توصيف ميكروبيولوجي وبيوكيمياوي لعزلات الجنس Azospirillum Sp.

بالعلاقة مع الريزوسفير للمحصول

د.علي امرير* م. أحمد عواد** د.حسن حمادي***

*قسم التربة واستصلاح الأراضي، كلية الزراعة – جامعة الفرات
**طالب دراسات عليا (دكتوراه)، كلية الزراعة – جامعة الفرات
***قسم علوم الحياة ، كلية العلوم– جامعة حلب

الملخص

في تجربة مخبرية جرى عزل (13)عزلة من منطقة الريزوسفير لمجموعة من المحاصيل بهدف دراسة علاقتها البيوكيمياوية مع النبات والتوصيف الميكروبيولوجي للعزلات الثلاثة عشرة من الجنسAzospirillum Sp توزع إلى (8)عزلات تابعة للنوع Azospirillum lipoferum و(5) عزلات تابعة للنوعAzospirillum brasilens وفي الاختبارات البيوكيمياوية أبدى النوع Azospirillum lipoferum ايجابية لاختبار تخمر الريبوز ، اختبار تخمر المانيتول ، اختبار إنتاج الحموضة ، واستخدام البيوتين) أما النوع Azospirillum brasilensفقد أظهر سلبية لاختبار تخمر الريبوز ، اختبار تخمر المانيتول ، اختبار إنتاج الحموضة، واستخدام البيوتينكما تبين أن لاعلاقة أو ارتباط بين النوع الجرثومي ومصدر الكربون (حمض المالك السكسونيك ،اللاكتيك ، الأوكزاليك.) وأن غالبية العزلات كانت استجابة نموها عالية عند استخدام حمض المالك ، يليها حمض السكسونيك ثم اللاكتيك ، وأضعفها حمض الأوكزاليك . كما أظهرت العزلات التابعة للنوعA:ospirilum lipoferum أنها منتجة للحموضة وتميل إلى تغيير درجة الوسط بالمتوسط نحو الدرجة (46.5 – 94.4) بعكس العزلات التابعة للنوع Azospirillum brasilens فهي غير قادرة على هذا التغيير

كلمات مفتاحية :عزلاتAzospirillum Sp. ، منطقة الجذر (Rhizospher) ، توصيف بيوكيمياوي

المقدمة :

تتميز أغلب الأحياء الدقيقة في التربة بعلاقة قوية مع جذور النباتات ، فهي إما ترتبط معها تكافلياً كما في جذور البقوليات (Barber 1976) و أو تتواجد على سطح الجذور أو في منطقة الريزوسفير أو داخل أنسجة الجذر للنبات المضيف0(DÖBEREINER. J 1988 , Baldani 1980 , Bashan 1988 &Levanony, H ,y .,Holt,J.Krieg1994)إذ البكتريا تحصل على المغذيات الضرورية لنكاثرها وبقائها من النبات ويستفيد منها بسبب انتاجها للهرمونات التي تعمل على زيادة حجم الجذورالتي تسمح بتحسين تغذية النبات(BACON.A .A 2012 , Vessy.JK 2003 .T .HILL, W1983 , Taha) يطلق على هذه المكروبات المصطلح(PGPR)(ويعني البكتريا المحفزة للنمو Plant growth Promoting rhizobacteria ويعد العالم الأمريكيKloepper 1978 اول من اطلق هذا المصطلح على مجموعة الأحياء الدقيقة(FALLIK 1989 , Gamo 1989)

التي تتواجد وتعيش في منطقة (Gamo 1991 , HOREMANS 1986 , Vessy 2003) المحيط الجذري لجذور أي نوع نباتي ولها القابلية على زيادة نمو وتحسين مواصفات إنتاج ذلك النبات الذي تتعايش في منطقة محيطه الجذري، والتي أكدت أغلب البحوث على أهمية تلك الكائنات في استحثاث نمو النبات وتنظيم مستوى جاهزية العناصر الصغرى والكبرى في التربة وكذلك في المحيط الجذري لمنطقة الجذر(Bashan1997 ,Dobereiner 1976.Balani 1983 , Balani 1996)

لذا فقد استخدمت هذه الأحياء في كثير من التجارب والبحوث كأسمدة حيوية أو لقاحات حيوية لها دور في انتاج بعض مواد الإستقلاب ولأنزيمات والهرموناتإضافة إلى زيادة قدرة امتصاص الماء وإيقاف بعض المسببات المرضية للنبات(Mohammed 2011 , Taha T.A .2012)

وتعد بكتريا ال Azospirillum sp. من أكثر الأجناس البكتيرية التي حققت تأثيراً إيجابياً فيإنتاج المحاصيل حين استخدامها كلقاح حيوي(Taha T. Vessy 2003 , A 2012)، ويعزى ذلك إلى زيادة تثبيت النتروجين وزيادة امتصاص إيونات النترات والبوتاسيوم والفوسفور(New .B , and Kennedy 1989. KOSSLAK 1983) وذلك بسبب تطور المجموع الجذري للنبات ونتيجة الإفرازات الهرمونية لبكتريا Azospirillum sp المشجعة لنمو النبات مثل الأوكسينات

ومن هنا تأتي أهمية هذه الدراسة ، في تحديد الربط الحيوي لهذه الجراثيم مع بعض جذور المحاصيل من خلال تحديد بعض المؤشرات الميكروبيولوجيةوالحيوية (الانزول اسيتيك اسيد وبعض الحموض الامينية) وفقا للنوع البكتيري ، ودراسة فعالية السلالة البكتيرية التابعة للنوع المعزول في زيادة التغذية الازوتية لمحصول الذرة الصفراء بهدف تعزيز دور الميكروبات في التغذية النباتية والاقلال ما أمكن من استخدام الأسمدة الكيمياوية .

- **أهمية البحث :**

- تأتي أهمية هذه الدراسة في تحديد الربط الحيوي لبكتريا Azospirillum Sp. المتواجدة بشكل طبيعي في منطقة الريزوسفير لبعض محاصيل الخضر والحقل والأعشاب، بهدف تعزيز دور الميكروبات في التغذية النباتية

- **الهدف من البحث :**

1- عزل أهم أنواع Azospirillum Sp. المتواجدة في منطقة Rhizospher لبعض محاصيل الحقل والخضر في محافظة دير الزور، والحصول على عزلات من هذه البكتريا

2- توصيف أولي ميكروبيولوجي وبيوكيميائي لهذه العزلات

- **مواد وطرائق العمل :**

1- جمع عينات التربة البيولوجية: لقد تم جمع عينات التربة من منطقة انتشار الجذر(Rhizospher) لبعض المحاصيل الحقلية والخضر الصيفية والشتوية ، في محافظة دير الزور واستبعاد التراب من بين الجذور(بطريقة الهز للجذر) وجمع التربة الملتصقة بالجذور مباشرة بواسطة شفرة معقمة وهي التي يتم منها العزل البكتيري

2 – العزل البكتيري: للحصول على عزلات بكتيرية من الجنسAzospirillum sp. جرى وفق مرحلتين :

- المرحلة الأولى(الإثراء الأولي) التنمية في بيئة غذائية سائلة (بيئة الماليك)خالية من مصدر للنتروجين بهدف استبعاد جميع الأنواع الغير قادرة على تثبيت الأزوت الجوي وإثراء نمو مثل هذه الأجناس

- المرحلة الثانية : وفي هذه المرحلة يؤخذ (1 ml)من مستخلص المرحلة الأولى وفق طريقة روبرت كوخ للتخفيف والصب في الأطباق على التخفيف (1:100000)وباستخدام البيئة الغذائية التخصصية (بيئة الماليك) المعلبة المحتوية على التالي :

- 02 g ،0 ، 1 g Nacl.0 ، 7H2O .20 g MgSO4 .0 ، 5g Malic Acid ،0 g KH2PO4.5 H2O .1ooo ml، 3 g KoH.4، 4H2O.01g MnSo4 .0 ، 5g.7H2O 0.FeSO4، Cacl2

- الاختبارات العامة للجنس Azospirillum :

أ- الفحص الميكروسكوبي (صبغة جرام ، الشكل المورفولوجي)

ب- اختبار الكتالاز – التأزت

- الاختبارات التفريقية بين النوعين Azospirilum lipoferum ، Azospirilum brasilense:

أ-اختبار البيوتين :وفي هذا الإختبارقسمت البيئة الغذائية إلى قسمين :

- قسم يحتوي على البيوتين (محلول تركيز 5 ملغ/لتر ويضاف بمعدل 1ml/100ml بيئة غذائية) وهو خاص لعزل النوع Azospirilum lipoferum

- قسم لايحتوي على البيوتين وهو خاص لعزل النوع Azospirilum brasilense

ت- اختبار تخمر الريبوز- اختبار تخمر المانيتول – اختبار انتاج الحموض

ث- دراسة تأثير مصدر الكربون فقط يستبدل حمض الماليك في حمض آخر(أوكزاليك أو سكسونيك أو لاكتيك) عند تشكيل البيئة الغذائية

- **التحليل الإحصائي :**

استخدم تحليل التباين Analyses of Variance باستخدام برنامج Statical Analysis System Institute (SAS), (1989) لتقدير قيمة أقل فرق معنوي (D.S.L.)

- **النتائج والمناقشة :**

إن الهدف الأساسي لهذا البحث هو تسليط الضوء على انتشار الجنس Azospirillum في منطقة الريزوسفير لأهم محاصيل الخضر والحقل في محافظة دير الزور، وهذا استوجب جمع عينات مختلفة وفقاً لمخطط البحث بهدف عزل اكبر عدد من العزلات يمكن أن تحقق طيف واسع من التنوع الحيوي لهذا الجنس البكتيري الهام في التغذية النتروجينية لكثير من النباتات وقد استغرق الحصول على العزلات تحضير ميكروبيولوجي بدأ بعملية العزل بطريقة التخفيف والصب في الأطباق ،واستخدام بيئة غذائية سائلة خالية من النتروجين ، بهدف استبعاد جميع الأجناس البكتيرية التي ليس لديها القدرة على تثبيت الأزوت الجوي بطريقة حرة أو شبه تكافلية ، ثم أخذ (1 ml) من هذه النموات البكتيرية المختلطة وتنميتها على بيئة الماليك المتخصصة لتنمية الجنسAzospirillum sp. حيث تم اختبار مورفولوجي لأهم المستعمرات الدالة افتراضاًعلى هذا الجنس وكانت النتائج على الشكل التالي:

1- المواصفات المورفولوجية للمستعمرات المعزولة من حيث القوام (دهني لزج)، واللون كريمي ، ، ذات حواف منتظمة " تميل للإحمرار مع تقدم عمر المستعمرة

2- الفحص الميكروسكوبي :تم صبغها بصبغة حرام فكانت (سالبة – حمراء) وأبدت شكلاً ملتوياً حلزونياً صغيراً طولها أكثر من (1-2 ميكرومتر) وشكلاً واوياً صغيراً (1 ميكرومتر) وهذه النتائج تتوافق ونتائج (Dobereiner 1978) .

3- التمييز بين أنواع الجنس: تم وفقاً لمحتوى البيئة الغذائية من البيوتين للفصل بين العزلات البكتيرية إلى نوعين هما النوع Azospirilum lipoferum الذي يحتاج لنموه في بيئة الماليك إلى البيوتين ، والعكس بالنسبة للنوع Azosprillum brasilens الذي لايحتاج لنموه البيوتين(DE:- POLLI1980 HARTMAN 1995 . Tarrand JJ,N.R.Krieg1978.)وهذا جاءت نتائج الجدول(1) أولى نتائج العزل الجرثومي والتي تؤكد أن العزلات التي تم عزلها من منطقة الريزوسفير لكل من القمح ،الشعير، الخيار، البصل ، الفجل، البطاطا ، الشوندر تتبع للنوع Azospirilum lipoferum أما العزلات التي تم عزلها من منطقة الريزوسفير لكل من الذرة ، البندورة ، الكوسا ، الباذنجان ، والقطن تتبع للنوع Azosprillum brasilens وهذه التابعية ليس لها أية دلالة بيئية معينة تحتم هذا الإرتباط في نتائج هذه التجربة ولايمكن القول إلا الإحتمال الإحصائي أو الصدفة "لأن اثبات ذلك يحتاج إلى دراسة بيومزيئية تدلل على مفاتيح التقارب (

بروتينات نوعية ، محفزات نمو متبادلة ،عوامل بيئية ، تطابق وراثي جزئي في الحوضة الوراثي للنوعين و .... إلخ)بين النوع البكتيري والنوع النباتي

	قمح	شعير	ذرة	خيار	بندورة	بصل	فجل	بور	بطاطا	شوندر	كوسا	بالنجان	فلفل
Azospirilum lipoferum	+	+		+		+	+	+	+	+			
Azospirilum brasilense			———		———			-			———	———	———

الجدول (1) : توزيع عزلات الجنس Azospirillum Sp وفقاً لمحتوى بيئة النمو من البيوتين Lipoferum . Az و brasilense.Az واستمراراً لعملية التوصيف كان لابد من إجراء بعض الإختبارات التفريقية (على مستوى الجنس، والنوع) والجدول (2) يبين بعض الإختبارات البيوكيمياوية التفريقية على مستوى الجنس والنوع البكتيري Azospirillum sp. ولدى استقراء نتائج هذا الجدول نجد أن أنواع الجنس Azospirillum sp. أظهرت إيجابية لإختبار الكاتالاز وسلبية لإختبار النأرت وهما اختباران تفريقيان على مستوى الجنس ، أما بالنسبة للإختبارات الأربعة الباقية (تخمر الريبوز ، تخمر-المانيتول ، انتاج الحمض ، وأخيراً البيوتين) نستنتج التالي

- أن النوع Azospirilum lipoferum : أبدى إيجابية لاختبار تخمر الريبوز ، اختبار تخمر المانيتول ، اختبار إنتاج الحموضة ، واستخدام البيوتين)
- أن النوع Azospirillum brasilens : أبدى سلبية لإختبار تخمر الريبوز ، اختبار تخمر المانيتول ، اختبار إنتاج الحموضة ، واستخدام البيوتين وهذا يتفق ونتائج (Krieg.N.R.1984

	كاتالاز	نأرت	تخمر الريبوز	تخمر المانيتول	إنتاج حمض	البيوتين
قمح-Lipoferum .Az	+	-	-	+	+	+
شعير-lipoferum .Az	+	-	-	+	+	+
ذرة-brasilense.Az	+	-	-	-	-	-
خيار-lipoferum .Az	+	-	+	+	+	+
بندورة-brasilense.Az	+	-	-	-	-	-
بصل-lipoferum .Az	+	-	+	+	+	+
فجل-lipoferum .Az	+	-	+	+	+	+
بور-lipoferum .Az	+	-	+	+	+	+
بطاطا-lipoferum .Az	+	-	+	+	+	+
شوندر-Lipoferum .Az	+	-	+	+	+	+
كوسا-brasilense.Az	+	-	-	-	-	-
بالنجان-brasilense.Az	+	-	-	-	-	-
فلفل-brasilense.Az	+	-	-	-	-	-
نوع الإختبار	اختبار عائد لجنس Azospirillum	اختبار عائد لجنس Azospirillum	اختبار تفريقي للأنواع	اختبار تفريقي للأنواع	اختبار تفريقي للأنواع	اختبار تفريقي للأنواع

جدول(2) : بعض الإختبارات البيوكيمياوية التفريقية على مستوى الجنس والنوع البكتيري Azospirillum

بعد تمام الفصل بين نوعي الجنس المدروس كان لابد من دراسة تأثير مصدر الكربون في البيئة الغذائية في نمو النوعين البكتيريين المدروسين وذلك من خلال تقدير العكارة (نيفالومتري)المتشكلة نتيجة النمو تحت تأثير مصدر الكربون المدروس في كل معاملة وذلك من خلال تقديرها في جهاز Spectrophotometer وعلى طول موجة 620 نانومتر والجدول (3) يبين : تأثير مصدر الكربون في البيئة الغذائية السائلة في نمو عزلات Azospirillum Sp (قياس العكارة نيفالومتري عند طول موجة 620 نانومتر)

النوع الجرثومي	مصدر الكربون			
	حمض المالئيك	حمض الشكسونيك	حمض اللاكتيك	حمض الأوكزاليك
Lipoferum .Az-قمح	789.0	793.0	612.0	626.0
lipoferum .Az-شعير	841.0	778.0	717.0	581.0
brasilense.Az-ذرة	841.0	708.0	750.0	530.0
lipoferum .Az-خيار	781.0	768.0	560.0	505.0
brasilense.Az-بندورة	836.0	781.0	651.0	633.0
lipoferum .Az-بصل	855.0	833.0	731.0	611.0
lipoferum .Az-فجل	818.0	801.0	731.0	566.0
lipoferum .Az-فول	763.0	700.0	709.0	581.0
lipoferum .Az-بطاطا	833.0	853.0	620.0	618.0
Lipoferum .Az-شوندر	821.0	870.0	710.0	666.0
brasilense.Az-كوسا	803.0	770.0	671.0	603.0
brasilense.Az-باذنجان	822.0	800.0	606.0	536.0
brasilense.Az-قطن	808.0	819.0	703.0	569.0
%D S.S.L	022.0	027.0	041.0	032.0

الجدول (3) : تأثير مصدر الكربون في البيئة الغذائية السائلة في نمو عزلات Azospirillum Sp (قياس العكارة نيفالومتري عند طول موجة 620 نانومتر)

ومن خلال دراسة أرقام العكارة الدالة على كثافة النمو في هذا الجدول نجد أن هناك فروق في قيم العكارة بين العزلات النامية على مصدر واحد من الكربون وعلى وجه التحديد عند مقارنة قيم العكارة عند استخدام حمض المالئيك مصدر للكربون في البيئة الغذائية نجد أن هناك فروق معنوية بين العزلات لكن الإستنتاج الأوضح أن لافروق بين النوعين البكتيريين ومنه نستنتج أن لاعلاقة بين النوع ومصدر الكربون (حمض المالئيك) بل الأمر يتوقف على استجابة العزلة ذاتها بغض النظر لأي النوعين البكتيريين تتبع والنتيجة ذاتها نجدها عند استعمال باقي الأحماض العضوية الأخرى مثل السكسونيك ،اللاكتيك ، الأوكزاليك.

وأما عند مقارنة مستوى النمو(قياس العكارة) لأي عزلة بالعلاقة مع نوع الحمض المستخدم كمصدر للكربون في البيئة الغذائية نجد أعلى معدلات نمو كانت عند استخدام حمض الماليك وأقلها كانت عند استخدام الأوكزاليك وهذا استنتاج جديد يدل على أن غالبية العزلات كانت استجابة نموها عالية عند استخدام حمض الماليك وهذه النتائج تتفق ونتائج(DE – POLLI 1980 , DAZZO 1976)، يليها حمض السكسونيك ثم اللاكتيك ، وأضعفها حمض الأوكزاليك .

	درجة الحموضة الأساسية للبيئة الغذائية	متوسطدرجةالحموضة(ثلاث مكررات	% للحموضة المنتجة	تقييم العزلة بالنسبة للإنتاج الحمض
Az .Lipoferum-قمح	65.7	43.5	7.28	منتجة للحمض
Az .lipoferum-شعير	65.7	46.5	6.28	منتجة للحمض
Az.brasilense-ذرة	65.7	6,78	4.11	غير منتجة للحمض
Az .lipoferum-خيار	65.7	21.5	8.31	منتجة للحمض
Az.brasilense-بندورة	65.7	89.6	90.9	غير منتجة للحمض
Az .lipoferum-بصل	65.7	34.5	20.30	منتجة للحمض
Az .lipoferum-فجل	65.7	03,5	25.34	منتجة للحمض
Az .lipoferum-بور	65.7	9 8.4	20.35	منتجة للحمض
Az .lipoferum-بطاطا	65.7	94.4	42.35	منتجة للحمض
Az .Lipoferum-شوندر	65.7	43,5	02.29	منتجة للحمض
Az.brasilense-كوسا	65.7	87.6	20.10	غير منتجة للحمض
Az.brasilense-باذنجان	65.7	11.7	06.7	غير منتجة للحمض
Az.brasilense-قطن	65.7	66.6	94.12	غير منتجة للحمض

جدول (4) : تغيرات قيم الpH (الحموضة) لعزلات الجنس Azospirillum على أساس بيئة المانيتول

وفي تجربة مخبرية أخيرة تم تنفيذها بهدف التقدير النسبي للانخفاض في قيم الpH للبيئة الغذائية الدامية عليها كل عزلة وتصنيف العزلات الى سلالة منتجة للحموضة وأخرى غير منتجة للحموضة ، والجدول (4) يبين تغيرات قيم الpH (الحموضة) لعزلات الجنس Azospirillum على أساس بيئة المانيتول ، ومن خلال دراسة معطيات هذا الجدول نستنتج أن العزلات التابع للنوع Azospirilum lipoferum قد أنتجت الحموضة وكان هناك تباين في نسب الخفض بين هذه العزلات وكانت أعلى نسبة مئوية لخفض درجة الحموضة عند العزلة المعزولة من منطقة الريزوسفير لجذر نبات البطاطا والبالغة 42.35 % تلاها عزلات

البور والفجل، في حين أبدت العزلات التابعة للنوع Azospirillum brasilens عدم القدرة على تغيير درجة حموضة الوسط الأساسية والبالغة 65.7 إلا بنسب ضعيفة وهذه تتفق ونتائج
(MICROBIOL 1990 J.Bashan 1993 , CAN) قد تكون نتيجة التغيرات الحاصلة للبيئة الغذائية كون طريقة النمو هي طريقة مغلقة (أي أن نواتج الإستقلاب الناتجة عن نمو البكتريا في هذه البيئة تبقى داخل وسط النمو دون تجديد وهو سبب هذا الإنخفاض البسيط في درجة الحموضة والبالغ أخفض نسبة له عند العزلة المعزولة من منطقة الريزوسفير للبات الباذنجان .

إذا نستنتج أن العزلات التابعة للنوعAzospirilum lipoferum منتجة للحموضة وتميل إلى تغيير درجة الوسط بالمتوسط نحو الدرجة 94.4) - 46.5) بعكس العزلات التابعة للنوع Azospirillum brasilens فهي غير قادرة على هذا التغييروهذا يتفق ونتائج(AL – Maadhidi 1989)

وفي نهاية التوصيف المخبري الدقيق يكون البحث قد استقر على (13) عزلة من Azospirillum Sp فقط (8) تابعة للنوع Azospirilum lipoferum و(5) تابعة للنوعAzospirillumbrasilens والتي سوف يتم اختبارها في تجربة أصص وحقل ..

الإستنتاجات :

1- التوصيف الميكروبيولوجي للعزلات الثلاثة عشرة عزلة من Azospirillum Sp توزع إلى (8)عزلات تابعة للنوع Azospirilum lipoferum و(5) عزلات تابعة للنوع Azospirillum brasilens
2- أن النوع Azospirilum lipoferum : أبدى إيجابية لاختبار تخمر الزيلوز ، اختبار تخمر المانيتول ، اختبار إنتاج الحموضة ، واستخدام البيوتين) بعكس النوع Azospirillum brasilensالذي أبدى سلبية لهذه الإختبارات
3- أن لاعلاقة أو ارتباط بين النوع الجرثومي ومصدر الكربون (حمض المالك السكسونيك ،اللاكتيك ، الأوكزاليك.) بل الأمر يتوقف على استجابة العزلة ذاتها بغض النظر لأي النوعين البكتيريين تنتمي
4- أعلى معدلات نمو كانت عند استخدام حمض المالك يليها حمض السكسونيك ثم اللاكتيك ، وأضعفها حمض الأوكزاليك .
5- العزلات التابعة للنوعAzospirilum lipoferum منتجة للحموضة وتميل إلى تغيير درجة الوسط بالمتوسط نحو الدرجة (94.4 - 46.5) بعكس العزلات التابعة للنوع Azospirillum brasilens فهي غير قادرة على هذا التغيير

التوصيات :

1- التأكيد على أهمية الجنس البكتيري Azospirilum بنوعيه Azospirilum brasilense ، Azospirilum lipoferum كأنواع بكتيرية محفزة للنمو النباتي لمحصول الذرة الصفراء

2- إدخال مؤشرات قياس بيوكيمياوية أخرى مثل الأحماض الأمينية (الأرجنين والفينيل آلانين) في إظهار التباين بين العزلات البكتيرية لأنواع الجنس Azospirilum Sp ولما تبين لها يمكن أن يكون لها من دور تحفيزي (Promoter) ومناعي .

REFERENCES

1-AL-Maadhidi, J .F .1989 .Isolation and characterization of *Azospirillum* spp .From Iraq wheat cultivars .Journal of the University of Kuwait)Science .(Vol .16, pp.343-348.

2 -Baldani, V .L .D .& Döbereiner, J .1980 .Host plant specificity in the infection ofcereals with Azospirillum spp .Soil Biology and Biochemistry 12 :433-439

3-Baldani , V .L .D., Baldani, J .I .and Dobereiner,Effects of *Azospirillum* inoculation and nitrogen incorporation on root-infectionin wheat .Microbiol .29:924-929 .Can .J .)1983.(

4- BALDANI V.L.D .Efeito da inoculacaode Herbaspirillumspp .no Processo de colonizacao e infectiao de plants de arroze occorrencia e caracterizacao parcial de uma bacteriadiazotrofica .PhD thesis, UFRRJ, Seropedica, RJ .1996.

5 -Barber, L .E .and Evans, H .J .1976 .Characterization of anitrogen-fixing bacterial strain from roots of Digitaria sanguinalis .Canadian Journal of Microbiology22:254-260.

6-Bashan .y .&Levanony, H .1988 .Interaction between Azospirillum brasilense andwheat root cells during early stages of roots colonization .In Azospirillum IV.Proceedings of the 4th Bayreuth Azospirillum workshop .Ed .W .Klingmuller . pp13-173 Springer-Verag, Berlin, Heidelberg, Newyork, London, Tokyo.

7-Bashan, Y .and G .Holguin, 1997 .Azospirillum -Plant relationships :environmental and physiological advances)1990-1996 (Can .J .Microbial, 43, 103-121.

8-Bashan,Y.,Holguin,G .and Lifshitz,R) .1993 .(Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria .In" :Methods in plant Molecular Biology and Biotechnology.Glick,B.R., and Thompson)eds(CRC Press, Boca Raton .USA:331 .Co immobilization of *Azospirillum lipoferum* and *Bacillus megaterium* for Successful Phosphorus andNitrogen Nutrition of Wheat Plants

9-CAN .J .MICROBIOL .VOL .36, 1990 .Growth and survival of *Azospirillum lipoferum* in soil and rhizosphere as influenced by ecological stress conditions . *InAzospirillum* .Genetics, physiology, ecology .*Edited by* W.

10-DAZZO, F .B., and MILAM, J .R .1976 .Serological studies of *Spirillum lipoferum* .Soil Crop .Sci .Soc .Fla .Proc .35 :122-126.

11-DE-POLLI, H., BOHLOOL., B .B., and DÖBEREINER, J .1980.Serological differentiation of *Azospirillum* species belonging to different hostplant specificity groups .Arch .Microbiol .126 :217-222.

12-DÖBEREINER. J .1988 .Isolation and identification of root associated diazotrophs .Plant Soil, 110 :207-212.

13-DÖBEREINER, J., MARRIEL, I .E., and NERY, M .1976.Ecologicaldistribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck .Can .J .Microbiol .22:1464-1473.

14-Dobereiner,J) .1978 .(A taxanomic study of the *Spirillum lipoferum* groupwith descriptions of a new genus , Azospirillum gen .nov .and two species,*Azospirillum lipoferum*)Beijerink (comb .Nov .and *Azospirillum brasilense* sp . Nov.Can.J.Microbio. 24 :967-980.

15-FALLIK, E., OKON, Y., EPSTEIN, E., GOLDMAN, A., and FİSCHER, M.1989 . Identification and quantification of IAA and IBA in *Azospirillumbrasilense* - inoculated maize roots .Soil Biol. Biochem .21 :147-153.FANI, BUZZICALUPO, M., COLAMIZ, P., and POLSINELLI, M.1986 .Plasmid transformation of *A .brasilense* . FEMS Microbiol .Lett.35 :23-29.

16-Gamo , T .and Toriyama, S) .1989 .(Isolation of*Azospirillum spp* .from the roots ofgramineous plants and growth-promotingeffect .Bull .Nat .Inst . Agrobiol.Resource.5:37-58.

17-Gamo , T) .1991 .(*Azospirillum spp* .from croproot Apromotor of plant growth .J . A .R .Q.24:253-259.

18 -HARTMAN A, BALDANI J.I, KIRCHHOF G, ABMUS B, HUTZLER P., SPRINGER N, LUDWIG W, BAL DANI V.L.D, DOBEREINER J .Taxonomic and Ecologic studies of diazotrophic rhizosphere bacteria using phylogenetic probes .In :Azospirillum VI and related micro organisms)Ed :.I .Fendrik, M .del Gallo, J .Vanderleyden, M .Zamoroczy .(Springer -Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 415, 1995

19-HILL, W .A., BACON-HILL, P., CROSSMAN, S .M., and STEVENS, C. 1983 .Characterization of N2-fixing bacteria associated with sweetpotato roots .Can . J .Microbiol .29 :860-862.

20-HOREMANS, S., DE CONINCK, K., NEURAY, J., HERMANS, R., and VLASSAK, K .1986 .Production of plant growth substances by*Azospirillum* sp .and other rhizosphere bacteria .Symbiosis, 2 :341-346.

21-Holt , J., Krieg, N .R., Sneath, P.H .A., Staley, J .T.and Williams, S .T) .1994 .(Bergey's manualdeterminative bacteriology .9th)ed .(U .S .A.

22-KOSSLAK. R .M.,and BOHLOOL. B .B .1983 .Prevalence of*Azospirillum* spp .in the rhizosphere of tropical plants .Can .J.Microbiol.29 :649-652.

23-Krieg . N .R .and Dobereiner . J) .1984 .(Genus*Azospirillum* .In:Krieg,N.R .and Holt . J.G) .eds .(Bergey's manual of systematicBacteriology.Williams and Wilkins,Baltimore-London.Vol.1.PP.94-104.

24-Mohammed. N .S., Salih M .M .and Khalaf Y .S) :2011(Isolation and Characterization of *Azospirillum* spp .From Root Hairsof Some Barley Cultivars in Iraq Journal of the University of Kufa Vol .3. pp.87-91.

25-New . B .and Kennedy. R) .1989.(Regionaldistribution and pH sensitivity of*Azospirillum* associated with wheat roots ineastern Australia .Microb.Ecol.17.299-303.

26-Taha. T .A)2012 :(Use of *Azospirillum irakense* as bio fertilizer for sorghum)*Sorghum bicolor* L (.Basrah J .Agric .Sci.. 25)1 :(139-148

27 -Tarrand J.J ., N.R .Krieg. J .Dobereiner. A taxonomic studyof the Spirillum lipoferum group, with descriptions of a newgenus, Azospirillum gen nov .and two species, Azospirillumlipoferum)Beijerink (comb .nov .and Azospirillum brasilensesp . nov.. Can J .Microbiol .24)1978 (967–980

28- Vessy. J.K) .2003 .(Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers .Plant soil .255 :571-586.

Abstract

Microbiological and biochemical characterization the isolates of a genus, Azospirillumbelonging to the Rhizospher of crop

Ilaboratory experiment carried out is olakion for 13 isolakions from rhizospher zone to agroup of crops in aim to study its biochemical relations with plant and the microbiology description for the 13 isolations from genus azospirillum sp which are distributed to8 isolations joined to sort azospirillum lipoferum and5 isolations joined to sort azospirillum llum brasilens and in the biochemical experiences the sort azospirillum irillum lipoferum shi=ows apositirity to ihe experience of alrebos ferment,experience of mannitol ferment,experience of acidity production ,and biotionusing (but the sort azospirillum brasilens showed negativism to the experience of alrebos ferment. experience of mannition ferment ,experience of acidity production ,and biotin using as it shown that there is norelakion or connection between the bacterial sort and carbon s ource)maticaeid al saesonek,lactic ,and al okzalek(and most of isolations its growing reaet were high by using malicacid,following it alsaesonek acid and then lackic ,and the soft ofitll the aokzalsek acid.Asthe isolations joined to the sort azospirillum lipoferum showed that it is an wards94.4 degree-46.5(in contrast with the isolations joined to the sort azospirillum llum brasilens which is not able to this changeability.