الآيـــــة

قال تعالي:

(مَا يَفْتَحِ اللَّهُ لِلنَّاسِ مِن رَّحْمَةٍ فَلَا مُمْسِكَ لَهَا وَمَا يُمْسِكْ فَلَا مُرْسِلَ لَهُ مِن بَعْدِهِ وَهُوَ الْعَزِيزُ الْحَكِيمُ)

صدق الله العظيم

{سورة فاطر الآية (2) }

الإهـــداء

إليها أمسك قلمي وأنظم الشعر

إبتسامة حياتي وضياء دربي

ونور عيني رؤية إبتسامتك

تجعلني أحيا من جديد

وأسطر الحان الحياة

أحبك يا أمي

إليك يا سندي في هذه الحياة

إليك يا من زرعت في طموحا

صار يدفعني نحو الامام

الي مستقبل ناجح

أحبك يا أبي

أي قلم سيجرؤ علي كتابة اسمائكم

حروفي وقفت أمامكم فأنتم

إخواني في نصحهم

أصدقائي في دعمهم

أحبابي في حنانهم

أنتم اخواني واخواتي واصدقائي

الذين لم ولن أفرط فيهم إبداً

الشكر والعرفان

وكم يكفيك فخراً فبين الناس فضلك قد تناها

فأنت لنا كنور الشمس بعلمك انت للدنيا سناها

للنجاحات أناس يقدرون معناه

وللإبداع أناس يحصدونه

الي من أعطي وأجذل

وارتوي علماً وثقافة

الي من ضحي بوقته

وجهده القيم

الي الدكتور الذي أشرف علي هذا البحث البروفيسور:

محمد أحمد الحاج حداد

منك تعلمت كيف يكون التفاني والإخلاص في العمل

ومنك تعلمت ان للنجاح قيمة ومعني

ومعك آمنت ان لا مستحيل

في سبيل الابداع والرقي

روحك المرحة

وصفاء قلبك

وعطاؤك القيم

هو عنوان إبداعك

الي الذي لم يبخل بوقته وبذل مجهوده لمتابعة هذا البحث الدكتور:

السموأل محمد ميرغني عثمان

فهرس الموضوعات

الموضوع	رقم الصفحة
الآية	أ
الإهداء	ب
الشكر والعرفان	ج
فهرس الموضوعات	د
ملخص البحث	1
الباب الأول: المقدمة	
1.1 المقدمة	2
2.1 أهداف البحث	4
الباب الثاني: الدراسات السابقة	
1.2 المخصبات الحيوية	6
2.2 أهم المخصبات الحيوية	7
1.2.2 المخصبات البكتيرية التي تذيب الفسفور	7
2.2.2 المخصبات التي تقوم بتثبيت الأزوت الجوي	8
3.2.2 المخصبات الحيوية التي تذيب الفوسفات	9
3.2 الجدوى الإقتصادية للمخصبات الحيوية	9
4.2 مقارنة بين التسميد الحيوي والكيميائي	10
5.2 العوامل المؤثرة على النمو البكتيري	11
1.5.2 المواد الغذائية	11
2.5.2 الأكسجين	11
3.5.2 الحرارة	12

4.5.2 تركيز أيون الهيدروجين	12
5.5.2 الضغط الإسموزي	13
6.5.2 الرطوبة والجفاف	13
7.5.2 الإشعاع	13
6.2 الكائنات المثبة للنتروجين	14
7.2 تقسيم الكائنات المثبتة للنتروجين	14
8.2 بكتيريا العقد الجذرية	15
1.8.2 تثبيت النترجين	16
2.8.2 التثبيت التكافلي للنتروجين	16
3.8.2 معوقات التثبيت التكافلي	17
9.2 المميزات الرئيسية لبكتيريا العقد الجذرية	17
1.9.2 العقدة	17
2.9.2 دور بكتيريا الرايزوبيوم في تثبيت النتروجين	18
10.2 البقوليات	18
1.10.2 الأهمية الغذائية للبقوليات	19
2.10.2 الأهمية الإقتصادية للبقوليات	19
3.10.2 دور البقوليات في تثبيت النتروجين	20
4.10.2 كيف يمكن للبقوليات زيادة خصوبة التربة	20
الباب الثالث: مواد وطرق البحث	
1.3 الأجهزة والأدوات	22
2.3 مصدر البكتيريا	22
3.3 الأوساط الزراعية	22

4.3 عزل البكتيريا من العقد الجذرية	23
5.3 إختبار النقاوة	23
6.3 التلقيح البكتيري	24
7.3 الملوحة	24
الباب الرابع: النتائج والمناقشة	
النتائج	26
المناقشة	26
الباب الخامس: التوصيات	
التوصيات	29
المراجع العربية	30
المراجع الأجنبية	31

ملخص البحث:Abstract

أجريت الدراسة بمعامل قسم علوم التربة والمياه في العام 2016-2017 وذالك لدراسة تأثير عدة تراكيز (1%-0.8%-0.6%-0.2%) من ملـــح NaCL لنمو بكتيريـــا Rhizobium Leguminosarum Viciae Faba مـــن خـــلال إضافتها الي وســـط مســـتخلص الخميـــرة Yeast Extract Mannitol Agar وملاحظة مدي نمو البكتيريا في التركيزات المختلفة مقارنة بمعاملة الشاهد حيـــث أظهرت البكتيريا معدلات نمو في كل التركيزات الملحيـــة ولكـــن التركيـــز 1% أعطي معدل نمو كثيف مقارنة بمعاملة الشاهد.

الباب الاول

1.1 مقدمة: Introduction

اهتم العلم المتقدم والدول الكبري خلال العقدين الاخيرين بالزراعة العضوية والزراعة الحيوية كمصطلحين يغطيان العديد من التقنيات التي استحدثت وجربت وطبقت في العديد من المراكز البحثية وذالك لان الدولة تهدف الي زيادة الرقعة الزراعية وزيادة انتاجية وحدة المساحة حتي يمكن سد الفجوة الغذائية ولقد حققت الدراسات المستخدمة اعلي انتاجية باستخدام الزاعة الحيوية والعضوية وهذان النظامان يحافظان علي الحد من استهلاك الكيماويات الزراعية وتعتبر الاسمدة والمخصبات الحيوية مصادر غذائية للنبات رخيصة الثمن بديلا عن الاسمدة المعدنية والتي لها الاثر في تلوث البيئة عند الاسراف في استخدامها وتنتج المخصبات كائنات حية دقيقة وتستعمل كلقاح حيث تضاف الي التربة الزراعية نثرا او بخلطها مع بذور النبات عند الزراعة ويجمع اللقاح الحيوي الكائنات الدقيقة المثبتة لنتروجين الهواء الجوي مما يرشد استهلاك الاسمدة المعدنية الآزوتية وكذالك المذيبة للفوسفات والميسرة للعناصر الصغري الموجودة بالتربة وخاصة الاراضي الجيرية وكذالك المنتجة للاحماض الامينية والسكريات والفيتامينات وايضا المنتجة للمضادات الحيوية لحماية الجذور النباتية من الاصابة بأعفان الجذور والذبول والمفرزة لمنظمات ومنشطات النمو والتي له ادور في تنظيم العمليات الكيموحيوية في النبات مما يساعد علي تعمق وانتشار الجذور فيزداد معدل التمثيل الضوئي.

تنتمي بكتيريا العقد الجذرية الي جنس بكتيريا Bacilus radicola التي سمت لاحقا باسم بكتيريا الرايزوبيوم Rhizobium تمتاز هذه البكتيريا بكونها هوائية، عضوية التغذية، غير مكونة للسبورات تستوطن التربة وتعرف افرادها بقابليتها علي تكوين عقد جذرية مثبتة للنتروجين الجوي علي جذور

العائلة البقولية وتمتاز بكونها عصوية الشكل سالبة لصبغة جرام تتواجد بشكل مفرد او بشكل ازواج وتتحرك بأسواط محيطية او قطبية وافضل نمو لها يكون في الاوساط الغذائية المعقدة وخاصة المحتوية علي مستخلص الخميرة ودرجة الحرارة المثلي لنموها تتراوح بين 25–30م وتستطيع الاستفادة من مدي واسع من المركبات الكربونية . vincent (1947) .

البقوليات احد اهم المحاصيل الحقلية التي تستخدم بذورها مباشرة او غير مباشرة او كعلف وهي فصيلة نبات من صف ثنائيات الفلقة تعد هذه الفصيلة من اهم الفصائل النباتية واكثرها ثراء من حيث التنوع ونظرا لكونها ذات قيمة غذائية عالية للانسان والحيوان، تتميز النباتات البقولية بتثبيت النتروجين الجوي من خلال شراكة تعايشية مع بكتيريا العقد الجذرية وبذالك فنباتات هذه الفصيلة تساهم في زيادة خصوبة التربة اضافة الي انتاجها من المادة الجافة وبفضل هذه الخاصية يمكن لنباتات الفصيلة البقولية ان تستعمل كسماد أخضر. منصور و آخرون (2005).

يعتبر الفول المصري Broad Bean من اهم المحاصيل البقولية التي تستجيب بدرجة كبيرة جداً الي التلقيح البكتيري ببكتيريا العقد الجذرية حيث يمكن للنباتات في حالة التلقيح البكتيري الناجح أن تحصل علي كل أو معظم إحتياجاتها من الأزوت الجوي بواسطة العقد الجذرية التي تتكون علي جذور النباتات. (المنظمة العربية للتنمية الزراعية) .

2.1 أهداف البحث:

يهدف البحث الي دراسة مدي تحمل بكتيريا الرايزوبيوم المعزولة من العقد البكتيرية لنبات الفول المصري لعدة مستويات من الملوحة.

الباب الثاني

الدراسات السابقة

الباب الثاني

الدراسات السابقة

Literature Review

1.2-المخصبات الحيوية:

كثر الحديث في الفترة الاخيرة عن المخصبات الحيوية و أهيمية استخدامها لحماية البيئة و الحفاظ على صحة الانسان و الحيوان و العودة الى ما يطلق علية الزراعة الآمنة بعيداً عن استخدام الكيماويات و العمل على انتاج أغذية خالية من الملوثات خاصةً و أننا سوف نواجه رفضاً عالمياً لمنتجاتنا الزراعية اذا وجدت بها متبقيات كيمائية .

المخصب الحيوي هو كائن دقيق يمكنه امداد النبات باحتياجاته الغذائية أو أنه كل الاضافات ذات الاصل الحيوي (اللقاحات الميكروبية) microbial incluants التي تقوم بإمداد النبات بإحتياجاته من العناصر الغذائية فمثلاً يمكن لهذه الكائنات أن تفرز مواد مشجعة و منشطة لنمو النبات كهرمونات مما ينعكس على نمو المحصول فتحول العناصر من صورها غير الميسرة الى صورة ميسرة للنبات (فسفور عضوي – فسفور معدني) .

المخصبات الحيوية لها مصادر ذاتية رخيصة للنبات اذا ما قورنت بالأسمدة الكيميائية و يتم انتاجها بعد اختيار الميكروب المناسب للغرض الذي سيتم اكثاره و انتاجه من أجله حيث يتم تنمية الميكروب على البيئة المناسبة ثم ينقل النمو لحامل مناسب وذلك تحت ظروف تعقيم لمنع تلوثه بميكروبات أخرى و تعتمد فكرة انتاج المخصبات الحيوية على ان التربة الزراعية مليئة بالميكروبات النافعة التي تعمل على زيادة خصوبتها و تحليل المواد المعقدة بها و امداد النبات بالعناصر الناتجة في صورتها الميسرة و الصالحة للامتصاص أيضاً تقوم

ميكروبات التربة بدوراً هاماً في الحفاظ على التوازن الغازي للغلاف الجوي كما تلعب دورها الحيوي الهام في تحليل المخلفات النباتية و الحيوانية و الآدمية و تقوم بتحليل ملوثات البيئة من كيماويات و مبيدات لتكتمل منظومة الحياة على كوكب الارض بالتالي تعود البيئة كحالتها الاصلية لذا يطلق على هذه الميكروبات أنها محركة للحياة و لولاها ما وجدت حياة على وجه الارض و استخدام مثل هذه المخصبات الحيوية يعمل على رفع كفاءة انتاجية الارض مع ضمان انتاج محاصيل خالية من المتبقيات السامة للكيماويات مما يجعلها آمنة للانسان والحيوان على حدٍ سواء .

2.2.أهم المخصبات الحيوية :

1.2.2.المخصبات البكتيرية التي تذيب الفسفور و تحوله لصورة معدنية و تنقسم الى :

أ. المخصبات التي تحتوي على البكتيرو خماسية :

و تحتوي هذه المخصبات على بكتيريا Bacillus phosphapicum megatherium var ذات الكفاءة العالية في تحويل فوسفات التربة غير الذائبة ثلاثية الكالسيوم الاحادي الصالح لامتصاص النبات نتيجة لافرازها الاحماض العضوية التي تقوم بإذابة الفوسفات غير الذائب و بذلك تفيد هذه المخصبات في خفض معدل التسميد الفوسفاتي الكيميائي 50% و بالتالي توفير تكاليفه و خفض معدل تلوث التربة و البيئة و المنتج مع زيادة الانتاج.

ب. المخصبات التي تحتوي على الميكوريزا :

تستخدم هذه المخصبات في المناطق الاستوائية و شبه الاستوائية تقوم هذه الفطريات الجذرية بدور الشعيرات الجذرية للعائل حيث تقوم بامتصاص المياه و الغذاء و الاملاح و هي تشجع جذور السائل على افراز الاحماض

العضوية و ثاني اكسيد الكربون كما تقوم هي بافراز انـــزيم الفوســـفاتيز و بالتالي تزيد من ذوبان الفسفور و جعله في صورة صالحة للنبات و يـــنجح استخدام الميكوريزا مع الاشجار الخشبية.

2.2.2 المخصبات الحيوية التي تقوم بتثبيت الازوت الجوي:

تنقسم هذه المخصبات الى مخصبات متخصصه لمحاصيل معينة او لنباتٍ ما في مرحلة عمرية معينة أو مخصبات غير متخصصة تصلح لكل المحاصيل و قد تم اختبار الميكروبات الداخلية في هذه المخصبات من سلالات مثل ميكروبات الريزوبيا التي تلقح بها التربة و البذور البقولية و تنقسم الى :

أ. المخصبات التي تحتوي على البكتريا :

تحتوي هذه المركبات على بكتيريا تثبيت الازوت الجوي تكافلياً كما فـــي بكتيريا العقد الجذرية التي تعيش تكافلياً مع المحاصـــيل البقوليـــه او قـــد تحتوي على بكتيريا تعيش حرة ولا تتعاون مع النبات في توفير احتياجاتها مثل الازوتوباكتر حيث تطلق انزيم النتروجينيز الذي يعتبر الاساس فـــي عملية تثبيت الازوت الجوي و يوجد من هذه المخصبات الحيوية ما يصلح للمحاصيل الحقلية (قمح ، شعير ، أرز ، قصـــب) و منهـــا مـــا يصـــلح للبقوليات فقط و منها ما يفيد في حالة الفاكهة او الخضـــر و تـــوفر هـــذه المخصبات 30% من كمية الاسمدة النتروجينية المضافه بجانب تحســـين صفات المحصول كماً و نوعاً و رفع خصوبة التربة و خفض معدل تلوث البيئة و من أمثلة المخصبات المثبتة للنتروجين الجوي و تحتـــوي علـــى بكتيريا تعيش حرة في التربة و تثبيته لا تكافلياً :

i. المخصب الحيوي الذي يحتوي على بكتيريا Azotoacter chrococcum .

ii. المخصب الحيوي الذي يحتوي على بكتيريا Azospirillium brasilense .

ب. المخصبات التي تحتوي على الطحالب الخضراء المزرقة :

تستخدم هذه المخصبات مع الأرز حيث تقوم بإفراز هرمونات و مواد منشطة للنباتات و هي تزيد من المادة العضوية في التربة و تزيد المحصول 30% مع تحسين صفات الحبوب .

ج. لقاح الفرانكيا :

يضاف هذا المخصب الى التربة لتثبيت الأزوت في النباتات غير البقولية .

د. الأزولا :

تضاف للأرز كسماد عضوي حيث تنمى في مزارع مائية خاصة ثم تضاف كلقاح أو تنمى في مزارع الأرز بعد الشتل .

3.2.2ـ المخصبات الحيوية التي تذيب الفوسفات و تثبت الأزوت الجوي :

توافر من هذه المخصبات عدة انواع يستخدم كل لقاح منها لنوع ما من المحاصيل (خضر، فاكهة، حقل) كما تضاف بعضها لزيادة انبات البادرات و تقليل كمية الاسمدة الازوتية والفوسفاتية المضافه بما لايقل عن 25% كما تزيد من نمو جذور النبات و قدرتها على امتصاص العناصر الغذائية .

3.2ـالجدوى الاقتصادية للمخصبات الحيوية :

1) توفير جزء كبير من العناصر الغذائية الهامة للنبات(25% أزوت جوي مثبت و 50% فوسفات مذابة).
2) تحسين النمو و المجموع الجذري و الثمري .

3) زيادة المحصول النهائي كماً و نوعاً 10–20% في محاصيل الحبوب .

4) افراز بعض منظمات النمو و المضادات الحيوية المقاومة للامراض .

5) تقليل السمية في المنتجات نتيجة تقليل المتبقيات الكيميائية .

6) إنتاج عالي الجودة (زراعة نظيفة) .

7) زيادة المواد العضوية بالتربة و بالتالي تحسين خواصها و تحسين امتصاص الجذور للمياة.

8) تحسين خواص التربة الرملية نتيجة افراز مواد سكرية تعمل على تجميعها.

9) اعادة التوازن الميكروبي و تنشيط العمليات الحيوية بها .

10) الحد من تلوث البيئة و الحفاظ على صحة الانسان و الحيوان و تخفيض تكاليف الانتاج لقلة ثمنها و تكاليف انتاجها [1].

4.2- **مقارنة بين التسميد الحيوي والكيميائي**:

جدول يوضح مقارنة بين التسميد الحيوي والاسمدة النتروجينية الكيميائية [2]

التسميد الحيوي(الرايزوبيوم)	**الاسمدة النتروجينية الكيميائية**
يقلل من تكلفة الانتاج (رخيص الثمن)	تزيد من تكلفة الانتاج(غالية الثمن)
تحسين خواص التربة الفيزيائية	تؤثرعلي خواص التربة الفيزيائية
الحد من تلوث البيئة	تزيد من تلوث البيئة
لاضرررمن تكرر الاضافة علي المحاصيل ولا علي التربة	تكرار الاضافة يؤثر علي المحصول والتربة معا
تيسر امتصاص العناصر الغذائية الصغري والكبري	تؤثر علي اتاحة بعض العناصر
يرفع مستوي خصوبة التربة	تقلل من خصوبة التربة

(1) https://www.faculty.ksu.edu.sa

(2)الشبيني(2004).

5.2 العوامل المؤثرة علي النمو البكتيري:

1.5.2 المواد الغذائية:

تقسم البكتيريا تبعاً لاحتياجاتها الغذائية الي البكتيريا القائمة بذاتها (بكتيريا ذاتية التغذية) لها القدرة علي المعيشة وتمثيل المواد الكيميائية البسيطة من التربة والماء والهواء او لها القدرة علي تمثيل الازوت الحر الموجود في الهواء وتحوله الي بروتينات وسكاكر معقدة التركيب.

البكتيريا القائمة لغيرها (بكتيريا متعددة التغذية) ليس لها القدرة علي تمثيل الازوت الحر مباشرة وليس لها القدرة علي تكوين مواد عضوية(الاحماض الامينية والسكاكر المتعددة) تكون في حاجة دائمة للمواد الغذائية التي تستمدها من كائنات حية بكتيرية متطفلة او مواد عضوية بكتيرية رمية .

2.5.2 الاوكسجين:

تقسم البكتيريا حسب احتياجها للاوكسجين الي بكتيريا :

- هوائية اجبارية لا تنمو الا في ظروف بها اوكسجين حر او مطلق وتاخذه من الهواء مباشرة .
- بكتيريا لا هوائية اجبارية تنمو وتتكاثر فقط في غياب الاوكسجين وتقتل اذا سمح للهواء بالدخول في مزارعها.
- بكتيريا حمض اللاكتيك مجموعة وسطية تنمو بدرجة افضل في وجود كميات ضئيلة من الاوكسجين مثل lactobacillus plntarum.
- بكتيريا اختيارية التهوية تنمو وتتكاثر تحت كل الظروف الهوائية واللاهوائية مثل المكورات السبحية.

3.5.2 **الحرارة**:

- بكتيريا محبة للحرارة المنخفضة تعيش في درجة حـــرارة منخفضـــة(0–25م˚).
- الدرجة المثلي لها (10–20م˚). مثل البكتيريا الرمية التي توجد في الماء.
- بكتيريا محبة للحرارة المتوسطة تعيش بين (30–45˚م).
- الدرجة المثلي لها 37˚م مثل البكتيريا المرضية للانسان والحيوان.
- بكتيريا محبة للحرارة المرتفعة تعيش بين (55–70˚م).
- الدرجة المثلي لها 50˚م مثل بكتيريا التربة وبكتيريا تحلل السيليلوز.

4.5.2 **ـ تركيز ايون الهيدروجين** pH :

- تلعب ايونات الهيدروجين دور هام في العمليات الحيوية و ذلـــك لصـــغر حجمها و سرعه تحركها
- يجب مراعاتها عند تحضير البيئات المغذية
- زيادة التركيز يكون سام للخلايا
- التركيزات المتوسطة تسمح بالنمو
- التركيزات المنخفضه جدا غير مناسبة للنمو

البكتيريا تقسم حسب قدرتها على المعيشة في درجات pH إلى :

1. الدرجة المثالية لنمو البكتيريا قريبة من المتعادل pH 7
2. بعض الانواع الشاذة تتحمل الحموضة الزائدة

   مثال: البكتيريا المنتجة لحمض الخليك
3. البكتيريـــا الممرضـــة للانســـان و الحيـــوان تتحمـــل القلويـــة (تتراوح بين 7,2 – 7,4)

4. بكتيريا تتحمل درجات مرتفعة من القلوية (بكتيريا العقد الجذرية)

5.5.2ـ **الضغط الاسموزي** :

معظم البكتيريا (ما عدا البكتيريا البحرية) تنمو جيدا عند ضغوط اسموزية متوسطة لذلك يضاف ملح الطعام بتركيز 0.5 % إلى المنابت المغذية .

الغشاء السيتوبلازمي يتحكم في تحرك المحاليل خارج الخلية و دخول الماء اليها يتوقف نمو البكتيريا تحت ظروف الضغط الاسموزى المرتفع نتيجة لحدوث تجفيف (بلزمة) لبروتوبلازم الخلايا نتيجة لخروج الماء منها و ينكمش البروتوبلازم و يبتعد عن الجدار الخلوي اذا اعيدت الخلايا الي بيئة ذات ضغط اسموزي عادى تعود الخلايا الي حالتها الطبيعية بعض الأنواع تعيش في تركيز مرتفع من ملح الطعام يصل إلى 10 ــ 15 %.

6.5.2ـ **الرطوبة والجفاف** :

إذا قلت الرطوبة فإن اللولبيات والمكورات لا تستطيع مقاومة الجفاف فإنها تموت فوراً، هناك انواع تقاوم الجفاف لفترة تصل إلى شهور مثل المكورات العنقودية الجراثيم يمكنها مقاومة الجفاف لسنوات عديدة نظراً لقلة نسبة الماء في تكوينها .

7.5.2ـ**الاشعاع**:

بعض البكتيريا تتطلب وجود الضوء المرئي لكى تنمو و تتكاثر، تستعمل البكتيريا الطاقة الضوئية و تحولها الي طاقة كيميائية عن طريق التمثيل الضوئي، تتميز هذه البكتيريا بوجود مواد ملونة تشبه الكلوروفيل النباتي، الاشعاعات ذات الاطوال الموجية القصيرة عن الضوء المرئي لها تأثير مميت للكائنات الدقيقة و تستعمل في التعقيم دون ان ترفع درجة الحرارة لذلك تعرف بطريقة التعقيم البارد.

حاليا يعتقد ان الاشعاعات تحدث تأثيرا مباشرا لمناطق حساسة من الخلايا تعرف بالهدف الحساس، الطاقة الاشعاعية تمتص في هذه المنـــاطق و بالتـــالي يتغيـــر تركيبها الجزيئي[3].

6.2-الكائنات المثبتة للنيتروجين:

تشمل الكائنات المثبتة للنيتروجين البكتريا والسيانوبكتريا والاكتينوميستات وكذلك تشمل مشاركة خاصة من بعض النباتات العليا التي تتكافل مـــع البكتريـــا لاستغلال النيتروجين الجوي . (حداد 1991)

7.2-تقسيم الكائنات المثبتة للنيتروجين:

1- البكتريا الحرة المثبتة للنيتروجين :

وهي بكتريا لا هوائية وشحيحة الاكسجين منها واخري هوائيـــة مثـــل Azotobacterوالســـــيانو بكتريـــــا واللاهوائيـــــة Clostridium Pastorianum.كما ان بعض السيانو يكتريا تستطيع تثبيت النيتروجين تكافليا مع نباتات غير يقولية مثل الازولا .

2- البكتريا المثبتة للنيتروجين بالتشارك :

جنس Azospirillum يتم التشارك مع المحاصيل النجيلية .

3- البكتريا التكافلية المثبتة للنيتروجين :

وهي تنقسم الي نوعين:

اولا: البكتريا المتكافلة مع البقوليات ويمكن تصنيفه الي ثلاثة اجناس :

أ. Rhizobium
ب. *Brady rhizobium*
ج. Azorhizobium

---

(3) www.faculty.ksu.edu.sa>documents>effect

ثانيا:البكتيريا المتكافلة مع غير النتروجين:

الاكتينوميستات: تتكافل البكتيريا من الجنس frankia مع عدد من النباتات الغير بقولية مثل الالدر.

السيانو بكتيريا: تتكافل مع النباتات او الاشجار الخشبية.

الرايزوبيا: تتكافل البكتيريا من الجنس الرايزوبيا مع نباتات Trema canndabia (نوري، 2001).

8.2**بكتريا العقد الجذرية**:

تعد التربة البيئة الطبيعية لنمو هذه البكتيريا والقيام بنشاطها وعلي هذا فإن هذه البكتيريا تتأثر بما تحتويه التربة من عناصر ومواد كيميائيـــة والتـــي تكـــون بتركيزات مختلفة حسب طبيعة التربة وتؤثر بصورة مباشرة علي النشاط الحيوي لاحياء مجهرية ، تعد الملوحة إحدي مكونات التربة الاساســية والتـــي يختلـــف تركيزها حسب طبيعة وموقع ومكونات التربة إذ أن الاراضي المالحة تكون سائدة في البيئات الجافة وشبه الجافة ، إن زيادة نسبة الملوحة يعود ســببها الـــي قلـــة الامطار وعملية التبخر المستمر للمياه نتيجة لإرتفاع درجات الحـــرارة وتكـــون معظم المحاصيل حساسة نسبياً للمستويات المنخفضة للملوحة وفي حالة المحاصيل البقولية هنالك عاملان يؤثران عليها الاول هو تأثرها بالملوحة والثاني هو تـــأثر البكتيريا التعايشية والتي تكون حساسة للملوحة خلال مراحل نموها الاولية والذي يكون بشكل حر وكذالك أثناء عملية التكافل مع العائل البقولي. (Rafige2007)

1.8.2 **تثبيت النيتروجين**:

يكون النيتروجين حوالي 80% من جو الارض ولكن علي الرغم من هذه الوفرة في الجو نادرا ما يوجد هذا العنصر في التربة علي صورة نترات واملاح الامونيوم بكمية تفي احتياجات النباتات الخضراء .

وتوجد هنالك عدة طرق حيوية لتثبيت النيتروجين فتعتمد علي الكائنات الحية وخاصة البكتريا ، فتستطيع بعض انواع البكتريا وقليل من الطحالب المزرقة النامية علي حالة حرة تثبيت النيتروجين الجوي في خلاياها و تكون البروتينات هي النواتج النهائية للتثبيت ويطلق علي تثبيت النيتروجين بفعل الميكروبات المستقلة (بالتثبيت غير التكافلي)تميزا له عن تثبيت النيتروجين بطريقة (التكافل) الذي يحدث: بالبفعل المشترك بين بكتريا العقد الجذرية والنباتات البقولية .

2.8.2 **التثبيت التكافلي للنيتروجين**:

التكافل هو العلاقة التي يحدث فيها تبادل منفعة بين شريكين مختلفتين ينموان معا في ارتباط وثيق .والعلاقة بين النباتات البقولية والبكتريا التي تنمو في العقد الموجودة علي جذورها هي عادة علاقة يمد النيات فيها البكتريا بالغذاء العضوي وغير العضوي وتحدث البكتريا تثبيت النيتروجين في النباتات علي صورة بروتينات ، وبكتريا العقد الجذرية النامية منفردة سواء في التربة او المنابت لتثبيت النيتروجين.

3.8.2ـ **معوقات التثبيت التكافلي**:

1. عدم وجود لقاحات جيدة الفعالية لكثير من البقوليات .
2. الاختلافات الجغرافية في المحاصيل والتربة مما يستدعي عزل لكل بيئة علي حدة.
3. صعوبة حفظ اللقاحات ونقلها لمواقع الزراعة والانتاج .
4. ضيق الفترة الزمنية لنشاط العقد الجذرية وبالاخص في بقوليات الحبوب .
5. ضعف البكتريا في اللقاحات المضافة في منافسة البكتريا المستوطنة.

9.2ـ **المميزات الرئيسية لبكتريا العقد الجذرية** :ـ

تتبع بكتريا العقد الجذرية جنس (Rhizobium) وهي بكتريا صغيرة اسطوانية غير متجرثمة هوائية وسيطة الحرارة قادرة علي اصابة نباتات بقولية معينة محدثة العقد وعند وجود هذه البكتريا في العقد تكون عصوية الشكل او تظهر خلاياها متفرعة علي صورة Xyt وهي عادة محتوية فجوات وتسمي الاشكال التي تظهر باشكال غير عادية بال bacteroids . غنيم عامر (2012)

1.9.2ـ **العقدة**:

عبارة عن كتلة انسجة الجذر تعيش فيها البكتريا .وهذه البكتريا قادرة علي انتاج منظمات النمو وتكون المنظمات هو المحفز علي انقسام خلايا الجذر . طور الباكترويد عبارة عن خلايا بكترية متحولة الي الطور الساكن تتجمع هذه ال Bacteroids في مجاميع في اكياس يفصل عن بعضها مادة حمراء يؤخذ كمقياس لمقدرة العقدة علي تثبيت النيتروجين ،فاذا كان اللون احمر قاتم تكون العقدة فعالة واذا كان اللون اصفر تكون العقدة غير فعالة .

2.9.2ـ دور بكتيريا الريزوبيوم في تثبيت النيتروجين:

تقوم بكتريا العقد الجذرية بتثبيت النيتروجين الجوي والتي تنمو على جذور المحاصيل البقولية مكونة عقد بكتيرية تعيش معيشة تكافلية مع المحصول حيث تاخذ منه مواد الطاقة (كربوهيدرات) وتقوم هي بتثبيت النيتروجين الجوي الذي يستفيد منه النبات .

تهاجم بكتريا العقد الجذرية التابعة لجنس الرايزوبيوم النباتات البقولية عن طريق الشعيرات الجذرية بعد تكوين الاوراق الحقيقية للنبات وتعيش هذه البكتريا بالعقدة الجذرية حوالي 7 اسابيع معيشة تكافلية symbiosisحيث تمد النبات العائل اثناء هذه الفترة بما تثبته من النيتروجين الجوي كما يستفيد البكتريا من النبات بالمواد الكربوهيدراتية والمواد العضوية الاخري .

ثم تنفجر العقدة الجذرية وتخرج البكتريا الي الارض الزراعية لكي تعاود تكوين عقدا مرة اخري.

انزيم النيتروجيينيز هو العامل المشترك في كل انظمة تثبيت النيتروجين المعروفة وهي ثلاثة انواع :

نتروجينيز المولبدنوم والفانيديوم ونتروجينيز الفلزات خلاف الحديد .

10.2ـالبقوليات:

هي احد المحاصيل الحقلية التي تستخدم بذورها مباشرة او غير مباشرة او علفه.

1.10.2 الأهمية الغذائية للبقوليات:

تعتبر البقوليات مصدرا هاما للبروتين في غذاء الانسان خصوصا بالنسبة لعدد كبير جدا لسكان الدول الفقيرة(لحمة الفقير).

- تتراوح نسبة البروتينات في البقول بين 22-25 % وقد تصل الي 38% كما في فول الصويا.
- نسبة الكربوهيدرات في معظمها تصل 60%.
- نسبة الدهن منخفضة كقاعدة عامة ما عدا الفول السوداني وفول الصويا.
- ويقدر الانتاج العالمي للبقوليات ما يزيد عن 50مليون طن في مساحة يزيد عن 70 مليون هكتار.

2.10.2 الأهمية الإقتصادية للبقوليات :

1. تعتبر محاصيل العائلة البقولية من اكثر الفصائل النباتية اذ تحتوي علي 500 جنس وحوالي 11 الف نوع.
2. تعتبر مصدرا غذائيا رئيسيا للانسان وذلك لاحتوائها علي نسبة عالية من البروتين والفيتامينات وكذلك العناصر المعدنية مثلca والاحماض الامينية.
3. تبلغ الانتاج العالمي من البقوليات ما يقارب 50 مليون طن في مساحة تزيد عن 70 مليون هكتار.
4. تعتبر البقوليات الحولية من اهم مخصبات التربة وذلك لقيامها يتثبيت النيتروجين الهواء الجوي.
5. التلقيح ذاتي كما في البازلا والفاصوليا وغير ذاتي بمساعدة الحشرات.
6. تستخدم في التسميد الاخضر كنباتات غطاء لتقليل التبخر والتعرية.
7. تاتي في المرتبة الثانية بعد محاصيل الحبوب من حيث الاهمية الغذائية.

8. تحتوي بذور المحاصيل البقولية علي كل ما يحتاجه جسم الفرد من الاحماض الامينية

9. تعتبر مخلفات الحصاد ذو قيمة غذائية عالية الجودة كعلف حيواني

10. تزيد المحاصيل البقولية من خصوبة التربة اذ ان لها خاصية تثبيت النيتروجين الجوي. (دقش 2005)

3.10.2 دور البقوليات في تثبيت النيتروجين :

تتميز البقوليات بخاصية مهمة بيئيا واقتصاديا وهي قدرتها علي تثبيت النيتروجين الجوي حيويا ، حيث يمكن لهذه النباتات التعايش مع انواع مختلفة من البكتريا العقدية التي تعيش في جذور البقوليات في نظام تكافلي ، حيث تقوم هذه االبكتريا بتحويل النيتروجين الموجود في الغلاف الجوي الي مركبات نيتروجينية التي يحتاجها النبات وبالتالي تحسين خصوبة التربة .

حيث نجد ان كل هكتار من البقوليات يمكنه تثبيت كمية ازوت جوي في التربة بين 72–350 كيلوجرام سنويا ، ما يترب علي ذلك من عدم استخدام الاسمدة الازوتية مما يقلل تلوث البيئة سواء كانت اثناء تصنيعها او بعد استخدامها في التربة. فؤاد (2007)

4.10.2 كيف يمكن للبقوليات زيادة خصوبة التربة:

بالاضافة لمميزات البقوليات المعروفة من تثبيت النيتروجين الجوي وفي اطلاق الفوسفور المرتبط بالتربة ، فان البقوليات تساعد في زيادة المواد العضوية ونشاط الكائنات الحية في التربة (مثل البكتريا والفطريات) كما تعمل البقوليات علي تحسين التركيب البنائي للتربة وزيادة قدرتها علي الاحتفاظها بالماء كما تساعد بفعالية علي الحد من تعرية التربة بفعل الرياح او المياه من خلال استخدامها كمحاصيل تغطية للتربة (منظمة المجتمع العلمي العربي 2016).

الباب الثالث

مواد و طرق البحث

Materials & Methods

الباب الثالث

مواد و طرق البحث

Materials & Methods

أجريت التجربة بمعمل قسم علوم التربة والميـــاه فـــي كليـــة الدراســـات الزراعية بشمبات التابعة لجامعة السودان للعلوم و التكنولوجيا .

اشتملت الدراسة على اربعة معاملات بثلاثة مكررات بالاضافة الى الشاهد .

1.3-**الاجهزة و الادوات**:

- اطبـــاق بتـــري petri dishes – ماصـــة pipettes(Manual - Automatic)
- زجاجات لحفظ البيئات Bottles – انابيب tubes
- موقد بنزن Benzen Burner – ابر تزريع Inculating loops
- كأس زجاجي
- أوتوكليف Autoclave – حضان Incubator
- كابينة التزريع Laminair flow – ثلاجة fridge
- ميزان Balance – هزاز sheker

2.3-**مصدر البكتيريا**:

تم الحصول على العقد الجذرية لنبات الفول المصري و ذلك بقلع النبات بالكامل (من جذوره) مع التربة المحيطة بجذوره بضمان عدم فقدان أجزاء منه في التربة .

3.3-**الأوساط الزراعية** :

- بيئة مستخلص الخميرة Yeast Extract Mannitol Agar

4.3-**عزل البكتيريا من العقد الجذرية**:

- بإتباع كافة وسائل التعقيم و التطهير Sterilizers technique من تعقيم الادوات المستعملة و تعقيم الايدي و المنضدة و غيرها.
- تم احضار نبات الفول المصري الذي يحتوي على العقد الجذرية وتم غسل النبات (منطقة الجذور) بشكل جيد بالماء لإزالة بقايا التربة العالقة.
- ثم فصلت العقد الجذرية مع جزء صغير من الجذر المتصل بها و غمرت العقد الجذرية في اربعة أطباق بتري تحتوي على كحول إيثانول و بعدها تم غمرها في اربعه اطباق بتري تحتوي على ماء مقطر و ذلك لإزالة ما تبقى من الكحول.
- و تم هرس العقد بواسطة ساق زجاجي Glass rodحتى تخرج البكتيريا من العقد الجذرية.
- بواسطة الابرة ذات العقدة Loop تم تزريع البكتيريا على الوسط الصلب Yeast extract mantol ajar بطريقة التخطيط للحصول على مستعمرات بكتيرية.
- ثم وضعت في الحضان (الاطباق مقلوبة) في درجة 38°م لمدة اسبوع.

5.3-**إختبار النقاوة**:

تم اجراء اختبار النقاوة للتأكد من البكتيريا و ذلك بأخذ جزء من النموات البكتيرية أو المستعمرات بواسطة الابرة ذات العقدة و وضعها في البيئة الصلبة بطريقة التخطيط ثم وضعها في الحضان لمدة 3 أيام في درجة حرارة 30° م.

6.3-**التلقيح البكتيري**:

بعد ذلك تم اكثار البكتيريا النقية بواسطة الابرة ذات العقدة و وضـــعها في الدوارق المحتوية على البيئة السائلة ثم وضعها في جهـــاز الهـــزاز لمـــدة اسبوع.

7.3-**الملوحة**:

تم معاملة بكتيريا الريزوبيوم في تراكيز مختلفة من ملح Nacl .

التراكيز (0.2% – 0.6% – 0.8% – 1%) .

الباب الرابع

النتائج والمناقشة

Result & Discussion

الباب الرابع

النتائج والمناقشة

Result & Discussion

النتائج:

جدول يوضح درجة نمو بكتيريا الرايزوبيوم حسب تركيز ملح NaCl المضاف الي الوسط :

1%		0.8%		0.6%		0.2%		NaCl Con. %
10^8	10^4	10^8	10^4	10^8	10^4	10^8	10^4	
TMTC	35	TMTC	38	TMTC	73	19	TMTC	R_1
45	31	17	39	9	TMTC	12	38	R_2
40	40	12	33	4	54	10	24	R_3

TMTC≡ too much to count

المناقشة:

نلاحظ من النتائج أعلاه أن في التخفيف 10^4 كان النمو جيد للبكتيريا عند تركيز 0.2% مقارنة بمعاملة الشاهد حيث سجلت افضل قيمة للنمو بصورة مثالية عند التركيز 0.6% في نفس التخفيف مقارنة بمعاملة الشاهد.

ايضاً نلاحظ ان النمو كان كثيف عند تركيز 0.8% والتركيز 1% في التخفيف 10^4مقارنة بمعاملة الشاهد. وأنه لاتوجد فروقات واضحة في النمو بين هذين التركيزين.

هذه النتائج جائت مطابقة لما ذكره Rafig(2007). من أن تركيز ملح NaCl أعطى أعلى نتيجة نمو لبكتيريا R.leguminosarum bv. Viciae عند

تركيز .0.0125M مقارنة بمعاملة الشاهد. إذ أن لكل كائن مجهـري متطلبـات حيوية يكون نموه عندها بصورة مثالية.

نلاحظ أيضاً من النتائج أعلاه أنه في التخفيف 10^8 كان النمو قليل عنـد تركيز 0.2% حيث بدأ النمو في الإزدياد عند تركيز 0.6% و 0.8% مقارنـة بمعاملة الشاهد. وكان أفضل نمو للبكتيريا بصورة مثالية سجل عند تركيـز 1% وهذه النتائج جائت مطابقة لما ذكره Rafig(2007).

نلاحظ أنه في التخفيف 10^4 كان النمو أفضل مقارنة مع التخفيـف 10^8 عند التركيزات (0.8%-0.6%-0.2%). بينما نجد أنه في نفس التخفيـف عنـد تركيز 1% كان النمو أفضل مقارنة مع التخفيف 10^4.

ملحوظة:(في التخفيف 10^4عند تركيز 1% كانت المستعمرات البكتيريـا كبيرة).

إن نتائج هذا البحث لا تمثل جميع أنواع جنس Rhizobium كما ذكـره Abdel moumen(1999). من أن تأثير الملح في نمو بكتيريا الرايزبيوم يعتمد على نوع السلالة نفسها إذ أن البكتيريا التي تكون سريعة النمو و مكونة للحامض هي أكثر تحملا للملح من البكتيريا بطيئة النمو ومكونة للقاعدة.

الباب الخامس

التوصيات

الباب الخامس

التوصيات:

1) الاسمدة المعدنية وخاصة النتروجينية تؤثر في تكوين العقد الجذرية.
2) الاراضي المالحة تعمل علي تقليل كفاءة بكتيريا الرايزوبيوم وعليه يجب لتأكد من الجرعة الموصي بها وكفاءة جنس الرايزوبيوم.
3) إعتماداُ علي نتائج البحث نوصي بأن التركيزات 0.6% – 0.2% 1% – 0.8% من ملح Nacl ملائمة لنمو بكتيريا الرايزوبيوم.
4) من نتائج الدراسة نوصي بأن تكون الدراسات القادمة مكملة لهذه الدراسة وان تعلق بمدي تحمل بكتيريا العقد الجذرية للملوحة العالية.

المراجع العربية:

1. محمد فؤاد محمد (2007).تعريف الدورة الزراعية و أهميتها – www.alhadeeqa.com
2. محمد أحمد الحاج حداد (1991) . تمارين معملية في ميكروبيولوجيا التربة، الدار العربية للنشر و التوزيع ، القاهرة.
3. يس محمد إبراهيم، دقش (2012) . المحاصيل الحقلية ، مطابع السودان للعملة، الخرطوم، السودان.
4. جمال محمد الشبيني (2004). التسميد الحيوي ، معهد بحوث الأراضي و المياة و البيئة، المكتبة المصرية، الاسكندرية.
5. منصور، غيثاء، ابتسام، القاضي، عماد،(2005). الفصيلة الفولية في وادي القرن.
6. نوري عثمان مختار وهاشم محمد بابكر (2001). تثبيت النتروجين الجوي والتسميد الحيوي، هيئة البحوث الزراعية، الجزيرة.
7. منظمة المجتمع العلمي (2016). بكتيريا العقد الجذرية www.mohamed.com

المراجع الأجنبية:

1. Baijerinck, M.W.(1888). Die Bakterier der Papillionaceen Knollchen.bot zfg.46 : 726 – 804
2. Frank , B.(1889). U birdie pflanzen symbios der leguminosen . Ber deut.Bot.gesell.7:332-346
3. Vincent , J.M.(1974). Roop – nodule symbiosis with Rhizobium . in : the Biology of Nitrogen fixation , publishing company , Amsterdam . PP. 265 – 341 .
4. Skinner , F.A . Roughley , L. and chandler , M.R.(1977). Effects of yeast extract concentration on viability and cell distortion in Rhizobium spp.J.Appl.Bacteriol.43:287-297
5. https//:www.facebook.com/nourelershed
6. https//:www.faculty.ksu.edu.sa/
7. Rafig,S.,Journal of Bacteriology, 176(17): 5211-5271. (2007).
8. Abdel Moumen, H.(1999). Filali-Maltou, F.;Neyra, M.; Belabed, A. and Elidrissi, M., journal of Applied Microbiology.