كفاءة استخدام البكتريا Bacillus subtilis كمنظم نمو وتاثيرها في الصفاة المظهرية والفسيولوجية لفسائل نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) تحت ظروف الاجهاد الملحي

ناجي سالم جاسم
أستاذ مساعد

عبد الرحمن داود صالح
أستاذ مساعد

مركز أبحاث النخيل / جامعة البصرة / العراق

البريد الالكتروني :alhamadabd5@gmail.com

المستخلص :

اجريت الدراسة في مختبرات والبيت البلاستيكي لمركز ابحاث النخيل جامعة البصرة للموسم 2016-2017 وهدفت الى تقييم فعالية البكتريا *Bacillus subtilis* في تحسين قدرة فسائل نخيل التمر في تحمل ظروف الاجهاد الملحي وكذلك دراسة التأثيرات الايجابية لها في تحسين الصفات الفسيولوجية المختلفة .اظهرت نتائج الدراسة المختبرية قدرة البكتريا *B.subtilis* على النمو في التراكيز الملحية المختبرة ،اذ بلغ معدل اعداد البكتريا 0.55 و0.44 و0.43×10^8 وحدة تكوين مستعمرة .مل$^{-1}$ عند التراكيز الملحية 5و 10و 15 ديسيمنز م$^{-1}$ على التوالي كما اظهرت نتائج تجربة البيت البلاستيكي فعالية البكتريا *B.subtilis* على تحسين مؤشرات النمو في النباتات المعاملة بها في التراكيز الملحية المذكورة وبشكل معنوي اذ ادت الى زيادة معدل اطوال النباتات وزيادة معدلات الوزن الطري والجاف لكل من المجموعين الخضري والجذري ، كذلك زيادة محتوى الاوراق الكلي من صبغات الكلوروفيل a+b مقارنة مع النباتات المعاملة بالتراكيز الملحية المذكورة فقط .

الكلمات المفتاحية: نخلة التمر، بكتريا *Bacillus subtilis* ، الاجهاد الملحي.

Impact of growth promoting Bacillus subtilis on the growth and physiological characteristies of Date palm plantlets (*Phoenix dactylifera* L.) under salt stress conditions.

Naji Salim Jassim **Abdulrahman D. Alhamd,**
Assistant Professor **Assistant Professor**
Department of Date Palm Research Centre/ University of Basrah /Basrah /Iraq.

Email: alhamadabd5@gmail.com

Abstract:

The present study has been conducted at the lab. And green house of date palm research central Basrah University to evaluate the efficiency of *Bacillus subtilis* in date palm plantlets growth promoting, as well as, their effect on salt stress tolerance for treated date palm plants; during the season of 2016-2017. Results of lab. Experiments revealed the ability of *B.subtilis* to grow on various salt concentrations ,the colony forming units were 0.55, 0.44 and 0.43×10^8 cfu/ml of examined

conc. Of 5, 10 and 15 $ds.m^{-1}$ respectively Green house experiment showed the efficiency of *B.subtilis* in date palm plant growth promoting undergo the treatments with a bove-mentioned salt concentrations, plant height ; fresh and dry weight of both root and shoot systems were increased significantly , additionally-significant increase of chlorophyll (a+b) contents were observed in *B.subtilis* treatment, compared with salt treatment only.

المقدمة:

يتراوح اعداد اصناف نخيل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) في العالم ما يقارب 1500 صنف فضلا عن القيمة الغذائية والتجارية فان شجرة نخلة التمر تتميز بتحملها لظروف مناخية قاسية ولمستويات عالية من الملوحة اذ انها تتحمل مستويات ملحية اكثر من محصول الشعير والذي يعتبر اكثر المحاصيل الحقلية تحملا للملوحة (2 و13و14) ان المساحات المتأثرة بالملوحة في العالم اخذة في الزيادة وتشكل اليوم نسبة ما بين20 –50 % من الاراضي الزراعية سواء كانت اروائية او ديمية، اذ تزداد هذه المساحات مع شحة المياه وزيادة تملحها ولا سيما مياه البحيرات العذبة والابار، وان ذلك من دون شك مرتبط بظاهرة السخونة الكونية التي ادت وتؤدي الى ارتفاع معدل درجة حرارة كوكب الارض في عدة مناطق في العالم ،كما يؤدي الارتفاع في درجات الحرارة الى زيادة معدل التبخر– نتح فتزداد ملوحة المياه والتربة الزراعية، كما ان تكرار الري بمثل هذه المياه الرديئة النوعية يؤدي الى زيادة تملح الاراضي الزراعية (22) .واشار FAO (1) انه يمكن ايجاز ضرر الملوحة على النبات بالنقاط الاتية:–

1. اعاقة امتصاص بعض العناصر الاساسية لنمو النبات بسبب وجود ايونات بعض عناصر الاملاح ولا سيما ايونات الصوديوم .
2. التسمم الايوني للخلية نتيجة تجمع معدلات عالية من ايونات الصوديوم والكلور والكبريتات فوق طاقة تحمل خلية نبات ذلك النوع .
3. قلة امتصاص الماء بسبب الشد الازموزي المسلط على جذور النبات النامي في الوسط الملحي العالي .
4. التسمم الوراثي (Genotoxic) اذ انه بزيادة تركيز الاملاح في سيتوبلازم الخلية لحد معين يتحطم DNA الخلية وتموت حالا.

بينت الدراسات الحديثة ان ادخال الاحياء المجهرية المنظمة لنمو النبات Plant Growth Promoting Microorganisms في التربة اثبتت فعاليتها في زيادة تحمل النبات لمختلف العوامل الحيوية والتي تشمل مقاومة امراض النبات المختلفة والعوامل الغير حيوية مثل العوامل المناخية المتطرفة مثل الملوحة والجفاف ودرجات الحرارة المتطرفة(9 و12 و 17 و 27 و40 و 43) تعتبر البكتريا *Bacillus subtilis* هي احد انواع البكتريا المنظمة لنمو النبات Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) ولها تأثيرات ايجابية في الصفات الفسيولوجية للنبات المعاملة بها من خلال زيادة صبغات التركيب الضوئي Photosynthesis والحوامض الامينية الكلية والبروتينات وتراكيز العناصر الغذائية الكبرى مثل النتروجين والفسفور والبوتاسيوم مقارنة مع النباتات غير المعاملة بالبكتريا تحت ظروف الاجهاد الملحي (7) ان بكتريا

B. subtilis يمكن ان تستخدم العديد من الاليات في تنظيم نمو النبات وزيادة تحمل النبات للإجهادات المختلفة وتشمل هذه الاليات تصنيع عدد من الهرمونات النباتية مثل اندول حامض الخليك (IAA) Indole-3-acetic acid وحامض الجبرلين Gibberellic acid والسايتوكاينين Cytokinins (37) وانتاج انزيم (ACC) (aminooyclocyclopropane-1-carboxylate deaminase) (11) وا نتاج سكر (EPS) Exopolysaceharides (39) .

اشارت العديد من الدراسات الى قدرة البكتريا *B. subtilis* الى تحسين النمو في النباتات المعاملة بها مقارنة مع النباتات غير المعاملة تحت ظروف الاجهاد الملحي ، ففي دراسة قام بها Hashem واخرون (16) على نبات *Brassica indica* تحت تأثير الاجهاد الملحي (Nacl=200mM) باستخدام البكتريا *B. subtilis* واظهرت نتائج الدراسة مقدرة البكتريا على تحسين نمو النباتات المعاملة بها والمعرضة للإجهاد الملحي مقارنة مع النباتات الغير معاملة بالبكتريا والمعرضة للإجهاد الملحي حيث بلغت الزيادة في وزن المجموعين الخضري و الجذري الجاف في النباتات المعاملة 23-37 % على التوالي ،كما زاد طول المجموع الخضري والجذري بمقدار 24-16% على التوالي مقارنة مع النباتات غير المعاملة بالبكتريا والمعرضة للإجهاد الملحي اشارت الدراسات الى ان الملوحة تعمل على تقليل محتوى النبات من صبغة الكلوروفيل الكلي مقارنة مع النباتات النامية في التربة غير المعرضة للإجهاد الملحي (3 و4) ،فقد تم الحصول على هذه النتائج في العديد من النباتات مثل الطماطة (16) ونبات *Bruguiera parviflora* (34) .في دراسة قام بها Mohamed و Gomaa (30) وجد ان معاملة نباتات الفجل *Rhaphanus sativus* بكلوريد الصوديوم Nacl ادى الى انخفاض محتوى الاوراق من صبغات Chlorophyll a+b وCarotieniods بينما ادت المعاملة بالبكتريا *B. subtilis* الى تقليل التأثيرات السلبية للإجهاد الملحي في محتوى الاوراق من الصبغات المذكورة كما ادت الى زيادة الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري والجذري وزيادة في مستوى التركيب الضوئي والبرولين والاحماض الامينية الكلية وكميات ايونات عناصر النتروجين والفسفور والبوتاسيوم والكالسيوم والمغنيسيوم الممتصة مقارنة مع النبات غير المعاملة بالبكتريا تحت ظروف الاجهاد الملحي.

الهدف من الدراسة :

هدفت الدراسة الى تقييم كفاءة العامل الحيوي B. subtilis في تقليل التأثيرات السلبية الناتجة من زيادة تملح مياه الري لنخيل التمر (P. dactylifera) وكذلك التأثيرات الايجابية على الصفات المظهرية والفسيولوجية لها.

المواد و طرائق العمل:

تأثيرات التراكيز الملحية المستخدمة في نمو البكتريا *B. subtilis* مختبريا

جلبت مياه سقي من منطقةً أبي الخصيب وعدلت درجة الملوحة باستخدام كلوريد الصوديوم Nacl والماء المقطر للحصول على التراكيز الملحية (5 و10 و15) ديسيمينز م $^{-1}$ باستخدام جهاز التوصيل الكهربائي

نوع WTW بحسب الطريقة الموصوفة في (32) .حضرت الاوساط الغذائية Nutrient Agar(N.A) باستخدام التراكيز الملحية المذكورة اعلاه وقبل التعقيم استخدم الماء المقطر لضبط التراكيز الملحية اعلاه مرة ثانية عقمت الاوساط بجهاز المؤاصدة Autoclave على درجة 121 م^0 وضغط 1.2 سم^2 كغم$^{-1}$. بعد التعقيم وقبل ان تبرد الاوساط صب كل وسط في اطباق بتري معقمة (9سم) وقبل تصلب الوسط اضيف لكل طبق 1مل من التخفيف 10^{-6} من لقاح البكتريا *B. subtilis* المنمى على الوسط الزراعي السائل (Natrient Broth(N.B) (تم الحصول على عزلة البكتريا *B. subtilis* من المبيد الحيوي Bio Health انتاج الشركة الالمانية Humin Tech) وحرك الطبق حركة رحوية لنشر اللقاح وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز، حضنت الاطباق تحت درجة حرارة 35±1 م° لمدة 48 ساعة بعد ذلك حسبت اعداد المستعمرات البكتيرية في كل طبق حسب معادلة (10) وكالاتي:

(معدل اعداد البكتريا في 1 مل =معدل عدد المستعمرات النامية x مقلوب التخفيف)

تقييم كفاءة البكتريا *B. subtilis* في تقليل الاجهاد الملحي لماء السقي على فسائل نخيل التمر

احضرت شتلات نخيل ناتجة من زراعة بذور نخيل صنف حلاوي بعمر ثمان اشهر مزروعة في اصص بلاستيكية سعة 4 كيلوغرام تربة مزيجية قسمت الاصص الى ثمان معاملات وكل معاملة تحتوي على ثلاث سنادين ،تحتوي كل سندان (اص) على ثلاث فسائل ،وزعت المعاملات حسب الاتي:-

1- عاملة السيطرة بدون معاملة بلقاح البكتريا (نباتات تسقى بماء R.O قيمة الE.C (Electric conductivity) له تساوي صفر) A

2- نباتات معاملة بلقاح البكتريا *B. subtilis* فقط وتسقى بماء ري R.O ... B

3- ثلاث معاملات كل منها تسقى بماء ري قيمة الايصالية الكهربائية (EC) له 15,10,5 ديسيمينز م$^{-1}$ المعاملات C وD وE على التوالي .

4- ثلاث معاملات كل منها معاملة بالبكتريا و*B. subtilis* وتسقى بماء ري قيمة الايصالية الكهربائية له 5 و10 و15 ديسيمينز م $^{-1}$ المعاملات F و G و H على التوالي .

اضيف لقاح البكتريا *B. subtilis* بتركيز 6x10^6 وحدة تكوين مستعمرة.مل$^{-1}$ الى المعاملات التي تدخل البكتريا كعامل فيها وبعد 24ساعة تم سقي جميع المعاملات بماء الري المخصص لكل معاملة في كل مرة تحتاج فيها الى سقي واستمرت التجربة ثلاثة اشهر بعدها تم قلع النباتات بعناية واخذت القياسات التالية:-

1. الوزن الطري والجاف للمجموعين الخضري والجذري (غم).
2. طول المجموع الخضري والمجموع الجذري (سم).
3. تقدير كمية المادة الخضراء (الكلوروفيل) في اوراق شتلات النخيل .

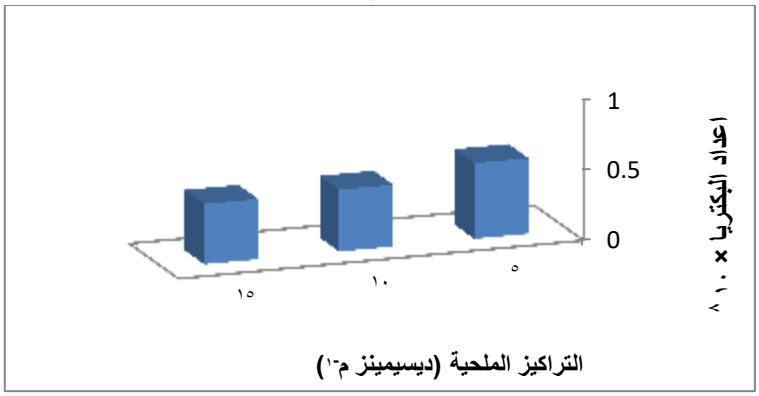
اخذت اوراق حديثة من شتلات كل معاملة وتم استخلاص الكلوروفيل من العينات وذلك بأخذ2 غرام من كل عينة وهرسها مع 5 مل من الاسيتون تركيز 80% وتركت لمدة 24 ساعة لاكمال عملية الاستخلاص بعدها

تم قراءة الكثافة الضوئية لكل عينة باستخدام جهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer على الطولين الموجيين 663 و645 نانومتر بعد ذلك قدر الكلوروفيل الكلي وفق ما ذكره (23) حولت الكميات من ملغم لتر$^{-1}$ الى ملغم غرام$^{-1}$.

النتائج والمناقشة:

تأثير التراكيز الملحية المستخدمة في نمو البكتريا *B.subtilis* في الوسط الزراعي مختبريا

اوضحت نتائج الاختبار (شكل1) قدرة البكتريا *B.subtilis* على النمو في الاوساط الزراعية المعاملة بالتراكيز الملحية 5و10و15 ديسيمينز م ^{1} دون اي تأثير في نموها حيث بلغ معدل(0.54 و 0.44 و0.43) × 10 ^{8} وحدة تكوين مستعمرة. ملتر$^{-1}$ على التوالي.



شكل 1: تأثير التراكيز الملحية المستخدمة في نمو البكتريا في الوسط الزراعي مختبريا.

ان نتائج هذا الاختبار تتفق مع نتائج العديد من الدراسات الاخرى التي اشارت الى قدرة البكتريا *B.subtilis* على النمو في التراكيز الملحية المرتفعة ،فقد بينKawasaki واخرون (19) بعد اختبار 12 عزلة تعود الى جنس البكتريا *Bacillus* وجد ان لهذه العزلات القدرة على النمو في الاوساط الزراعية التي تصل درجة الملوحة 10% Nacl (w/v) كذلك وجد ان لها القدرة على تحمل درجات الحرارة العالية، كما بين Meintanis واخرون(28) ان جميع سلالات جنس البكتريا *Bacillus* تستطيع التكيف على درجات الحرارة العالية وظروف الاجهاد .وفي تقرير نشر اظهر ان 97% من السلالات التي تعود الى جنس البكتريا *Bacillus* تكون متحملة لدرجات الحرارة العالية وظروف الاجهاد الاخرى (26).

تقييم كفاءة البكتريا *B.subtilis* في تقليل الاجهاد الملحي لماء السقي على فسائل نخيل التمر:

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي (شكل 2) تفوق معاملة السيطرة المعاملة بالبكتريا *B.subitils* على جميع المعاملات الاخرى وبفارق معنوي اذ بلغ معدل اطوال المجموع الخضري للنباتات فيها 46.33 سم تلتها معاملة السيطرة (بدون البكتريا) اذ بلغ معدل اطوال المجموع الخضري للنباتات 40.48 سم ،كما بينت النتائج تفوق المعاملات الملحية المعاملة بالبكتريا *B.subitils* على المعاملات الملحية غير المعاملة بالبكتريا وكانت معاملة البكتريا *B.subitils* +التركيز الملحي 5 ديسيمينز م$^{-1}$ متفوقة على جميع المعاملات الاخرى باستثناء معاملة البكتريا *B.subitils* +التركيز الملحي 10 ديسيمينز م$^{-1}$، اذ بلغ معدل اطوال المجموع الخضري في هاتين المعاملتين 36.05 و34.46 سم على التوالي وكان اقل معدل لأطوال

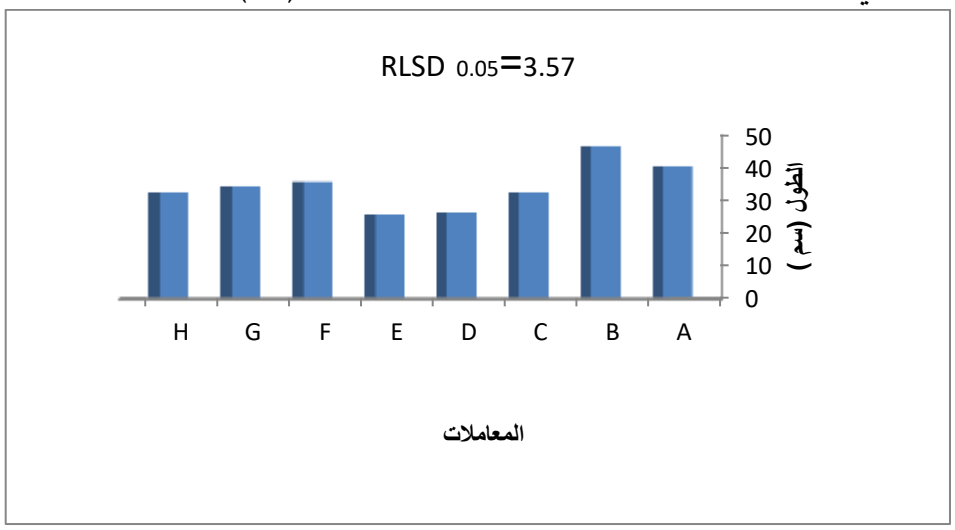
المجموع الخضري للنباتات في معاملة التركيز الملحي 10 و 15 ديسيمينز م$^{-1}$ اذ بلغ معدل الاطوال فيها 26.40 و 25.97 سم على التوالي.

كما اوضحت النتائج المبينة في شكل (3) تفوق معاملة السيطرة المعاملة بالبكتريا *B.subitils* على بقية المعاملات في معدل اطوال المجموع الجذري باستثناء معاملة السيطرة (الغير معاملة بالبكتريا) اذ بلغ معدل اطوال المجموع الجذري فيها 24.12سم و 22.42سم على التوالي .كما وادت المعاملة بالتركيز الملحي الى تقليل اطوال المجموع الجذري حيث بلغ اقل معدل لطول المجموع الجذري في معاملة التركيز الملحي 15 ديسيمينز م$^{-1}$ اذ بلغ 12.39سم .بينما ادت المعاملة بالبكتريا *B. subitils* الى زيادة في اطوال المجموع الجذري اذ تفوقت معاملة *B.subitils* +التركيز الملحي 5 ديسيمينز م$^{-1}$ على جميع المعاملات الملحية المعاملة وغير المعاملة بالبكتريا *B.subitils* ،اذ بلغ معدل اطوال المجموع الجذري فيها 19.32سم .كما اوضحت النتائج في الشكلين (4 و5) تفوق معاملة السيطرة المعاملة بالبكتريا *B.subitils* على بقية المعاملات في قياس وزن المجموعين الخضري والجذري الطري على بقية المعاملات باستثناء معاملة السيطرة (الغير معاملة بالبكتريا) اذ بلغ معدل الاوزان فيها 3.767غم و1.94غم على التوالي في حين كانت في معاملة السيطرة (الغير معاملة بالبكتريا)3.207.غم$^{-1}$ و1.86.غم$^{-1}$ على التوالي .كما وتفوقت المعاملات الملحية المعاملة بالبكتريا *B.subitils* على المعاملات الملحية الغير معاملة بالبكتريا *B.subitils* اذ بلغ معدل اوزان المجموع الخضري والجذري الطري في معاملة البكتريا *B.subitils*+ التركيز الملحي5 ديسيمينز م$^{-1}$ فيها 3.087 غم و 1.233غم على التوالي كما وبلغ اقل معدل وزن في معاملة التركيز الملحي 15 ديسيمينز م$^{-1}$ اذ بلغ 2.250غم و0.786غم على التوالي .كما كان للمعاملة بالبكتريا *B.subitils* دور كبير في زيادة اوزان المجموعين الخضري والجذري الجاف مما نتج عنه تفوق المعاملات المحتوية على البكتريا على المعاملات الملحية الغير معاملة بالبكتريا معنويا، اذ اشارة النتائج الموضحة في الشكلين (6 و7) الى تفوق معاملة السيطرة المعاملة بالبكتريا *B.subitils* على بقية المعاملات الاخرى باستثناء معاملة السيطرة (الغير معاملة بالبكتريا) اذ بلغ معدل الاوزان فيها 1.380غم و0.375غم على التوالي في حين بلغت في معاملة السيطرة (الغير معاملة بالبكتريا) 1.100غم و0.323غم على التوالي ،كما تفوقت المعاملات الملحية المعاملة بالبكتريا *B.subitils* على المعاملات الملحية الغير معاملة بالبكتريا .اذ تفوقت معاملة البكتريا + التركيز الملحي ديسيمينز م$^{-1}$ و بفارق معنوي عن بقية المعاملات اذ بلغ معدل وزن المجموعين الخضري والجذري الجاف 1.120غم و0.133غم على التوالي وبلغ اقل معدل وزن للمجموعين الخضري والجذري الجاف في معاملة التركيز الملحي 15 ديسيمينز م$^{-1}$ اذ بلغ 0.337غم و0.066غم على التوالي .

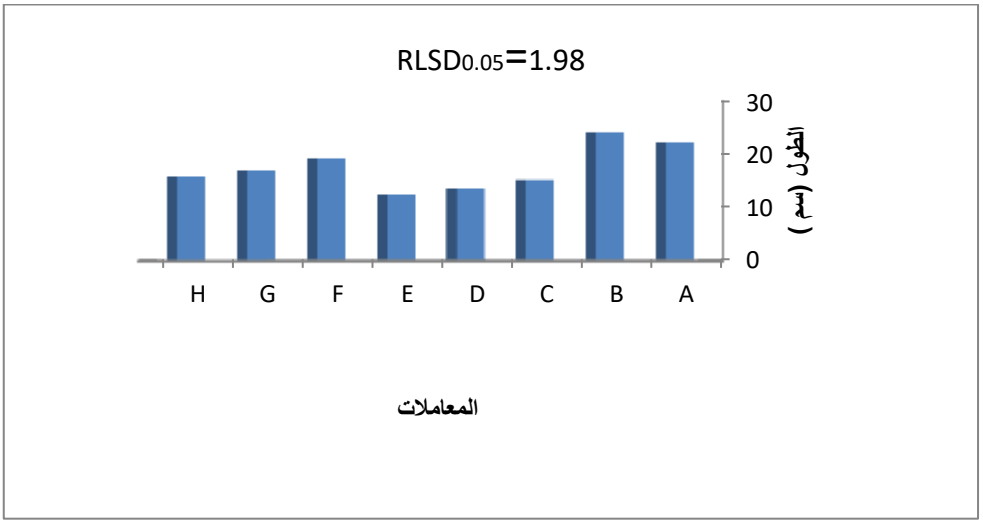
ان نتائج هذه الدراسة تتفق مع نتائج العديد من الدراسات التي اشارت الى ان استخدام بعض الاحياء المجهرية المنظمة لنمو النبات تعمل على زيادة قدرة النباتات على تحمل ظروف الاجهاد الملحي الناتج من ارتفاع نسب الاملاح في مياه الري وتحسين مؤشرات النمو المختلفة للنبات وتعتبر البكتريا *B.subitils* احد انواع البكتريا المنظمة لنمو النبات Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB)(6 و20) ان

التأثيرات المحسنة للبكتريا *B.subitils* في نمو النبات تحت ظروف الاجهاد الملحي تلاحظ في العديد من الدراسات التي اجريت على انواع من النباتات منها الحنطة *Triticum durum* (39) ونبات البراهمي *Bacopa monnier* (8) ونبات البزاليا *Ociumum basilicum* (18) اظهرت دراسة قام بها Mohamed و Gomaa (30) قدرة البكتريا *B.subitils* على تقليل التأثيرات السلبية للملوحة على نبات الفجل *Rhaphanus sativus* في البيوت البلاستيكية حيث لاحظ زيادة في الوزن الجاف للمجموعين الخضري والجذري وزيادة محتوى صبغة الكلوروفيل Chlorophyll وزيادة ايونات النتروجين والفسفور والبوتاسيوم والكالسيوم والمغنيسيوم الممتصة مقارنة بالنباتات غير المعاملة بالبكتريا تحت ظروف الاجهاد الملحي .ادت معاملة نبات البرسيم *Trifolium repens* L. بسلالة البكتريا *B.subitils* GBO3 الى تحسين جميع مؤشرات النمو المختلفة في النباتات المعاملة بالتركيز الملحية 150,100,50 مليموز سم$^{-1}$ وكذلك النباتات غير المعاملة بالتراكيز الملحية المذكورة وبفارق معنوي عن النباتات غير المعاملة بسلالة البكتريا المذكورة وفي كلا المعاملتين (35) ان الاليات التي تعمل بها البكتريا *B.subitils* عديدة تتم من خلال تنظيم نمو النبات في ظروف الاجهاد الملحي حيث تقوم بتشجيع تثبيت النتروجين من خلال عملية التعاضد بينها وبين البكتريا المثبتة للنتروجين في منطقة الجذور المتأثرة (Rhizosphere) كما ان لهذه البكتريا القدرة على تشجيع عملية تصنيع بروتينات Glycine و Proline betaine والذي يؤدي الى زيادة المحتوى المائي في الخلايا وهذا ينتج عنه زيادة قدرة النبات على تحمل الاجهادات الملحية العالية والتي تصل الى 150 مليموز $^{-1}$سم (43) كما ان للبكتريا *B.subitils* باعتبارها احد انواع البكتريا المنظمة لنمو النبات تستطيع في ظروف الاجهاد الملحي على تراكم التنافذيات Osomolytes وهي عبارة عن مواد غير بروتينية تلعب دور مهم في حماية الخلايا من ظروف الاجهاد (31) وجد Saleh واخرون (36) ان معاملة نباتات الطماطة بالبكتريا *B.subitils* تحت ظروف الاجهاد الملحي العالي قد قللت من التأثيرات السمية للملوحة وكما حسنت نمو النباتات وزيادة الحاصل مقارنة مع النباتات النامية في ظروف الملوحة العالية بمفردها . وفي دراسة قام بهاHan و Lee (15) وجد ان معاملة نباتات الفاصوليا بأنواع من البكتريا المنظمة لنمو النبات ومنها البكتريا *B.subitils* تنتج عنها ازدياد الوزن الطري والجاف في النباتات الغير معرضة للإجهاد الملحي والمعاملة بالبكتريا الى 10.9–11.0% بينما ازداد معدل هذه الصفات في النباتات المعاملة بالبكتريا والمعرضة للإجهاد الملحي بنسبة 3.5–4.5% مقارنة مع النباتات غير معاملة بالبكتريا والاجهاد الملحي . كما وجد Vivas واخرون (41) ان معاملة نباتات الخس المعرضة للإجهاد الملحي بالبكتريا *B.subitils* ادى الى تحسين نمو النبات مقارنة بالنباتات المعرضة للإجهاد الملحي فقط. وفي دراسة قام بها Patil(33) وجد ان نباتات الذرة *Zea mays* المعاملة بالبكتريا *B.subitils* قد ازداد فيها طول المجموع الجذري والخضري بمقدار 11.50 و9.38 % على التوالي ، كما ازداد وزن المجموع الخضري والجذري بمقدار 20.9 و25.37 %على التوالي مقارنة بنباتات المقارنة تحت ظروف الاجهاد الملحي في كلا المعاملتين ان ملوحة التربة تؤدي الى زيادة انتاج جذور الاوكسجين الفعالة (ROS)

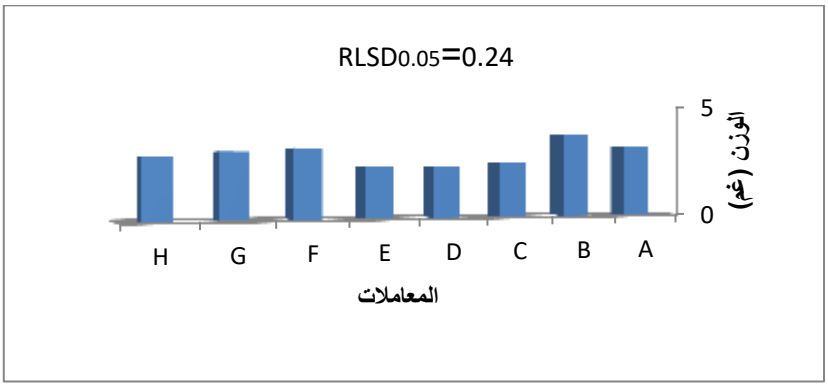
Reactive Oxygen Species في اوراق النبات والذي ينتج عنه اكسدة الدهون في الاغشية وتحللها وهذه تسبب زيادة في malondialdehyde (MDA) في الاوراق (21 و42) لذلك فان زيادة محتوى الاوراق من مادة MDA يكون مسؤول عن تحلل غشاء الخلية وتضرره وان قياس كمية MDA في الاوراق يستخدم في تقييم تحمل النباتات الى الملوحة والجفاف (24 و29) .وجد ان سلالة البكتريا *B.subitils* GBO3 تعمل على خفض كمية MDA في الاوراق في النباتات التي تتعرض الى ظروف الاجهادات الملحية العالية (25).



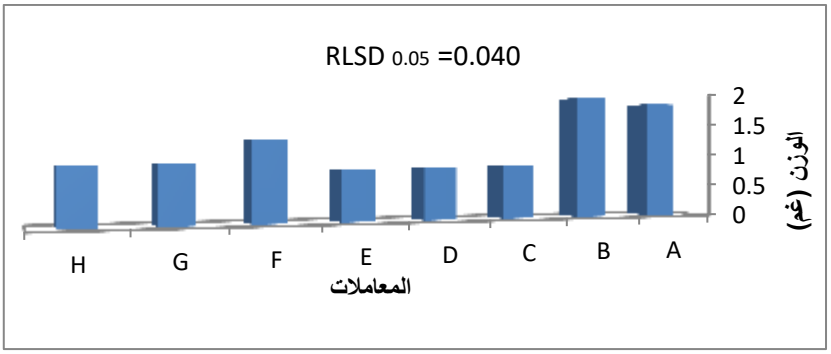
شكل2: تأثير كفاءة البكتريا *B.subitils* في تقليل الاجهاد الملحي لماء الري على معدل طول المجموع الخضري لفسائل نخيل التمر.



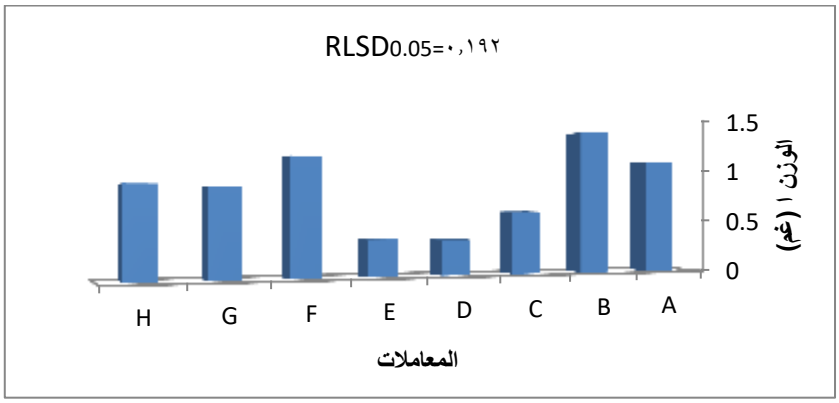
شكل 3: تأثير كفاءة البكتريا *B.subitils* في تقليل الاجهاد الملحي لماء الري على معدل طول المجموع الجذري لفسائل نخيل التمر.



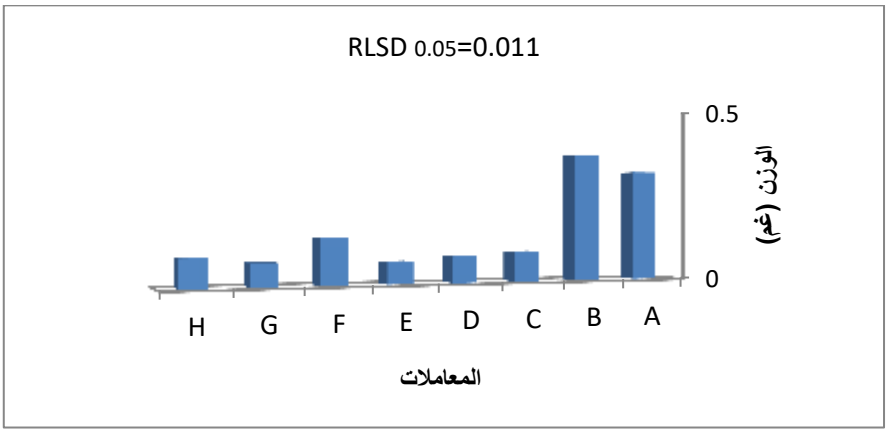
شكل4: تأثير كفاءة البكتريا *B.subitils* في تقليل الاجهاد الملحي لماء الري على معدل الوزن الطري للمجموع الخضري لفسائل نخيل التمر



شكل5: تأثير كفاءة البكتريا *B.subitils* في تقليل الاجهاد الملحي لماء الري على معدل الوزن الطري للمجموع الجذري لفسائل نخيل التمر



شكل6 : تأثير كفاءة البكتريا *B.subitils* في تقليل الاجهاد الملحي لماء الري على معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري لفسائل نخيل التمر

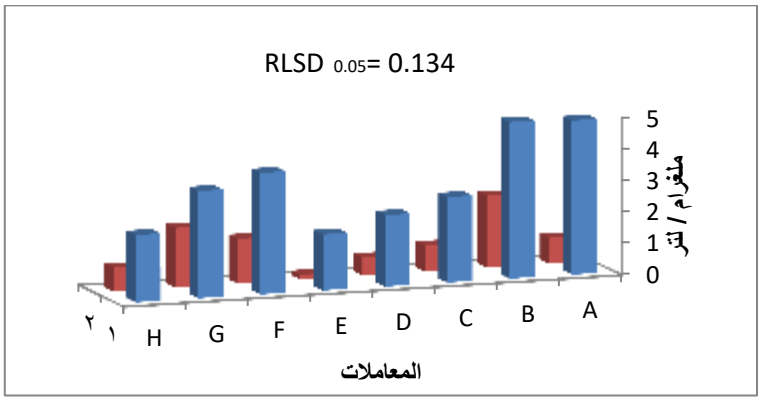


شكل7: تأثير كفاءة البكتريا *B.subitils* في تقليل الاجهاد الملحي لماء الري على معدل الوزن الجاف للمجموع الجذري لفسائل نخيل التمر

تقييم كفاءة البكتريا *B.subitils* في محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل :

اظهرت النتائج الموضحة في الشكل (8)انخفاض معنوي في معدل محتوى الاوراق من الكلوروفيل بتأثير الاجهاد الملحي في المعاملات الملحية الغير معاملة بالبكتريا *B.subitils* مقارنة مع المعاملات الملحية المعاملة بالبكتريا ، حيث بلغ اقل محتوى للكلوروفيل (A) و(B) في معاملة التركيز الملحي 15ديسيمينز م$^{-1}$ ،اذ بلغت 0.15 اما افضل المعاملات في زيادة محتوى الكلوروفيل فكان في معاملة السيطرة المعاملة بالبكتريا *B.subitils* حيث بلغ هذا المحتوى 5.404و 2.293 لكل من الكلوروفيل B وA على التوالي في حين بلغ محتوى الاوراق من صبغات الكلوروفيل B,A في معاملة السيطرة (بدون البكتريا) 4.917 و 1.848 على التوالي.

ان المعاملة بالبكتريا *B.subitils* ادى الى زيادة محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل في المعاملات الملحية حيث بلغ هذا المحتوى من الصبغة في معاملة البكتريا *B.subitils* +التركيز الملحي 5 ديسيمينز م$^{-1}$ 3.871 و1.434 لكل من الكلوروفيل B وA على التوالي .اوضحت الدراسة ان المعاملات الملحية قد خفضت محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل مقارنة بالنباتات في المعاملات غير الملحية او المعاملات الملحية المعاملة بالبكتريا *B.subitils* وهذه النتائج تتفق مع نتائج دراسات الاخرى اشارت الى ان صبغات التركيب الضوئي تنخفض تحت تأثير الاجهاد الملحي(3 و16) .ان نمو النباتات تحت ظروف الملوحة العالية ينتج عنه انخفاض محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل والمادة الجافة مقارنة مع النباتات الغير معرضة الى ظروف الاجهاد الملحي وهذا يعود الى اكسدة الكلوروفيل Chlorophyll peroxidation (5 و 25و 38) وجد Zhang واخرون (43) ان سلالة البكتريا *B.subitils* GBO3 تزيد من فعالية عملية التركيب الضوئي من خلال زيادة محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل في النبات Arabidopsis كما وتم الحصول على النتيجة نفسها في نبات البرسيم *White clover* المعامل بسلالة البكتريا *B.subitils* GBO3 تحت ظروف النباتات المعرضة للإجهادات الملحية العالية والنباتات غير المعرضة للإجهاد وذلك من خلال زيادة محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل (35) .



شكل8 : تأثير كفاءة البكتريا *B.subitils* في زيادة محتوى الاوراق من صبغة الكلوروفيل.

Refrences:

1. **Abd_Allah, E. F., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Bahkali, A. H., & Alwhibi, M. S. (2015)** Enhancing growth performance and systemic acquired resistance of medicinal plant Sesbania sesban (L.) Merr using arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. *Saudi journal of biological sciences* , *22* (3), 274-283.
2. **Alqarawi, A., Hashem, A., Abd_Allah, E., Alshahrani, T., and Huqail, A. (2014)** Effect of salinity on moisture content, pigment system, and lipid composition in Ephedra alata Decne. *Acta Biologica Hungarica*, *65*(1), 61-71.
3. **Barry C. S. (2009)** The stay-green revolution: recent progress in deciphering the mechanisms of chlorophyll degradation in higher plants. *Plant Science*, 176, 325–333**.**
4. **Bashan Y., Holguin ,G.,and Lifshitz ,R (1993)** Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria. In : Glick ,B.R.,Tand Thompson (ed). Methods in plant molecular biology and biotechnology : 331 CRC Press USA.
5. **Berg, G.,Alavi, M., Schmidt, C. S., Zachow, C.,Egamberdieva,D., Kamilova, F.,and Lugtenberg, B. J.(2013)** Biocontrol and osmoprotection for plants under salinated conditions. *Molecular microbial ecology of the rhizosphere*, *1*, 561-573.
6. **Bharti, N., Yadav, D., Barnawal, D., Maji, D., and Kalra, A. (2013)** Exiguobacterium oxidotolerans, a halotolerant plant growth promoting rhizobacteria, improves yield and content of secondary metabolites in (*Bacopa monnieri* L.) Pennell under primary and secondary salt stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *29*(2), 379-387.
7. **del Rosario Cappellari, L., Santoro, M. V., Nievas, F., Giordano, W., and Banchio, E. (2013)** Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied soil ecology*, *70*, 16-22.
8. **Clark, F. E. (1965)** Agar-Plate Method for Total Microbial Count 1. *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, (methodsofsoilanb), 1460-1466.

9. **Dey, R. K. K. P., Pal, K. K., Bhatt, D. M., and Chauhan, S. M. (2004)** Growth promotion and yield enhancement of peanut (Arachis hypogaea L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological research* , *159* (4) , 371-394.
10. **Diagne, N., Thioulouse, J., Sanguin, H., Prin, Y., Krasova-Wade, T., Sylla, S., ... and Lebrun, M. (2013)** Ectomycorrhizal diversity enhances growth and nitrogen fixation of Acacia mangium seedlings. *Soil Biology and Biochemistry*, *57*, 468-476.
11. **Diallo, H. (2005)** The role of date palm in combat desertification. *The date palm: from traditional resource to green wealth*, 13-19.
12. **Elsahookie, M. M., and Al-Khafajy, M. J. (2014)** Mechanism of plant salinity stress tolerance. *Iraqi journal of agricultural sciences*, *45*(5), 430-438.
13. **Food and agriculture organization (FAO) (2006)** Date palm irrigation. "http://www.fao.org/decrep/2006/Y4360eob.htm"eob.htm**.**
14. **Furr, J. R., and Armstrong, W. W. (1975)** Water and salinity problems of Abadan Island date gardens. *Date Growers Inst Rept*, *52*, 14-7.
15. **Han, H. S., and Lee, K. D. (2005)** Physiological responses of soybean-inoculation of Bradyrhizobium japonicum with PGPR in saline soil conditions. *Res J Agric Biol Sci*, *1*(3), 216-221.
16. **Alenazi, M. M., Egamberdieva, D. I. L. F. U. Z. A., and Ahmad, P. (2015)** Arbuscular mycorrhizal fungi mitigates NaCl induced adverse effects on Solanum lycopersicum L. *Pak. J. Bot*, *47*(1), 327-340.
17. **Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I. (2010).**Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of microbiology*, *60*(4), 579-598.
18. **Heidari, M., Mousavinik, S. M., and Golpayegani, A. (2011)** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) effect on physiological parameters and mineral uptake in basil (Ociumum basilicm L.) under water stress. *ARPN J Agric Biol Sci*, *6*(5), 6-11.
19. **Kawasaki, Y., AOKI, M., MAKINO, Y., SAKAI, H., TSUBOI, Y., UEDA, J., ... and KUROSAWA, N. (2011)** Characterization of moderately thermophilic bacteria isolated from saline hot spring in Japan. *Microbiology Indonesia*, *5*(2), 2.
20. **Kloepper, J. W., Ryu, C. M., and Zhang, S. (2004)** Induced systemic resistance and promotion of plant growth by Bacillus spp . *Phytopathology* , *94*(11), 1259-1266.
21. **Koca H., Ozdemir F., Turkan I. (2006)** Effect of salt stress on lipid peroxidation and superoxide dismutase and peroxidase activities of *Lycopersicon esculentum* and L. pennellii. Biology Plant. 50, 745–748.
22. **Lauchli,A.,andLuttge,N.(2004)**Salinity:Environmment-plants-Molecules.Kluwer Academic Pobleshed.pp:552.
23. **Lichtenthaler,H.K.(1987)** Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembrace . Methods Enzymology ,148: 350- 382.

24. **Luna C., Seffino L. G., Arias C., Taleisnik E. (2000)** Oxidative stress indicators as selection tools for salt tolerance in *Chloris gayana*. Plant Breeding 119, 341–345**.**
25. **Lunde C., Drew D. P., Jacobs A. K., Tester M. (2007)** Exclusion of Na+ via sodium ATPase (PpENA1) ensures normal growth of *Physcomitrella patens* under moderate salt stress. Plant Physiology, 144, 1786–1796.
26. **Malkawi, H. I., and Al-Omari, M. N. (2010)** Culture-dependent and culture-independent approaches to study the bacterial and archaeal diversity from Jordanian hot springs. *African Journal of Microbiology Research*, *4*(10), 923-932.
27. **Marques A. P., Pires C., Moreira H., Rangel A. O., Castro P. M. (2010)** Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using Zea mays as indicator plant. Soil Biological Biochemical, 42, 1229–1235**.**
28. **Meintanis C, Chalkou KI, Kormas K.A. (2008)** Application of rpo B sequence similarity analysis,REP-PCR and BOX-PCR for the differentiation of species within the genus Geobacillus.Lett Application Microbiology, 46:395-401.
29. **Miao B. H., Han X. G., Zhang W. H. (2010)** The ameliorative effect of silicon on soybean seedlings grown in potassium-deficient medium. Annoul Botony, 105, 967–973**.**
30. **Mohamed, H.I. and EZ. Gomaa,(2012)** Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. Photosynthetic, 50: 263-272.
31. **Nan Yana, b, Petra Marschnerc, Wenhong Caoa, b, Changqing Zuoa, b, Wei Qina, (2015)** Influence of salinity and water content on soil microorganisms.International Soil and Water Conservation Research (3): 316-323.
32. **Page , A. L. R. H. Miller and D. R. Keeney (1982)** Methods of Soil Analysis.
33. **Parida, A.K., A.B. Das, B. Mittra and P. Mohanty (2004)** Salt stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove Bruguiera parviflora. Zymology Naturforsch., 59: 408-414.
34. **Patil, V.S.(2014)** *Bacillus subtilis* : A Potential salt tolerant phosphate solubilizaing bacterial agent .International Journal Life Science Botony and Pharmacy Research, 3(2):141-145.
35. **Qing-Qing Han,1,† Xin-Pei Lü,1,† Jiang-Ping Bai,2 Yan Qiao,2 Paul W. Paré,3 Suo-Min Wang,1 Jin-Lin Zhang,1,* Yong-Na Wu,1 Xiao-Pan Pang,1 Wen-Bo Xu,1 and Zhi-Liang Wang1.(2014)** Beneficial soil bacterium *Bacillus subtilis* (GB03) augments salt tolerance of white clover. Frontiers in Plant Science, 5:525-538.
36. **Saleh, S.A., H. Heuberger and W.H. Schnitzler, (2005)** Alleviation of salinity effect on artichoke productivity by *Bacillus subtilis* FZB24, supple-

mental Ca and micronutrients. *Journal Application Botony Food Quality* , 79: 24-32.

37. **Spaepen, S., J. Vanderleyden and Y. Okon.(2009)** Plant growth promoting actions of rhizobacteria. Advanced Botony Research , 51: 283-320.
38. **Tuna A. L., Kaya C., Higgs D., Murillo-Amador B., Aydemir S., Girgin A. R. (2008)** Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. Environment Experimental Botony, 62, 10–16**.**
39. **Upadhyay, S.K., J.S. Singh and D.P. Singh. (2011)** Exopolysaccharide-producing plant growth promoting rhizobacteria under salinity condition. *Pedosphere*, 2:214-222.
40. **Van Hulten M., Pelser M., van Loon L. C., Pieterse C. M., Ton J. (2006)** Costs and benefits of priming for defense in Arabidopsis. Proceeding National Academic Sciences, U.S.A. 103, 5602–5607 .
41. **Vivas, A., A. Marulanda, J.M. Ruiz-Lozano, J.M. Barea and R. Azcon, (2003)** Influence of a Bacillus sp.- on physiological activities of two arbuscular mycorrhizal fungi and on plant responses to PEG fixation induced drought stress. Mycorrhiza, 13: 249-256.
42. **Yazici I., Tuerkan I., Sekmen A. H., Demiral T. (2007)** Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. Environmental Expermintal Botony, 61, 49–57 .
43. **Zhang H., Kim M. S., Sun Y., Dowd S. E., Shi H., Paré P. W. (2008)** Soil bacteria confer plant salt tolerance by tissue-specific regulation of the sodium transporter HKT1. Moleculer Plant Microbe Interaction, 21, 737–744 .