسة الخصائص الشكلية وإجراء الفحوصات اللازمة لتحديد هوية البكتريا حسب دليل بيرجي Bergey's Manual of Systematic Bacteriology لعام (2005). مثل صبغة غرام واختبار الكتالاز والأوكسيداز وتخمر السكريات وتحلل النشاء وارجاع النترات واستخدام السترات كمصدر للطاقة والقدرة على النمو بدرجات حرارة مختلفة وغيرها من الاختبارات الواردة في تحديد النوع البكتيري.

4– التحليل الاحصائي:

حللت البيانات باستخدام برنامج SPSS vers. (2016) و تمت المقارنة بين متوسطات المعاملات باستخدام اختبار أقل فرق معنوية LSDعند مستوى 1٪.

النتائج والمناقشة:

خصائص البكتريا المعزولة كـPGPR

تم الحصول على 45 عزلة بكتيرية من المحيط الجذري لنبات الكرفس، حيث أعطيت المتسلسلة الآتية A1،A2، ... A3 A45.، وقيمت خصائصها المحفزة للنمو الجدول (1).

تثبيت الآزوت:

أظهرت النتائج في الجدول(1) أن 96% من العزلات المختبرة كانت قادرة على تثبيت الآزوت، بينما غابت هذه الصفة عند العزلتين (A17 وA37) فقط، بالمقارنة مع الدراسة التي أجراها Abbouni وآخرون عام 2018 فقد بينت النتائج أن 50٪ فقط من العزلات قادرة على تثبيت الآزوت، وجميعها تنتمي إلى جنس العصوية. إن تثبيت الآزوت هو العملية الأكثر أهمية في تعزيز نمو النبات بوساطة البكتريا (Mirza *et al.*, 2001, Lin *et al.*, 2012). حيث يعمل تلقيح المحاصيل بالبكتريا المثبتة للآزوت على تعزيز نمو النباتات، بالإضافة إلى الحفاظ على مستوى الآزوت في التربة الزراعية (Damam *et al.*, 2016).

إذابة الفوسفات:

بينت النتائج في الجدول(1) أن إذابة الفوسفات كانت إيجابية عند51٪ من العزلات، حيث ظهرت هالة واضحة حول المستعمرات النامية. إن الآلية التي تعمل بها الأنواع البكتيرية كمذيبات للفوسفات هي إنتاج مركبات تذيب المعادن مثل الأحماض العضوية التي تؤدي إلى نقص في درجة الحموضة، وبالتالي تحول الفوسفات الثلاثي إلى أشكال قابلة للذوبان مثل ($H_2PO_4^-$)أو (HPO_4^{-2}) ومتاحة للامتصاص من قبل النبات مما يسهم فيتحسن النمو (Rodrigues *et al.*, 2016).

الجدول (1): خصائص البكتريا المعزولة من المحيط الجذري لنبات الكرفس كـ PGPR

العزلة	تثبيت الأزوت	إذابة الفوسفات	انتاج هرمون IAA (مكغ/ل)	انتاج الأمونيا	انتاج غاز HCN	انتاج مركبات Siderophore
A1	+	+	177	+	+ +	+
A2	+	+	191	+ + +	--	+
A3	+	--	--	+ + +	--	--
A4	+	--	--	+	--	--
A5	+	--	184	--	+	+
A6	+	+	--	+ +	--	--

+	--	+	--	--	+	**A7**
+	--	+	86	+	+	**A8**
+	+	+ +	195	+	+	**A9**
+	+ +	--	--	--	+	**A10**
+	+	+ + +	201	+	+	**A11**
--	+	+	103	--	+	**A12**
--	+	+ +	--	--	+	**A13**
+	+ +	--	--	+	+	**A14**
--	--	+ + +	--	+	+	**A15**
+	--	--	105	+	+	**A16**
+	--	+	--	--	--	**A17**
+	--	+	--	--	+	**A18**
+	+	+ +	--	--	+	**A19**
+	+	+	124	--	+	**A20**
--	--	+ +	225	+	+	**A21**
+	--	+	260	--	+	**A22**
+	--	+	--	--	+	**A23**
--	+ +	+	--	--	+	**A24**
+	+ + +	+ + +	59	+	+	**A25**
--	+ +	+ +	--	+	+	**A26**
+	--	+	--	+	+	**A27**
--	--	+	--	+	+	**A28**
+	+	+	88	--	+	**A29**
+	+	--	--	+	+	**A30**
--	+ + +	+	112	--	+	**A31**
+	+ +	--	--	--	+	**A32**
+	--	+	383	+	+	**A33**
+	--	--	--	+	+	**A34**
+	+	+	--	+	+	**A35**
+	--	--	--	--	+	**A36**
+	--	--	--	--	--	**A37**
+	+	+	488	+	+	**A38**
+	--	+ + +	--	--	+	**A39**
+	+ +	+	447	+	+	**A40**
+	+	--	--	+	+	**A41**
+	+	+ +	121	+	+	**A42**
+	--	+ +	49	+	+	**A43**
+	--	--	234	--	+	**A44**
+	--	+ + +	144	--	+	**A45**

A1, A2, ….A45: البكتريا المعزولة من المحيط الجذري لنبات الكرفس +: انتاج ضعيف، ++ انتاج متوسط، ++++: انتاج قوي

انتاج هرمون حمض الأندول الخلي IAA:

بينت النتائج أن (21) عزلة كانت إيجابية الإنتاج من خلال ظهور اللون الوردي وبنسبة (46.7) % وتراوح إنتاج العزلات للهرمون بين (49-488) ميكروغرام/مل. أظهرت العزلة (A38) تفوقاً واضحاً بإنتاج IAA بتركيز وصل إلى (488) ميكروغرام/مل، تلتها العزلة (A40) بتركيز وصل إلى(447) ميكروغرام/مل، بينما كان التركيز الأقل من الهرمون (49) ميكروغرام/مل عند العزلة (A43). في دراسة (Ei *et al*., 2018) تم عزل 12 سلالة بكتيرية من ترب مختلفة وكانت جميع العزلات لها القدرة على انتاج حمض الاندول الخلي بتراكيز تراوحت بين (30-111) مغ/ل، بينما أنتجت البكتريا المعزولة من المحيط الجذري مستويات منخفضة من الهرمون بحسب دراسة (Dagnaw *et al*., 2015). يمكن لعدد كبير من أنواع البكتريا إنتاج IAA وهو هرمون نباتي له دور مهم في عملية النمو والتطور(Torre-Ruiz *et al*., 2016) . إن كمية IAA المنتجة في ظروف المخبر من قبل البكتريا تعتمد على الأنواع البكتيرية المختلفة أو السلالة المعزولة أو ظروف الوسط مثل درجة الحموضة (Radwan *et al*., 2002). ومع ذلك فإن إنتاج IAA بوساطة جراثيم منطقة المحيط الجذري ذو أهمية كبيرة في دعم النمو النباتي حتى بكميات منخفضة (Ul Hasan and Bano, 2015).

انتاج الأمونيا:

تمكنت (73) % من البكتريا المعزولة من المحيط الجذري للكرفس من إنتاج الأمونيا، وتباينت العزلات بقدرتها على إنتاج الأمونيا، حيث أظهرت العزلات (A2-A3- A11- A15- A25-A39-A45) قدرة عالية في إنتاج الأمونيا. تعمل الجراثيم على إنتاج انزيم اليورياز، الذي يحلل اليوريا إلى حمض الكربامك والذي يتحلل بدوره إلى أمونيا وCO_2، تتفاعل الأمونيا مع الماء لتكوين شوارد الأمونيوم التي تمتصها النباتات بسهولة كمصدر للآزوت، كما أنها تقلل من قدرة مسببات الأمراض على استعمار النبات (Mbai *et al*., 2013).

انتاج غاز سيانيد الهيدروجين HCN:

وصل عدد العزلات المنتجة لسيانيد الهيدروجين إلى 22 عزلة بنسبة % (49) بحسب ما هو موضح في الجدول (1). تميزت العزلتان (A31-A25) بالقدرة العالية على انتاج HCN، فيما أظهرت العزلات (A1-A10-A14-A24-A26- A32,A40) قدرة أقل. بالمقارنة مع الدراسة (Karnwal, 2017) حيث أظهرت النتائج أن جميع عزلات المحيط الجذري للذرة لها القدرة على انتاج سيانيد الهيدروجين. تأتي أهمية الإنتاج الجرثومي لغاز HCN في كونه يلعب دوراً في المكافحة الحيوية لمسببات الأمراض، حيث يعد مثبطاً قوياً للعديد من الأنزيمات المعدنية، خاصة النحاس الذي يحتوي على السايتوكروم أوكسيداز Cytochrome oxidase، يمنع HCN نقل الإلكترون ويعطل إمدادات الخلية بالطاقة، مما يؤدي إلى موت الكائنات الحية (Abd El-Rahman *et al*., 2019)

انتاج ممخلبات الحديد مركبات Siderophores:

بلغت عدد العزلات التي تمتلك القدرة على انتاج مركبات Siderophores (34) عزلة إيجابية بنسبة وصلت إلى (75)%، وذلك من خلال تشكيل هالة برتقالية صفراء حول المستعمرة. تتميز مركبات السايدروفور بأنها عن مركبات منخفضة الوزن الجزيئي وتلعب دوراً مهماً في تحفيز نمو النبات، وهي إحدى آليات التحكم الحيوي لجراثيم PGPR في ظل ظروف تقييد الحديد، التي يكون فيها على شكل أكاسيد وهيدروكسيدات. تطلق جراثيم PGPR مركبات السايدروفور التي تمخلب الحديد

وتعمل على تشكيل Fe^{3+} قابل للذوبان(Sharma and Shrivastava, 2017; Modi *et al*., 2017). تجعل مركبات السايدروفور المنتجة من قبل البكتريا الحديد متاحاً للنبات، وبالتالي يمكن اعتبار هذه البكتريا كعوامل تحكم حيوي، حيث أن هذه المواد لها نشاط مضاد حيوي بالإضافة إلى قدرتها على تحسين النمو النباتي (Sharma and Shrivastava, 2017).

الخصائص الشكلية وتحديد هوية العزلات البكتيرية PGPR المختارة:

بعد فحص خصائص PGPR للعزلات الـ 45 الموضحة في الجدول (1)، تم اختيار (7) عزلات تميزت بأنها الأكثر امتلاكاً للخصائص الـ محفزة للنمو، وهي (A1 و A2 و A11 و A25 و A29 و A38 و A40 و A42)، درست خصائص العزلات، وفقاً لدليل بيرجي لتصنيف الجراثيم(Bergey *et al*., 2005)، فقد تم وصفت العزلات (A42 و A40 و A25 و A11) بأنها عصويات إيجابية الغرام متبوغة، أظهرت قدرة على الحركة وبعد قياس قطر الخلية وفحص قدرتها على تحلل النشاء وانتاج الكتلاز واستهلاك السترات وتفاعل فوكس يرسكاور Voges Prskauer (VP) وارجاع النترات وقدرتها على النمو في وسط NaCl بنسبة 6.5٪،تبين أنها تنتمي إلى الأنواع *Bacillus sphaericus* و*Bacillus thuringiensis* و *Bacillus subtilis* و*Bacillus cereus* على التوالي، الجدول (3).

الجدول (2): الخصائص الشكلية والحيوية الكيميائية لعزلات الجنس *Bacillus*

العزلة	الشكل/ صبغة الغرام	قطر الخلية(µm)	انتفاخ الخلية	الاميلاز	الكتالاز	السيترات	اختبار VP	النمو في وسط ملحي 6.5%	ارجاع النترات
A42: *B.sphaericus*	عصيات/G^+	1<	+	-	+	+	-	-	-
***B. thuringiensis* :A40**	عصيات/G^+	1<	+	+	+	+	+	-	+
***B. subtilis* :A25**	عصيات/G^+	1>	+	+	+	+	+	+	+
***B. cereus* :A11**	عصيات/G^+	1<	+	+	+	+	+	+	+

تم اجراء الاختبارات الموضحة في الجدول (4)، دليل بيرجي وتم التعرف على هوية الأنواعالتابعة لجنس الزوائف *Pseudomonas* لكل من العزلتين A2 و A38 وهي *Pseudomonas aeruginosa* و *P. putida*.

الجدول (4): الخصائص الشكلية والحيوية الكيميائية لعزلات الجنس *Pseudomonas*

العزلة	الشكل/ صبغة الغرام	اختبار الأوكسيداز	تخمير الغلكوز	صبغة صفراء مفلورة	صبغة زرقاء غير مفلورة	ارجاع النترات	اختبار الليستيناز
***P. aerugnosa* :A2**	عصيات/G^-	+	–	+	+	+	+
***P. putida* :A38**	عصيات/G^-	+	–	+	–	–	–

أما بالنسبة للعزلة A29 فقد بينت نتائج اختبار الأوكسيداز والكتالاز وتخميرسكر المانيتول وانتاج الصباغ الأصفر وتخمير سكر الغلكوز أنها تعود للنوع *Micrococcus luteus* وفقاً لدليل بيرجي، الجدول (5):

الجدول(5): الخصائص الحيوية الكيميائية للبكتريا المعزولة

العزلة	الشكل/ صبغة الغرام	اختبار الأوكسيداز	الكتالاز	تخمير المانيتول	الصبغة الصفراء للمستعمرات	تخمير الغلكوز
***Micrococcus luteus* : A29**	مكورات/G^+	+	+	-	+	-

من بين أجناس البكتريا يعد كل من جنس الزائفة *Pseudomonas* والعصوية *Bacillus* من بين الأجناس البكتيرية الأكثر استعماراً للمحيط الجذري والمدروسة بشكل كبير كجراثيم معززة لنمو النباتات والمستخدمة تجارياً لأغراض مفيدة كالتسميد الحيوي biofertilization، والمعالجة النباتية phytoremediation، والتحكم الحيوي biocontrol (Mhatre *et al*., 2019).

الاستنتاجات:

أظهرت أنواع الجنسين *Pseudomonas* و*Bacillus* المعزولين من المحيط الجذري لنبات الكرفس قدرة عالية على إنتاج هرمون IAA ومركبات Siderophores، بالإضافة إلى إذابة الفوسفات وتثبيت الآزوت، مما يمكن من استخدامها في تعزيز نمو النبات الكرفس.

التوصيات:

متابعة الدراسة على هذه الأنواع على المستوى الحقلي لتعزيز النتائج المخبرية.

المراجع:

Abbouni B, Bouras FZ, Ghanem M, Benine ML, Labdi M, Reguig M, and M. Benali, (2018). Isolation, Screening, Characterization of PGPR of Lentils *Lens culinaris*. Der Pharmacia Lettre 10(1): 91-104.

Baker PD, and Schippers (1987). Microbial cyanide production in therhizosphere in relation to potato yield production and *Pseudomonas* spp. mediated plant growth stimulation Soil Biology and Biochemistry. (9) 451-457.

Bergey, D.H., Holt, J.G., and R.K. Noel, (2005). Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology, Vol.1, 9th Edn (Baltimore, MD: Williams & Wilkins), 1935–2045.

Brick JM, Bostock RM, and S.E Silverstone (2004). Rapid in situassay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on the nitrocellulose membrane. Appl Environ Microbiol 57(2): 535-538.

Cappuccino, J.C. and N. Sherman, (1992). In Microbilogy; A laboratory manual, third ed. Benjamin/ Cummings Pub.Co., New York, 125-179.

Dagnaw, F. (2015). Characterization of plant growth promoting bacteria from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) rhizosphere of Wonji-Shoa Sugar Estate and farmer's landraces of Ethiopia. Biotechnology, 14(1): 58- 64.

Damam, M., Kaloori, K., Gaddam, B., and R. Kausar, (2016). Plant growth promoting substances (phytohormones) produced by rhizobacterial strains isolated from the rhizosphere of medicinal plants. Int. Journal Pharm. Sci. Rev. Res. 37 (1), 130-136.

Dobereiner, J., Baldani, V., and J. I. Baldani, (1995). Como isolar identificar bacterias diazotróficas de plantas não-leguminosas, Brasilia-DF: EMBRAPA-SPI. y Planta Piloto. Evaluación de la producción de AIA. Curso internacional. Producción de Biofertilizantes desde el laboratorio al campo. Memorias. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Biotecnología . Santa fé de Bogotá.

Ei SL, Lwin KM, Padamyar, Khaing HO, Yu SS (2018). Study on IAA Producing Rhizobacterial Isolates and Their Effect in Talc-Based Carrier on Some Plants. Journal Soil Sci Plant Health 2:1.

Goswami, Dweipayan, Janki N. Thakker, and Pinakin C. Dhandhukia. (2016). "Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review." Cogent Food and Agriculture 2(1).

Gupta S., Meena M., and Datta S., (2014). Isolation, characterization of plant growth promoting bacteria from the plant *Chlorophytum borivilianum* and in-vitro screening for activity of nitrogen fixation, phosphate solubilization and IAA production. International Journal of Current Microbiology and Applied Science. 3(7): 1082-1090**.**

Karnwal A., (2017). Isolation and identify cation of plant growth promoting rhizobacteria from maize (*Zea mays* L.) rhizosphere and their plant growth promoting effect on rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Plant Protection Research 57 (2), 144-151.

Lin, L. *et al*. (2012). Plant growth-promoting nitrogen-fixing enterobacteria are in association with sugarcane plants growing in Guangxi, China. Microbes and Environments, 27(4): 391-398.

Mbai, F. N. *et al*. (2013). Isolation and characterization of bacterial root endophytes with potential to enhance plant growth from Kenyan Basmati rice. American International Journal of Contemporary Research. 3(4). 25-40.

Mhatre, P. H., Karthik, C., Kadirvelu, K., Divya, K. L., Venkatasalam, E. P., Srinivasan, S., and R. Shanmuganathan, (2019). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A potential alternative tool for nematodes bio-control. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 17, 119-128.

Mirza M.S., Waseem A., Farooq, L., Jacqueline H.B., Rene N.P., and Malik K. A. (2001). Isolation partial characterization and the effect of plant growth promoting bacteria (PGPB) on micro propagated sugarcane in vitro. Plant Soil 237, 47–54.

Modi k., Patel p., Parmar k., 2017- Isolation, Screening and Characterization of PGPR from Rhizosphere of Rice. Indian Journal of Pure and Applied Biosciences. 5 (3): 264-270.

Pikovskaya, R.I. (1948). Mobilization of phosphorus in soil inconnection with the vital activity of some microbial species. Mikrobiologiya 17, 362–370.

Radwan, T.E.E., Mohamed, Z.K., and Reis, V.M (2002). Production of indole-3-aceticacid by different strains of *Azospirillum* and *Herba spirillum* spp. Symbiosis 32, 39–54.

Rodrigues A., Forzani M., Soares R., Sibov S., and Vieira J., (2016). Isolation and selection of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane, Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, 46 (2): 149-158.

Rostamikia Y., KouchaksaraeiM., Asgharzadeh A., and A. Rahmani, (2016). Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Cold Stratification on Seed Germination and Early Growth of *Corylus avellana* L. Austrian journal of forest science, 4, 337–352.

Schwyn B, and JB. Neilands. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry 160:47-56.

Shakeela, S., Padder, S. A., and Z. A. Bhat, (2017). Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with medicinal plant Picrorhiza Kurroa. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3), 157-168.

Sharma p., and S.K. Shrivastava (2017). Isolation and Characterization of PGPR from Rhizospheric Soil. International Journal of Scientific and Engineering Research 8(4):54-59.

Torre-Ruiz N., Ruiz-Valdiviezo V.M., Rincon-Molina C.I., Rodriguez-Mendiola M., Arias-Castro C., Gutierrez-Miceli F.A., Palomeque-Dominguez H., Rincon-Rosales R. (2016). Effect of plant growth-promoting bacteria on the growth and fructan production of Agave americana L. Brazilian Journal of Microbiology 47 (3): 587–596.

Ul Hassan, T., and A Bano, (2015). The stimulatory effects of L-tryptophan and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on soil health and physiology of wheat. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 15(1); 190-201.

Widawati, S. (2018). The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination and seedling growth of Sorghum Bicolor L. Moench. In IOP conference series: earth and environmental science. 66 (1): 012022.

Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria from The Rhizosphere of The Celery Plants

Iman Ibrahim* [(1)] , Najwa Muslmani [(1)] , Imad aldeen ALKhalaf[(1)] , and Abeer alramo [(1)]

(1) Dept. of Biology, Faculty of Science, Aleppo University, Aleppo, Syria.
(*Corresponding author: Iman Ibrahim, E-Mail iman.sy@hotmail.com).

Received: 5/02/2021 Accepted: 27/09/2021

Abstract:

Bio fertilization is one of the ways to enhance plant growth traits. The aim of this research is to isolate and characterize bacteria from the rhizosphere of the celery plants and study some of their growth-promoting properties The bacteria were isolated and were identified based on morphological and biochemical tests. the results showed that 45 bacterial isolates from the rhizosphere of celery were described. And All the bacterial isolates possess growth-promoting properties in varying proportions, as (96) % of them were able to fix nitrogen and (51) % dissolve for While the isolates produced the hormone indole acetic acid by (46%) and iron Siderophores produced by (75%), and (49%) were able to produce hydrogen cyanide. Later, then, the isolates with the most growth-promoting properties were identified, most of these isolates belonged to the genus Bacillus and Pseudomonas. The results in this research indicate the possibility of using these isolates in agricultural practices as bio-fertilizers to encourage the growth of different crops, after being tested on agricultural crops.

Keywords: Celery, bacterial inoculum, growth- promoting bacteria, isolation, characterization.