بسم الله الرحمن الرحيم

جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا

كلية الدراسات الزراعية

قسم علوم التربة والمياه

بحث تكميلي لنيل درجة البكالوريوس مرتبة الشرف

في علوم التربة والمياه

بعنوان:

دراسة معملية لمعرفة اثر الاملاح علي نمو بكتيريا الرايزوبيوم

Laboratory study to find out the effect of salts on the growth of rizobium bacteria

إعداد :

1. وليد ادريس ادم

2 . ادم محمد ادم

إشراف د . السمؤال محمد ميرغني

نوفمبر

2020

الآية

قال الله تعالي:

(أَلَمْ تَرَوْا أَنَّ اللَّهَ سَخَّرَ لَكُمْ مَا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ وَأَسْبَغَ عَلَيْكُمْ نِعَمَهُ ظَاهِرَةً وباطنه وَمِنَ النَّاسِ مَنْ يُجَادِلُ فِي اللَّهِ بِغَيْرِ عِلْمٍ وَلا هُدىً وَلا كِتَابٍ مُنِيرٍ) (لقمان) 20

صدق الله العظيم

الإهداء

إلى رمز التفاني والإخلاص، من علَّمتني العطاء، وغمرتني بحنانها وكرمها .

من علَّمني أن الحياة من دون ترابط وحب وتعاون لا تساوي شيئًا.

- أمي الحبيبة

إلى منبت الخير والتضحية والإيثار

- والدي الكريم

إلى مثال العطاء والكبرياء والتضحية

- إخواني وأخواتي

إلى كبيرة المقام ذات السيرة العطرة

- جدتي الغالية

إلى كل من يحبني بصدق وإخلاص

الشكر والعرفان

يسرني أن أوجه شكري لكل من نصحني أو أرشدني أو وجهني

أو ساهم معي في إعداد هذا البحث

وبعد حمد الله تعالى وشكره على إنهائي لهذه الرسالة أتقدم بخالص الشكر

وعظيم الامتنان للكل من ساعدني من علم وإرشاد مستمر نافع وعطاء متميز

وعلى مابذلوه من جهد متواصل ونصح وتوجيه من بداية مرحلة البحث

حتى إتمام هذه الرسالة

ومهما كتبت من عبارات وجمل فإن كلمات الشكر تظل عاجزة

عن إيفا حقهم،فجزاهم الله عني خير الجزاء وجعل ذلك في موازين حسناتهم.

كما أشكر القائمين على جامعة وعلى رأسهم الدكتور

- السمؤال محمد ميرغني عثمان

إلي الرائعون الساكنون في حدقات العيون

- زملائي واصدقائي

فهرس الموضوعات

الموضوع	رقم الصفحة
الآية	أ
الإهداء	ب
الشكر والعرفان	ج
فهرس الموضوعات	د
ملخص البحث	1
الباب الأول :المقدمة	
المقدمة	2
أهداف البحث	4
الباب الثاني :الدراسات السابقة	
1.2 الاسمدة الحيوية (المخصبات)	6
2.2 دورالاسمدة الحيوية	7
3.2 خصائص الكائن الحي المستخدم في تحضير الأسمدة الحيوية	8
4.2 مقارنة بين التسميد الحيوية والكيميائية	9
5.2 العوامل المؤثرة علي النمو البكتيريا	9
1.5.2 تركيب التربة	9
2.5.2 التهوية التربة	9
3.5.2 الحرارة	10
4.5.2 الضغط الاسموزي	10
5.5.2 الرطوبة	10

6.5.2 الملوحة	11
7.5.2 تركيز ايون الهيدروجين pH	11
8.5.2 العناصر الثقيلة	11
9.5.2 الضوء	12
6.2 الكائنات المثبتة للنتروجين	12
7.2 تقسيم الكائنات الحية المثبتة للنتروجين	12
8.2 الصفات المظهرية لبكتريا الرايزوبيوم	12
9.2عملية تكوين العقدة الجذرية	13
10.2 المميزات الرئيسية لبكتيريا العقدة الجذرية	13
1.10.2 تثبيت النتروجين	14
2.10.2 التثبيت التكافلي للنتروجين	14
11.2 معوقات تثبيت النتروجين	14
12.2 التقييم ألفلاحي لتثبيت النتروجين بالرايزوبيوم	15
13.2 أساسيات أختيار الرايزوبيا	15
14.2 مواصفات الرايزوبيم الأصلية	15
15.2 أسباب الحاجة للتلقيح والأختيارالسلالات	16
16.2 مراحل اختيار سلالة الرايزوبيوم	16
الباب الثالث:مواد والطرق البحث	
1.3 الأجهزة والأدوات	18
2.3 إضافة الاملاح للبيئة	18
3.3 تحضير البيئة	18
4.3 عملية التلقيح	19
5.3 فترة تحضين	19
الباب الرابع : النتائج والمناقشة	
النتائج	21

المناقشة	22
الباب الخامس:التوصيات	
التوصيات	23
المراجع	24

ملخص البحث:Abstract

أجريت التجربة بمعامل قسم علوم التربة والمياه بتاريخ 2020/10/18م .وذلك لدراسة عدة تراكيزمن (0,0.5%,1.5%,2%,2.5%,1%) من ملح NaCL لنمو بكتريا *Rhizobium* من خلال إضافتها الي وسط مستخلص الخميرة Yeast Extract Mannitol Agar وملاحظة مدي نمو البكتيريا في التركيزات المختلفة مقارنة بمعاملة الشاهد حيث أظهرت البكتيريا معدلات نمو في كل التركيزات الملحية ولكن التركيز 0.5%أعطي معدل نمو كثيف مقارنة بمعاملة الشاهد .

Abstract

The experiment was conducted in the laboratories of the Department of Soil and Water Sciences on 10/18/2020 AD, to study several concentrations (0,0.5%, 1.5%, 2%, 2.5%, 1%) of NaCL salt for the growth of Rhizobium bacteria by adding it to the medium of yeast extract. Mannitol Agar and observation of the extent of bacterial growth at different concentrations compared to the control treatment, where the bacteria showed growth rates in all saline concentrations, but the concentration was 0.5%, which gave a dense growth rate compared to the control treatment.

الباب الأول

المقدمة :Introduction

أن من بين أهم المشاكل التي تواجهه الإنسان في حياته والكثير من بلدان العالم هي ما يلزمه من الاحتياجات الغذائية .ولن يتم حل هذه المشكلة إلا بالنهوض والعمل علي زيادة الإنتاج الزراعي بما يتناسب مع الزيادة المطردة في إعداد السكان الذي بلغ حاليا ستة بليون نسمة ولذلك أصبح من المحتم محاولة رفع الإنتاجية وحدة المساحة من الاراضي الزراعية ،ويرتبط هذا برؤية أساسية بمدي توفر الأسمدة الكيمائية والتي تمثل أهم العوامل الرئيسية لزيادة غلة المحاصيل الزراعية . وفي الآونة الأخيرة ذاد الطلب علي الأسمدة الكيماوية والمتمثلة في الاسمدة الآزوتية والأسمدة الفوسفاتية مما تتطلب معه توفير العملة الصعبة لشراء هذه الأسمدة من الخارج وهذا بدوره يمثل ضغطا علي الاقتصاد القومي .

تعتبر الأسمدة الحيوية إحدى التقنيات الحديثة المستخدمة لتقليل من استعمال المفرط للأسمدة الكيميائية, حيث اتجه العالم في السنوات الأخيرة إلى استعمال طرق بديلة و آمنة ، لتحسين خواص التربة و محتوها من بعض العناصر كفسفور و النتروجين حيث أثبتت الدارسات الحديثة استخدام الطرق الحيوية للتثبيت النتروجين الجوي و إمكانية تحسينه وزيادة معدله أوفر اقتصاديا و صحيا (Osip (وأصبح من الضروري إعادة تقييم الأهمية لهذا النوع من النشاط باستخدام الأسمدة الحيوية Biofertilizers) (بن محمود، 2016) .

وفي هذا البحث تم تحديد كيفية استعمال البكتيريا اللاتكافلية حرة المعيشة في التربة جنس Burkholderia لما لبعض من أنواعها القدرة على تثبيت النتروجين الجوي في التربة ولما لها القدرة على فرز كثير من المضادات الفطرية لحماية النباتات من المسببات المرضية و إفراز بعض المركبات و المنشطات النمو التي تساعد على إنبات البذور و الجذور كحمض الجبرليك والسايتوكينات والاوكسينات منها Tab . (ميرفت الطاهر بن محمود واخرون،2016).

السماد أو المخصب الحيوي عبارة عن لقاح حي Live) inoculants) ،قد يحتوي علي نوع السلالة معنية من هذه الكائنات الحية النافعة ،وقد يكون خليط من عدة أنواع أو سلالات من هذه الكائنات ذات التأثير النافع والمفيد للإنسان و الحيوان والبيئة (الشبيني ،2004) .

من أشهر أنواع الاسمدة الحيوية انتاج لقاحات البكتيريا المكونة للعقد الجذرية (Rhizobium) الذي استخدام كاللقاح تجاري في دول كثيرة من أنحاء العالم .(حداد،1991)

وبكتيريا العقد تعرف باسم جنس (Rhizobum) وكانت سابقا تعرف Bacillus radical وتشبه في كثير من خصائصها ,Radobacter,Achromobacter التي تتواجد عادة في جذور النباتات خصوصا البقولية.

درس عبد العزيز (1997) تأثير اللقاح الرايزوبيا ومستوي الازوت الميسر بالتربة علي كفاءة وتنافس الرايزوبيا في تعقيد بعض البقوليات ، حيث أجريت هذه الدراسة لتقييم كفاءة اللقاح بسلالة واحد أو مخلوط من السلالات وكذلك دراسة تأثير الأزوت الميسر في التربة علي الكفاءة وقدرة سلالات الرايزوبيا التنافسية علي تعقيد كل من فول الصويا و فاصوليا واللوبيا وغيرها من البقوليات (الشبيني ،2004) .

أهداف البحث:

- معرفة أثر الاملاح علي نمو بكتيريا الرايزوبيوم .

الباب الثاني
الدراسات السابقة

الباب الثاني
الدراسات السابقة
Literature Review

1.2 الأسمدة الحيوية:

تعرف الأسمدة الحيوية هي عبارة عن تلك المستحضرات الميكروبية التي تحتوي على الأعداد الكافية من السلالات الفعالة من الكائنات الحية الدقيقة والتي تلعب دورا هاما في منطقة الريزوسفير فيما يتعلق بنمو النبات بالإضافة إلى كونها تعتبر مصدرا لأنواع من كائنات حية دقيقة محددة تكون ذات فعالية عالية في المكافحة البيولوجية لمسببات الأمراض المحمولة في التربة.

ويتضح من ذلك أن الأسمدة الحيوية تعتمد في عملها أساسا على تغيير المحتوى الميكروبي في المنطقة المحيطة بجذور النباتات Rhizosphere وذلك عن طريق تلقيح البذور أو التربة بكائنات حية دقيقة قادرة على إحداث تأثيرات معنوية مفيدة على العائل النباتي المناسب. وعموما تنحصر الطرق التي تؤثر بها الأسمدة الحيوية على النباتات الملقحة في الآتي:

- تثبيت النيتروجين الجوي، وهي عملية التثبيت الحيوي للنيتروجين Biological nitrogen fixation ويقصد بها استخدام نيتروجين الهواء الجوي بواسطة الميكروبات لبناء بروتوبلازم خلايا حية.
- زيادة امتصاص النباتات للعناصر الغذائية.
- إنتاج الأحماض العضوية التي تؤدي إلى زيادة تيسر كثير من العناصر الغذائية غير الذائبة لتصبح في متناول النباتات.
- وقاية النباتات من الإصابة ببعض الأمراض.
- إفراز مواد النمو النباتية والتي تساعد على تحسين نمو النبات.

زيادة محتوى التربة من المادة العضوية والتي تحسن من خواصها حيث تعمل على زيادة تجميع الحبيبات وتحسين التهوية وزيادة قدرة التربة على الاحتفاظ بالماء. (سامي عبد الحميد وآخرون)

2.2 دور الأسمدة الحيوية:-

بخصوص الدور الذي يحققه استخدام الأسمدة الحيوية كبدائل للأسمدة الكيماوية فيمكن حصرها فيما يلي:

- تقليل الاعتماد على المركبات الكيماوية الزراعية Agro – chemical compounds مما يعني تقليل تكاليف الإنتاج وخفض مستوى التلوث الحادث للبيئة من جراء استخدام مثل هذه الكيماويات، بل يمكن القول باستبعاد صورة من أهم صور التلوث الناتجة من المعاملات الزراعية التقليدية.
- إنتاج غذاء عالي الجودة والقيمة الغذائية بكميات كافية.
- تعويض الفقد السريع في النيتروجين نتيجة الذوبان السريع لبعض المركبات النيتروجينية سهلة الذوبان مما يعني حفظ خصوبة التربة.
- تيسير الكثير من العناصر الغذائية الهامة اللازمة للنبات والتي قد توجد في التربة بكميات كبيرة ولكنها تكون غير صالحة للامتصاص بواسطة النبات مثل الفسفور حيث يتم إذابة الفوسفات ثلاثي الكالسيوم بتحويله إلى الصورة الأحادية الصالحة لاستخدام النبات بما يكفي لتوفير حوالي 50٪ من الاحتياجات الفوسفاتية للنبات وكذلك تحرير البوتاسيوم وتيسير بعض العناصر الأخرى.
- زيادة المادة العضوية في التربة مما يؤدى إلى تحسين خواصها خاصة في الأراضي التي تعاني من نقص في المادة العضوية.
- هناك تأثير إيجابي للتلقيح بالأسمدة الحيوية على النباتات من حيث مظهر النمو وتحسين المجموع الخضري والجذري، كما أن النباتات الملقحة تكون أسرع في النمو وتعطى محصولا مبكرا.

زيادة المحصول من حيث الكمية ومحتوى المحصول الناتج من البروتين حيث تراوحت الزيادة في بعض التجارب البحثية ما بين 10-٣٠٪ من محصول الحبوب.

- تحسين امتصاص المياه بواسطة الجذور خاصة في حالة استخدام الميكوريزا كسماد حيوي والذي يؤدي إلى زيادة مساحة سطح الجذور مما يعني زيادة في امتصاص الكثير من العناصر المتوفرة بالتربة.
- تحسين خواص التربة الرملية المفككة عن طريق ما تفرزه هذه اللقاحات من مواد هلامية وصموغ تعمل على تجميع حبيبات التربة وزيادة تماسكها أو قد يتم ربط الحبيبات أيضا عن طريق هيفات بعض الميكروبات المستخدمة كلقاح.

- الحد من تلوث البيئة وخفض تكاليف الإنتاج حيث تعتبر الأسمدة الحيوية مصادر غذائية نظيفة للنبات ورخيصة الثمن جدا إذا ما قورنت بالأسمدة المعدنية حيث وجد بالتجربة أن تكلفة التلقيح الميكروبي للفدان تصل إلى 5٪ أو أقل من قيمة الأسمدة الكيماوية المستخدمة.
- الإسراع في إنبات البذور وخروج البادرات مما يقلل من فرصة الإصابة بالأمراض.
- المحافظة على خصوبة التربة وتنوعها الحيوي بل وإمدادها بكميات وفيرة من الكائنات الحية الدقيقة المفيدة والتي قد تنافس الميكروبات المرضية وتحول دون نشاطها وإصابتها للنباتات.
- إفراز مضادات حيوية تثبط نمو بعض الميكروبات الممرضة للنبات.
- أكسدة بعض المركبات المختزلة، مثل أكسدة مركبات الكبريت وتحويلها إلى صورة الكبريات الصالحة للامتصاص بواسطة النبات.

إنتاج الإنزيمات القادرة على تحليل المواد العضوية المعقدة وتحويل العناصر الموجودة بها من الصورة العضوية إلى الصورة المعدنية الصالحة لاستخدام النبات . **(سامي عبد الحميد وآخرون)**

3.2 خصائص الكائن الحي المستخدم في تحضير الأسمدة الحيوية:-

لكي نضمن نجاح الأسمدة الحيوية المستخدمة في تيسير العنصر الغذائي اللازم للنبات يجدر بنا أن نوضح أهم الخصائص التي يجب أن يتميز بها الكائن الحي المستخدم في تحضير هذه الأسمدة وهي:-

- أن يكون الكائن الحي المستخدم ذات كفاءة عالية من حيث قدرته على توفير العنصر في الصورة الملائمة للنبات المسمد.
- أن يتوافق الكائن الحي الدقيق المستخدم مع النباتات المسمدة أي تكون الظروف البيئية الملائمة له هي نفس الظروف الملائمة لنمو النبات.
- في حالة الكائنات المتكافلة يجب اختيار الكائن الحي الدقيق المتخصص على العائل النباتي المسمد.
- يجب أن يكون الكائن الحي الدقيق المستخدم ذات مقدرة على البقاء في التربة لمدة طويلة.
- يجب أن يكون لمثل هذا الكائن قدرة تنافسية عالية للكائنات المماثلة والموجودة بصورة طبيعية في التربة الزراعية المسمدة.

- ألا يكون لنشاط الكائن أي آثار جانبية على نمو النبات المسمد.

(سامي عبد الحميد وآخرون ،2018)

4.2 مقارنة بين التسميد الحيوية والكيميائية :

جدول يوضح مقارنة بين التسميد الحيوي والأسمدة النتروجينية الكيميائية

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

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

2)(الشيني لسنة 2016).

5.2 العوامل المؤثر علي النمو البكتيري :

1.5.2 **تركيب التربة : Soil Structure**

يؤثر تركيب التربة علي العوامل الأخر مثل التهوية والرطوبة والتي تؤثر بدورها في نشاط الكائنات الحية .
كما أن الحبيبات الطينية يلتصق بالإنزيمات والعناصر الغذائية في التربة.

2.5.2 تهوية التربة : Aeration

أن مهمة وجود فراغات بينية (Rorespace) ملئيه بالهواء لها المقدرة علي التبادل الغازات مع الهواء الخارجي تعتبر احد العوامل المهمة في وجود تركيب التربة.
وجود الكائنات الحية اللاهوائية والتي تؤدي الي تأثير علي العمليات الفسيولوجية والتمثيل الغذائي والتغيير في هرمونات التي تفرزها النبات.

3.5.2 الحرارة : (Temperature)

تختلف الكائنات الحية اختلافا كبيرة في درجة تحملها الخلية ،كما أنها تختلف في درجة الحرارة المثلي للنشاط والتكاثر.
ويمكن تقسيم الكائنات الحية من تحملها للحرارة إلي ثلاثة مجموعات :
أ) محبة للبرودة (Psychrophiles) وتنمو بين صفر و 20م˚
ب) متوسطة الحرارة (Mesophilies) وتنمو بين 20م˚و 30م˚

ج) محبة للحرارة (Thermopiles) وتنمو في درجة الحرارة 45م˚
أو أكثر ولا تنمو في درجة حرارة اقل 40م˚.
إن تأثير الحرارة يتحكم في معدل النشاط الكيميائية الحيوي للكائنات الحية فتزيد معدلات النشاط الحرارة حتي تصل الي أقصاها عند درجة الحرارة المثلي . (احمد المصطفي ،1993)

4.5.2 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 إليها 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 أعيدت الخلايا الي بيئة ذات ضغط اسموزي عادى تعود الخلايا الي حالتها الطبيعية بعض الأنواع تعيش في تركيزمرتفع من ملح الطعام يصل إلى 10- 15%.(احمد المصطفي ،1993)

5.5.2 الرطوبة :(Moisture)

ترجع أهمية الماء في التربة إلي احتوائه علي عديد من الاملاح المعدنية الذائبة وعلي مصادر متنوعة من العناصر الغذائية اللازمة لكائنات التربة وبمرور الماء إلي أسفل التربة فإن هذه الاملاح الغذائية علي تتجمد عند منطقة الميكروبات يتوقف فقدان الاملاح المصادر الغذائية علي القوام التربة ومعدل السقوط الامطار وجود الغطاء النباتي ونوعه.

6.5.2 الملوحة :(Salinity)

التربة المالحة هي التربة التي تحتوي علي كميات كبيرة من الاملاح الذائبة مثل الصوديوم ،والكالسيوم ،والمغنسيوم ،الكلور تتكون هذه التربة عادة في المناطق الجافة والحارة وتكون في موسم الخريف كمية الماء والأمطار أعلي من كمية التبخر مما يؤدي علي غسيل الاملاح مع الماء الي داخل التربة وبالتالي يؤثر علي الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في التربة. (الصديق احمد المصطفي 1993)

7.5.2 تركيز ايون الهيدروجين pH :

- تلعب أيونات الهيدروجين دور هام في العمليات الحيوية و ذلك لصغرحجمها و سرعه تحركها .
- يجب مراعاتها عند تحضير البيئات المغذية .

- زيادة التركيز يكون سام للخلايا.
- التركيزات المتوسطة تسمح بالنمو
- التركيزات المنخفضة جدا غير مناسبة للنمو

البكتيريا تقسم حسب قدرتها على المعيشة في درجات pH إلى:

- الدرجة المثالية لنمو البكتيريا قريبة من المتعادل pH 7
- بعض الأنواع الشاذة تتحمل الحموضة الزائدة

مثال: البكتيريا المنتجة لحمض ألخليك

- البكتيريـا الممرضـة للإنسان و الحيـوان تتحمـل القلويـة (تتراوح بين7 – 7,4) .

(احمد المصطفي ،1993)

8.5.2 **العناصر الثقيلة : (Heavy Metals)**

علي رقم ان كثير من العناصر يمثل جزءا مهما من احتياجات النبات والكائنات الحية الدقيقة عند ما تكون التربة بتركيزات قليلة الا أنها تكون سامة و قاتلة وعندما يزيد تركيز في التربة ويعزي ذلك لأنها تؤدي الي التغيير الطبيعية البروتينات في الكائنات الحية تركيزها علي حد معين .

9.5.2 الضوء :(Light)

بعض البكتيريا تتطلب وجود الضوء المرئي لكي 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، الإشعاعات ذا الأطوال الموجبة القصيرة عن الضوء المرئي لها تأثير مميت للكائنات الدقيقـة تستعمل في التعقيم دون ان ترفع درجة الحرارة لذلك تعرف بطريقة التعقيم الباردة .

(المصطفي حياتي، 1993)

6.2 الكائنات المثبتة للنتروجين:

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

7.2 **تقسيم الكائنات المثبتة للنتروجين :**

1-البكتريا الحرة المثبتة للنيتروجين:

وهي بكتريا لا هوائية وشحيحة الأكسجين منها وأخري هوائيـة مثـل Azotobacte والسـيانو بكتريـا واللاهوائيـة Clostridium.Pastorianum كما ان بعض السيانو يكتريا تستطيع تثبيت النيتروجين تكافليا

مع نباتات غير بقوليه مثل الا زولا.

2-البكتريا المثبتة للنيتروجين بالتشارك**:**

جنس Azospirillumيتم التشارك مع المحاصيل النجيلية.

3-البكتريا التكافلية المثبتة للنيتروجين:

وهي تنقسم الي نوعين:

أولا: البكتريا المتكافلة مع البقوليات ويمكن تصنيفه الي ثلاثة أجناس**:**

1 -*Rhizobium*

2 -Brady rhizobium

3-Azorhizobium

:ثانيا:البكتيريا المتكافلة مع غير النتروجين

لاكتينوميستات: تتكافل البكتيريا من الجنس الغير بقوليه مثل الا لدر مع عدد من النباتات frankia

السيانو بكتيريا: تتكافل مع النباتات أو الاشجار الخشبية Trema canndabia

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

8.2 **الصفات المظهرية لبكتريا الرايزوبيوم :**

بكتيريا سالبة لصغبة جرام ،عصوية الشكل ،ابعاد عصياتها تتراوح بين (0.5 – 0.9 مايكرومتير) الي (2– 3) وهي بكتريا غير منتجة للسبورات.(Young، 2003) .

توجد الرايزوبيوم بصورة متعايشة مع أحد النباتات في داخل العقد الجذرية (Brom , 2000) .

.تحتوي الرايزوبيا على كروموسوم واحد وعدد من البلازميدات تتراوح بين 2 – 12 حيث تمثل البلازميدات التركيب الجيني للبكتريا وتشكل البلازميدات حوالي 35 – 65 % من التركيب الجيني الكلي للبكتريا ، حيث أن البكتريا تمتلك جينات مسؤولة عن العقد البكتيرية وتثبيت النتروجين تكون موجودة على بلازميد كبير الحجم مفرد يعرف بـ Plasmid Symbitic (Rivas al et , 2002) . تمتلك الرايزوبيا بلازميدات ضرورية لتكوين العقد الجذرية وتثبيت النتروجين بوساطة الجينات المسؤولة عن تخليق الاحماض الامينية وبناء Lipopolysacharide الذي يشكل النسبة بكتريا السالبة لصبغة جرام (Spaink al et , 1996).

9.2 **علمية تكوين العقد الجذرية :**

تفرز جذور النباتات البقولية الحمض ألأميني تربتوفان وتعتبر هذا الحمض أحد المواد المشجعة لبكتيريا العقد الجذرية الموجودة في الارض ،ثم تقوم البكتيريا المسؤلة عن التثبيت بتحويل التربتوفان الي أندول حمض ألخليك ويقوم هذه الحمض بعمل تمزق وتشقق أو تقطع في الشعيرات الجذرية، يلي ذلك دخول الميكروب والذي يتحكم في دخوله الشعيرة الجذرية علي ونواه الخلية الشعيرة الجذرية ،فأن كان النواة في

قاعدة الشعيرة سوف يؤدي ذلك الي نجاح الميكروب في تكوين العقدة ويتم ذلك من خلال المسار من الشق الي القاعدة بتكوين أنبوية ملئيه بالميكروب وتسمي بالخيط العدوى داخل خلايا القشرة ويتفرع وينفجر مخرجا البكتيريا .

وفي طبقة القشرة بتكون الخلايا الكر وموسومات حساسة جدا لدخول البكتريا فتنقسم بسرعة كبيرة ويتضاعف عدد الخلايا مرات كثيرة فتضغط علي القشرة للخارج ويعمل الانتفاخ ، وعند يسكن البكتريا داخل الخلايا تتحول الي طور يسمي Bacterioides وهو عبارة عن خلايا بكترية متحولة الي الطور الساكن ،تتجمع هذه البكترية في مجاميع في أكياس تفصلها عن بعضها مادة حمراء تسمي Legnhacmogloin ويعتبر هذا النظام هو المسؤلة عن تثبيت النتروجين لأن لون الصبغة الحمراء يؤخذ المقياس لمقدرة العقدة علي التثبيت النتروجين . (جمال محمد الشبيني ،2004).

10.2 المميزات الرئيسية لبكتريا العقدة الجذرية:

- تتبع بكتريا العقد الجذرية جنس *Rhizobium*
- بكتريا صغيرة اسطوانية .
- غير متجرثمة .

- هوائية .
- تعيش حرة في التربة .

قادرة على إصابة نباتات بقولية معينة محدثة العقد الجذرية ، فلكل نبات بقولي أو مجموعة من النباتات البقولية نوع أو سلاسلة معينة الرايزوبيا التي تستطيع أن تكون عليها العقد ، بينما لاتستطيع ذلك سلالة أخرى .(د. عبد الله الصالح الخليل وآخرون ، 2018)

تتبع بكتريا العقد الجذرية جنس Rhizobium) (وهي بكتريا صغيرة اسطوانية غير متجرثمة هوائية وسيطة الحرارة قادرة علي إصابة نباتات بقوليه معينة محدثة العقد وعند وجود هذه البكتريا في العقد تكون عصوية الشكل أوتظهر خلاياها متفرعة علي صورة Xytوهي عادة محتوية فجوات وتسمي الأشكال التي تظهر بإشكال غير عادية بال bacteroids .(غنيم عامر).

1.10.2 **تثبيت النتروجين:**

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: بالفعل المشترك بين بكتريا العقد الجذرية والنباتات البقولية) (هاشم محمد بابكر ،مارس 2001م).

2.10.2 تثبيت التكافلي للنتروجين :

التكافل هو العلاقة التي يحدث فيها تبادل منفعة بين شـريكين مختلفتـين ينموان معا في ارتباط وثيق .والعلاقة بين النباتات البقولية والبكتريا التي تنمو في العقد الموجودة علي جذورها هي عادة علاقة يمد النيات فيها البكتريا بالغـذاء العضوي وغير العضوي وتحدث البكتريا تثبيت النيتروجين في النباتـات علـي صورة بروتينات ، وبكتريا العقد الجذرية النامية منفردة سـواء فـي التربـة أو المنابت لتثبيت النيتروجين.

11.2 معوقات التثبيت التكافلي للنتروجين:

- عدم وجود لقاحات جيدة الفعالية لكثير من البقوليات.
- الاختلافات الجغرافية في المحاصيل والتربة مما يستدعي عزل لكل بيئـة علي حدة.
- صعوبة حفظ اللقاحات ونقلها لمواقع الزراعة والإنتاج.
- ضيق الفترة الزمنية لنشاط العقد الجذرية وبالأخص في وبقوليات الحبوب.
- ضعف البكتريا في اللقاحات المضافة في منافسة البكتريا المستوطنة.

12.2 التقييم ألفلاحي لتثبيت النتروجين بواسطة الرايزوبيوم :

تعتبر عملية تثبيت النتروجين وفعاليتها نتاجا تفاعلات معقدة وخاصة للوراثة بين النبات ألبقولي وبكتيريا الرايزوبيوم والبيئة المحيطة .

وتتحمل تفاعل النشط وفعال بين البقول والرايزبيوم يمكننا أن نتحكم في هذه العلاقة التكافلية الأتي :ـ

أولا ـ باختيار العنيات الملائمة من البقول والتي يمكنها تكوين عقد فعالة مع السلالات البكتيريا الموجودة في التربة .

ثانيا ـ تغيير المجتمع البكتيريا الموجودة في التربة وذلك بسلالات جديدة فعالة ومختبرة.

ثالثا ـ المزيد من الاختيارات والانتخاب و الاختيارات الا زواج الفعالة من التكافليين وتشمل الاختبارات الأخيرة خصائص أخري مرغوبة في البقول بجانب البحث عن القدرة العالية علي تثبيت النتروجين (هاشم محمد بابكر ،مارس 2001م).

تقوم بكتريا العقد الجذرية بتثبيت النيتروجين الجوي والتـي تنمـو علـي جذور المحاصيل البقولية مكونة عقد بكتيرية تعيش معيشة تكافلية مع المحصول حيث تأخذ منه مواد الطاقة كربوهيدرات (وتقوم هي بتثبيت النيتروجين الجـوي الذي يستفيد منه النبات).

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

إنزيم النيتروجيينيز هو العامل المشترك في كل أنظمة تثبيت النيتروجين المعروفة وهي ثلاثة انواع: نتروجينيز المولبدنوم والفانيديوم ونتروجينيز الفلزات خلاف الحديد .

13.2 أساسيات اختيار الزايزوبيا :

يتم اختيار سلالة الرايزوبيم للمحصول المعين حسب قدرتها علي الإصابة وتكوين العقدة الجذرية القادرة علي تثبيت النتروجين النتروجين بكفاءة عالية للمحصول المعين وذلك تحت الظروف مختلف ظروف التربة والنبات المتاحة لزراعة ذلك المحصول. (هاشم محمد بابكر ،مارس 2001م).

14.2 مواصفات سلالات الرايزوبيوم الأصيلة :

بعض هذه المواصفات يعتبر ضروري في حين ان بعضها الأخير يستحسن وجودها اعتمادا على الهدف من الاختيار .الصفات الضرورية يمكن تلخيصها في الاتي :

- القدرة على تكوين العقد الجذرية في البقول في مكان زراعته والظروف الحقلية السائدة.
- القدرة على تثبيت النيتروجين بفعالية تؤدي إلى إنتاجية تماثل إنتاجية المحصول المعامل بالسماد الصناعي(effectiveness).
- المقدرة على الإصابة والتثبيت عندما يكون الرايزوبيا في شكل لقاح تجاري.
- المقدرة على الاستمرار حية خلال توزيع اللقاح على المزارعين وخلال فترة استعمالهم له.
- قابلية الرايزوبيا على مقاومة درجات الحرارة العالية .

15.2 أسباب الحاجة للتلقيح ولاختيار السلالات:

إن الاختيار سلالات الرايزوبيا الممتازة عملية طويلة قد تستغرق سنوات عدة لإكمال الوصف والتجريب واختيار الحامل المناسب وتصنيع اللقاح .ومن المعلوم أن كثير من السلالات قد درست وطورت في كثير من المعامل العالمية فالمستحسن البداية بهذه السلالات وتجريبها علي عينات البقول المحلية تحت الظروف السائدة .وحينما لاتجدي مثل هذه المستوردة يكون من الضروري إختيار السلالة المحلية .والظروف التي تستوجب التلقيح واختيار السلالات في كالأتي :-

- عند ما تكون المحصول جديدا علي المنطقة عادة تكون خالية من الرايزابيا المناسبة مثل إدخال محصول فول الصويا في السودان كما يستوجب التلقيح لندرة بكتريا Bradyrhizobium japonicum.
- عند تعجز السلالات المتوطنة عن تكوين العقدة أو تثبيت النتروجين بالكفاءة المطلوبة أما لقلة أعدادها أوعدم كفاءتها.
- عدم وجود اللقاحات المطلوبة أو ملحقات قليلة الكفاءة (نوري،مارس 2001)

16.2 مراحل اختيار سلالة الرايزوبيوم:

- الاختيار للتوافق الوراثي .

- اختيار كفاءة تثبيت النتروجين .
- تجريب الكفاءة تحت الظروف السائدة في التربة.
- تجريب الكفاءة تحت الظروف الحلقية .
- تجريب الكفاءة في مواقع متعددة.

(نوري،مارس 2001).

الباب الثالث

مواد وطرق البحث

Material & Methods

الباب الثالث
مواد وطرق البحث
Materials & Methods

أجريت التجربة بمعمل قسم علوم التربة والمياه في كلية الدراسات الزراعية بشمبات التابعة لجامعة السودان للعلوم و التكنولوجيا.
اشتملت الدراسة على ست معاملات باثنين مكررات لكل معاملة بالاضافة الى الشاهد.

1.3الأجهزة والأدوات:

pipettes(Manual and Automatic) - ماصة

- petri dishes - إطباق بتري
  دوارق معيارية - Air laminar flask
- أنابيب - tubes
  Inculating loops – ابر تزريع
- Benzen Burner - موقد بنزين - كأس زجاجي
  Incubator - حضان
- Autoclave أوت وكليف - refrigerator ثلاجة
  Laminair flow كابينة التزريع
- Balance ميزان

2.3 إضافة الاملاح للبيئة:

تم معاملة بكتيريا الرايزوبيوم في تركيز مختلفة من ملح Nacl . التراكيز(0, 0.5%,1.5%,2%,2.5%,1%).

3.3 تحضير البيئة:

- نأخذ 15جرام من Agar Powder Bacteriological
- 0.2 جرام من(A,R)Di Potassium Hydrogen Phosphate
- 0.1 جرام من Potassium Di Hydrogen Orthophosphate (A,R)
- 10 جرام من Mannitol
- 0.1 جرام Magnesium Sulphate
- 0.2 جرام من Yeast Extract

- 1 جرام . Sodium Chloride

يتم اضافة كل المكونات أعلاه الي الماء المقطر في دورق عياري (Airlaminar flask) سعة 1000مل.
يتم تعقيم البيئة باستخدام جهاز Autoclave لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة 121°مئوية وضغط 15 رطل/بوصة^2.

4.3 عملية تلقيح :

- تحت ظروف التعقيم يتم صب البيئة في الإطباق وتترك حتي تتصلب.
- بعد عملية التصلب تلقح الإطباق ببكتريا الرايزوبيوم .
- يتم عمل التخفيف المتسلسل باستخدام 8 انابيب اختبار.
- تم استخدام بكتريا رايزوبيوم من بيئة اجأر مائل.
- تم استخدام التخفيفين 10^4,10^8 في التجربة موضوع الدراسة. ·
- تلقيح الأطباق:

يتم تلقيح الإطباق باستخدام ماصة الكترونية 1مل ويتم ذلك باضافة 1مل من التخفيف المستهدف للطبق.
تكتب البيانات الآتية علي كل طبق (التاريخ، اسم مجري التجربة، التخفيف المستخدم و تركيز الملح في البيئة).

5.3 فترة التحضين:

- تحضن الإطباق مقلوبة في الحضان عند درجة الحرارة 30° م لمدة 10 أيام.
- بعد ذلك تم عد المستعمرات البكتيرية.

الباب الرابع

النتائج والمناقشة

Result & Discussion

جدول يوضح النتائج اثر الاملاح في نمو بكتيريا الرايزوبيوم:

Tret	***10^4***	***10^8***
Normal	***TMTC***	***250***
0.5 %	***33***	***6***
1%	***20***	***2***
1.5%	***–***	***–***
2.0%	***–***	***–***
2.5	***–***	***–***

- من النتائج أعلاه نلاحظ ان نمو بكتريا الرايزوبيوم يتأثر سلبا بزيادة تركيز الاملاح في البيئة الغذائية، كانت كثافة النمو اعلي في التخفيف 10^4 منه في التخفيف 10^8 وذلك في كل التراكيز النامية، تركيز الملح 0.5% كان اكثر كثافة من التركيز 1.0% ولم تنمو في التراكيز (1.5، 2.0 ، 2.5).
- هذه النتائج متطابقة لما ذكره (احمد المصطفي 1993) .
- إن النتائج هذه البحث لا تمثل جميع أنواع جنس Rhizobium .

الباب الخامس

التوصيات

التوصيات:

1) من التأثيرات الضارة من ملوحة نجد أن كمية الاملاح كلوريد الصوديوم العالية تؤثر علي الرايزوبيوم وعليه يجب لتأكد من الجرعة الموصي بها وكفاءة جنس الرايزوبيوم.

2) إعتماداً علي نتائج البحث نوصي بأن التركيزات (1.5، 2.0 ، 2.5) من ملح Nacl غير ملائمة لنمو بكتيريا الرايزوبيوم.

3) من نتائج الدراسة نوصي بأن تكون الدراسات القادمة مكملة لهذه الدراسة وان تعلق بمدي تحمل بكتيريا رايزوبيوم للملوحة العالية.

المراجع : References

1. عبد الله الصالح الخليل و يوسف حسن يوسف (2016) (https://almerja.net/reading.php. idm=4235)
2. سامي عبد الحميد حماد (2018) ،دور الاسمدة الحيوية في الزراعة ،(المصدر البيئة والزراعة العضوية في العالم العربي (https// almerja.net/reading.php.idm=99758)
3. ميرفت الطاهر بن محمود (2016) موارد طبيعية ، المجلة السورية للبحوث الزراعية (https://agri-research –journal .net/cat=98&paged)
4. الصديق احمد المصطفي الشيخ حياتي (1993) .الأحياء الدقيقة في التربة ،دار جامعة الخرطوم للنشر والتوزيع
5. محمد أحمد الحاج حداد (1991) . تمارين معملية في ميكروبيولوجيا التربة، الدار العربية للنشر و التوزيع ، القاهرة.
6. جمال محمد الشبيني (2004). التسميد الحيوي ، معهد بحوث الأراضي والمياه والبيئة، المكتبة المصرية، الاسكندرية.
7. نوري عثمان مختار وهاشم محمد بابكر(2001). تثبيت النتروجين الجوي والتسميد الحيوي، هيئة البحوث الزراعية، الجزيرة.