بسم الله الرحمن الرحيم

جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا
كلية الدراسات الزراعية
قسم علوم التربة والمياه

بحث تكميلي لنيل درجة الباكلاريوس مرتبة الشرف

بعنوان:

دراسة معملية لمعرفة أثر إضافة المضاد الحيوي علي بكتيريا الرايزوبيوم المعزولة محليا من نبات الفول المصري

إعداد الطالبة:

مستورة الدومة أدم حسب

إشراف الدكتور:

محمد أحمد الحاج حداد

2017م

والداي اللذان يستحقان مني كل الحب والتقدير

الي ملاكي في الحياة إلي معني الحب ومعني الحنان والتفاني إلي بسمة الحياة وسر الوجود

(والدتي العزيزة)

الي من كللة الله بالهيبة والوقار إلي من علمني العطاء بدون إنتظار

الي من أحمل إسمة بكل إفتخار أرجو من الله أن يمد في عمرك لتري ثمار قد حان قطافها بعد طول إنتظار وستبقي كلماتك نجوم اهتدي بها اليوم وفي الغد والي الابد

(والدي العزيز)

أهدي ثمرة جهدي إلي من حرك في نفسي ومضة الأمل وحبب إلي المعرفة أخذا بيدي للإرتقاء سلم العلم

(أساتذتي الاجلاء ...)

إلي من حبهم موصولا بنبض قلبي إلي سر حياتي وكيان أفراحي

(أخواتي العزيزات ...)

إهداء خاص:

إلي زملائي وزميلاتى بقسم علوم التربة والمياة الدفعة 2012

وإهداء خاص جدا:

إلي اروع ما قد يكون هدية في العمر وانتهت عنده الحياة ...

الشكر والعرفان

الشكر أولاً وأخيراً لله عز وجل الذي علم الإنسان ما لم يعلم

ومن ثم الشكر لقدوتنا وقائدنا علي الطريق المنير

الدكتور محمد أحمد الحاج حدادمتعه الله بالصحة والعافية

إلي اكبر عون لنا ومنبع قدرتنا ومثلنا الاعلي إلي النبع الذي لايمل من العطاء الذي سخر حياته كلها لينير لنا الطريق إلي من لة وحدة بعد الله عز وجل فضل هذة النهاية

الدكتور: السموأل محمد ميرغني

والشكر موصول لشعبة علوم التربة والمياه

الشكر إلي

فنيين معامل قسم علوم التربة والمياه

وكل من ساعدني في إخراج هذا الجهد المتواضع

لهم مني جزيل الشكر والعرفان

الفهرس

المحتويات

الآية..... I

الإهداء..... I

الشكر والعرفان I

الفهرس..... III

ملخص البحث Abstract..... V

الباب الأول 1

المقدمة Introduction..... 1

1-1 الفول المصري: 1

2-1 أهداف وأهمية البحث: 2

الباب الثاني..... 3

الدراسات السابقةLiterature Review 3

1.2 البقوليات: 3

1.1.2 الموطن الاصلي: 3

2.2.2 الوصف النباتي:..... 3

4.1.2 الاستعمالات: 5

5.1.2 القيمة الغذائية:..... 5

2.2التلقيح البكتيري: 5

3.2 التثبيت التكافلي للنتروجين: 6

4.2 الية تشكيل العقد الجذرية في النباتات البقولية بالخطوات الاتية: 7

5.2 اختراق البكتيريا للعقد الجذرية: 7

6.2 التسميد الحيوي:..... 8

1.6.2 المخصب الحيوي:..... 8

2.6.2 أنواع المخصبات الحيوية:..... 10

3.6.2 فوائد المخصبات الحيوية: 10

الباب الثالث..... 12

مواد وطرق البحثMaterials and Methods..... 12

1.3 الاجهزة والادوات: 12

1.1.3 الاجهزة : 12
2.1.3 الأدوات: 12
2.3 المواد المستخدمة: 13
3.3مصدر البكتيريا: 14
4.3 طريقة عزل البكتيريا من العقدة الجذرية : 14
5.3تحضير الأوساط الزراعية المستخدمة: 14
1.5.3 تحضير بيئة مستخلص الخميرة الصلبة: 14
2.5.3 تحضر بيئة مستخلص الخميرة السائلة: 15
6.3 تلقح بالبكتيريا: 15
7.3السلالات النقية: 15
8.3عزل البكتيريا: 15
9.3 المضاد الحيوي: 15
الباب الرابع 16
النتائج والمناقشة Results and Discussion 16
1.4 النتائج: 16
2.4 مناقشة النتائج: 18
الباب الخامس 19
التوصياتRecommendation 19
المراجع References 20

ملخص البحث Abstract

أجريت التجربة في معمل التربة بكلية الدراسات الزراعية بجامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا خلال العام 2017.

وأجريت الاختباراتعلي بكتيريا الرايزوبيوم المعزولة محليا من نبات الفول المصري وذلك بهدف معرفة اثر المضاد الحيوي.

واشتملت الدراسة علي ثلاث تركيزات (0.1, 0.3, 0.5) لكل تركيز ثلاث مكررات والشاهد بدون مضاد حيوي .

وتم الحصول علي النتائج و التي أثبتت أن بكتيريا الرايزوبيوم قد تأثرتسلباً بزيادة تركيز المضاد الحيوي (0.1 , 0.3 , 0.5) جم علي التوالي .

الباب الأول

المقدمة Introduction

1-1 الفول المصري:

يعتبر الفول المصري من اهم المحاصيل البقولية الشتوية المهمة في تغذية الانسان نظرا الي قيمتها الغذائية العالية حيث تزرع من اجل بذورها التي تستهلك خضراء او جافة، يحتوي الفول المصري علي نسبة عالية من البروتين تتراوح ما بين 27-31,3 تتذبذب المساحة المزروعة من عام لعام نتيجة لتذبذب تكلفة الانتاج والاسعار وتتارجح الانتاجية نتيجة الاحوال المناخية خاصة درجة الحرارة.

يمتاز الفول المصري بان لة مقدرة وكفاءة في تثبيت النيتروجين في التربة ممايزيد من خصوبتها ويرفع انتاجية المحصول الذي يلية في الدورةحيث ان الفول له اهمية غذائية تكمن في انة :وجبة غذائية متكاملة ’غني بالبرتين والاملاح والفايتمين ’مقاوم لامراض سرطان الدم’خفض ضغط الدم ’قشورة تقاوم الامساك ’زهورة مهمة في ادرار البول.تلعب بكتريا العقد الجذرية الرايزوبيوم دورا حيويا في الزراعة عن طريق حثها لتكوين العقد الجذرية على جذور النباتات البقولية و تستطيع هذه العقد ان تقلل كمية المخصبات النيتروجينية المضافة خلال نمو هذه المحاصيل .

بكتيريا الرايزبيوم لها القدرة في تثبيت النيتروجين حيث انها تقوم بتحويل غاز النيتروجين الجوي الي ايون الامونيوم حيث تقوم انواع اخري بتحويلها الي ليونات النتريت ،وفي النهاية تقوم بكتيريا اخري بتحويلها نترات وهي المادة التي يستطيع النبات امتصاصهابالجزور.

تجمع بين بكتيريا الرايزوبيوم والنباتات البقوية علاقة تكافلية حيث انها تتدخل في التلقيح البكتيري وهو مهم في تنشيط وزيادة فعالية التثبيت الحيوي للنتروجين الجوي اي يمكن استخدامةكبديل للتسميد المعدني للنيتروجين.

1-2 أهدافوأهمية البحث:

يهدف البحث الي دراسةمعمليةلمعرفة أثر المضادات الحيوية علي بكتيريا الرايزوبيوم المعزولة محليا من نبات الفول المصري . وتكمن أهمية البحث إستخدامبكتيريا الرايزوبيوم كمصدرطبيعي وبديل كلي أو جزئي للنتروجين المعدني للوصول إلي منتج صحي وأمن مع إنتاجية وجودة عالية وفي الوقت نفسة الحد من تلوث البيئة ببقايا السماد المعدني.

الباب الثاني

الدراسات السابقةLiterature Review

1.2 البقوليات:

تعد الفصيلة البقولية من اهم فصائل الخضرمن الناحيتين الاقتصادية والغذائية.وتشمل ما يقارب 450-500 جنس ,10782نوعاً موزعاً في المناطق الدافئةو الفول المصريViciaFabaمن بين الانواع هذه الفصيلة.

منصور واخرون(2005)

1.1.2الموطن الاصلي:

تعتبر اسيا الوسطي مركز نشؤها الاصلي وكذلك شمال افريقيا ويعتقد ان الجزائر علي وجه التحديد هي موطنه الاصلي

المنظمة العربية (2010)

زراعة الفول منذالازمنة القديمة في عصور المصريين القدماء واليونانيين والرومانييين.وهو من اهم البقول التي عرفها العالم .والفول من المحاصيل الرئيسية في مصر, ويزرع في جميع مناطقها,خاصة في الجنوب (الصعيد)

2.2.2الوصف النباتي:

- نبات عشبي حولي ,ساقة قائمة مضلعة جوفاء لة جذراصلي وتدي.
- يبلغ طول الساق نحومتر وربع المتر.

-اوراقه مركبة ريشية ذات عنق,الوريقات بيضاوية الشكل,متبادلة الوضع.

- تحمل الازهار في اباط الاوراق .تتكون النورة من زهرتين الي ست ازهار.الازهار بيضاء مبقعة بالاسود .

- قرن طويل يختلف طولة من خمسة سنتمترات الي عشرة.

-بذور ه كبيرة مضغوطة مختلفة الالوان,قصيرة البذرة ملساء.

المنظمة العربية ,(2010)

- يبدا النضج الاقتصادي :لقرونه بعد90-105يوما من الزراعة ويستمر الجن لمدة شهرين,وتجني قرون الفول كل 2-5ايام بحسب درجات الحرارة وكل 48ساعة بحسب الاصناف.

من اهم علامات النضج امتلاء القرون ونمو البذور بشكل جيد,وهي ما زالت غضة ,ويؤدي التاخير في الحصاد الي زيادة نسبة النشا في البذور,مع زيادة حجمها وتدهور نوعيتها اما الفول الذي يزرع من اجل البزور الجافة فانها تحصد بعد نضج وجفاف القرون السفلي تماما,ويكون بعد4-6شهور.

محمد وأخرون ,(2000)

3.1.2التخزين:

تعتبر عملية تخزين البذور من العمليات الهامة لاهميتها في حفظ البذورسليمة بهدف استخدامها كتقاوي ,يؤدي عدم التخزين الجيد الي الاصابة بخنفساء البقول .تخزن في درجة حرارة منخفضة ,ورطوبة نسبية90-95% ,واضاءة منخفضة.

الطنوبي (1996)

4.1.2 الاستعمالات:

لنبات الفول المصري استعمالات عديدة اذ تستخدم قرونةالخضراء وبذورة الغضة في غذاء الانسان حيث تؤكل مباشرة او بعد الطهي.

يعتبرايضا غذاء للحيوانات وبعض الطيور, حيث يضاف لعلف الخيول والحمير حيث يخلط بالتبن (اعواد القمح او الشعير), وتجرش البذور الجافة ايضا لغذاء الحمام والبط والاوز.

المنظمة العربية,(2010)

5.1.2القيمة الغذائية:

الفول غني بالمواد البروتينية28% والاملاح المعدنية3% وفيتامين(ب) ودهون3% وجلاكوز2% ونشاء 48% ومواد اخري16%

المنظمة العربية (2010)

2.2التلقيح البكتيري:

يعتبر الفول المصري من المحاصيل البقولية التي تستجيب بدرجة كبيرة جدا إلي التلقيح البكتيري ببكتيريا العقد الجذرية (العقدين)حيث يمكن للنباتات في حالة التلقيح البكتيري الناجح أن تحصل علي كل أومعظم احتياجاتها من الأزوت عن طريق تثبيت الأزوت الجوي بواسطة العقد الجذرية التي تتكون علي جذور النباتات.

وينصح بمعاملة تقاوي الفول المصري بالعقدين عند الزراعة حيث يتم تلقيح تقاوي الفدان بكيس واحد من العقدين (100جرام) وذلك لتعويض نقص محتوي التربة من بكتيريا العقد الجذرية الفعالة نتيجة تعرض التربة للجفاف أو زيادة الرطوبة أوالتعرض

للشمس أثناء عمليات الخدمة إما عند الزراعة في الاراضي الجديدة اوالستصلحة حديثا فينصح بزيادة جرعة اللقاح الي (2-3) اكياس لتلقيح فدان واحد ,وذلك لخلو الاراضي من بكتيريا العقد الجذرية المتخصصة الفعالية واللازمة لتكوين العقدالجذر ية التي تفي باحتياجات النبات الأزوتية مما يحقق خفض تكلفة الانتاج وتحسين جودة المنتج وزيادة الانتاجية .

aradina.kenanaonline.com ›

3.2التثبيت التكافلي للنتروجين:

عرف منذ القدم أن بعض النباتات كالفول والبازلاء والفاصوليا غيرها تحسن الارض وتجعلها صالحة لزراعة محاصيل الحبوب بعدهاوقد تبيين سبب فائدة النباتات البقولية عندما ربط Hellriegel -Wilfarth

علاقة النباتات البقولية بالنتروجين بالعقد الجذرية المتشكلة علي النباتات البقولية, حيث وجد أن العقد الجذر ية تكونت علي جزور البقوليات و أن النباتات تكتسب كميات كبيرة من النتروجين عند تلقيح الوسط الخالي من النتروجين ببادئ الترابي يحتوي علي بكتيريا هذة العقد .

افتراضا أن البكتيريا في العقد الجذر ية تمثل النتروجين الجويوأن النبات يمثل المركبات النيتروجنية المثبتة من قبل هذة البكتيريا.وقد تم التحقق من هذة الفرضية فيما بعد وعزلت بكتيرياالعقد الجذر ية وسميت انذاك Bacillus Radicola وقد دعي الجنس بعدئذ Rhizobium .

يتبع لجنس الرايزوبيوم العديد من السلالات وكل منها يناسب نوعابقوليا معينا فاذا استخدم النوع البكتيري الخاص بالفول المصري.

Dawson (2008)

4.2 الية تشكيل العقد الجذرية في النباتات البقولية بالخطوات الاتية:

عندما تلتقي بكتريا الرايزوبيوم بالعائل الملائم لها (لان هنالك انواع محددة فقط من الرايزوبيوم تستطيع ان تتعايش مع انواع محددة من البقوليات)ينتج العائل البقولي موادكيميائية تدعي Flavonoidsجاذبة لهذة البكتيريا ومشجعةعليتكاثرها,تستجيب بكتيريا الرايزوبيا بانتاج جزيئات lipid-Carbohydrate المحفزة لنشاط الخلايا الجذرية .ويتسارع انقسام الخلايا الجذرية مشكلة انتفاخات ,مما يعني ان العقد هيتكيف جذري محدود بمناطق معينة من المجموع الجذري ناتجعن سلسلة من الانقسامات الخلوية كرد فعل علي مفرزات البكتيريا.

Hadarsonetal (1993)

5.2 اختراق البكتيريا للعقد الجذرية:

كاستجابة ثانية لمركبات lipid-carbohydrate فان الشعيرات الجذرية تلتوي بوصل البكتيريا اليها الجذرية تلتوي بوصول البكتيريا إليها الجذرية تلتوي بوصل البكتيريا إليها مغلقةبذلك هذه البكتيريا وتقوم الانزيمات الخاصة بالبكتيريا بهضم الجدار الخلوي لخلايا الشعيرات الجذرية وتدخل البكتيريا الي السيتوبلازم الخلوي, يتشكل في النبات شريط العدوي الهلاميالذي يمتد من مركز العقد الي داخل الخلايا الجذرية حتي يصلإلي جوار خلية رباعية الكروموزوم Tetraploidفيشجعهاعليالانقسام كما يشجع الخلايا الثنائية المجاورة علي الانقسام ايضا,ثم ينقسم خيط العدوي ويخترق الخلايا الرباعية الجديدةلكنة لا يخترق الخلايا الثنائية وهكذا تتشكل العقدة,تهاجم البكتيريا الخلايا الرباعية التي تكثر في المنطقة المركزيةلمرستيم العقدة بعد أن تتحرر من شريط العدوب وتظهر الحزم الوعائية للعقدة التي تلتحم بالجهاز الوعائي للجذر ويتم عن طريقها تبادل المواد الغذائية بين

النبات و البكتيريا والعكس,بعد بضعة انقسامات تفقد البكتيريا قدرتها علي الانقسام وتبدابانتاج الانزيم المثبت للنتروجين Nitrogenase,تدعي البكتيريا في هذة المرحلة Bacterioids وهي تعتقد في بقائها علي قيد الحياة علي التعايش مع النبات وتصبح غير منتظمة في شكلها, كما تتكون الصبغة الحمراء في هذه المرحلة

Frank and Mesy,(1995)

تحصل البكتيريا علي الطاقة من النبات علي شكل احماض Dicaroxylic2,3 وبالمقابل تزود الBacterioids النبات بالامونيا حيث تتصرف كعضو نباتي يعيد دورة احماض الامينو للنبات لتركيب الاسباراجين ,وهذا الدعم المتبادل يخلق توازنا في هذة العلاقة التكافلية دون أن تكون تحت سيطرة النبات العالي .

تشترك الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي بخاصية مميزة وهي استخدامها لغاز النيتروجين الخامل والعمل علي اتحادهبمركبات الخلية يسمي انزيم Nitrogenase الذي يتكون منمركبين يحوي احدهماعلي الحديد والالومنيوم والاخر علي الحديد فقط , وفي عملية تثبيت النتروجين الجوي يتم اختزال جزئ N_2 إلي جزئ الامونيا NH_3 انزيم النتروجينيز .

6.2التسميد الحيوي:

1.6.2المخصب الحيوي:

هو كائن دقيق يمكنه أمداد النبات باحتياجاته الغذائية أو أنه كل الإضافات ذات الأصل الحيوي (اللقاحات الميكروبية)Microbial inoculantsالتي تقوم بإمداد النبات باحتياجاته من العناصر الغذائية.

فمثلايمكن لهذه الكائنات أن تفرز مواد مشجعة ومنشطة لنمو النبات كهرمونات مما ينعكس علي نمو المحصول فتحول العناصر من صورها غير الميسرة إلي صورة ميسرة للنبات (فوسفور عضوي ..فوسفور معدني)تثبيت النيتروجين الجوي في صورة حرة أو تكافلية مع العائل النباتي لهذا الميكروب . والمخصبات الحيوية لها مصادر ذاتية رخيصة للنبات إذا ما قارنها بالأسمدة الكيماوية و يتم إنتاجها بعد اختيار الميكروب المناسب للغرض الذي سيتم إكثارة وا ٍنتاجه من أجله حيث يتم تنمية الميكروب على البيئة المناسبة ثم ينقل النمو لحامل مناسب وذلك تحت ظروف تعقيم لمنع تلوثه بميكروبات أخرى قد تكون منافسة أو مضادة للميكروب الأصلي مما لا يحقق الغرض المرجو ويتم حفظ المنتج بعد ذلك في ظروف ملائمة لحين استخدامة كلقاح للتربة ..أو للبذور وتعتمد فكرة إنتاج المخصبات الحيوية على أن التربة الزراعية مليئة بالميكروبات النافعة التي تعمل على زيادة خصوبتها وتحليل المواد المعقدة بها وا ٍمداد النبات بالعناصر الناتجة في صورتها الميسرة والصالحة للامتصاص أيضا تقوم ميكروبات التربة بدورا هاما في الحفاظ على التوازن البيولوجى في الكون حيث تقوم بإنتاج ثاني أكسيد الكربون اللازم لتعويض النقص الناتج من عمليات التمثيل الضوئي للنبات مما يساعد على حفظ التوازن الغازي للغلاف الجوى كما تلعب ميكروبات التربة دورها الحيوي الهام في تحليل المخلفات النباتية والحيوانية والآدمية وتقوم بتحليل ملوثات البيئة من كيماويات ومبيدات لتكتمل منظومة الحياة على كوكب الأرض بالتالي تعود البيئة كحالتها الأصلية لذا يطلق على هذه الميكروبات: أنها محركة الحياة ولولاها ما وجدت حياة على وجه الأرض. محمود,سعدأخرون(1988)

2.6.2 أنواع المخصبات الحيوية:

1. المخصبات العامة:

هي التي تضاف إلى أي محصول مثل الفوسفورين الذي يحول الفوسفات العضوي و المعدني من صورتهما غير الصالحة إلى صورة ميسرة للنبات.

2.المخصبات المتخصصة:

هي التي لا تنجح ولا تنتج إلا لمحاصيل معينة كالمخصب المحتوى على الطحالب الخضراء المز رقة والذي يضاف فقط للأرز.

محمود , سعد وأخرون (1988)

3.6.2فوائد المخصبات الحيوية:

1.تفيد الدراسات التي أجريت عن استخدام المخصبات الحيوية للزراعات المصرية سوف تدر عائد لا يقل مقداره عن مليار و35 مليون جنيها سنويا حيث أن أسعارها زهيدة للغاية مقارنة مع أسعار الأسمدة الكيماوية.

2. توفير جزء كبير من العناصر الغذائية الهامة للنبات (25%أزوت جوي مثبت +50% فوسفات مذاب)

3. تحسين مظهر النمو والمجموع الجذري و الثمرى

4. زيادة المحصول النهائي كما ونوعا (10-20%في محاصيل الحبوب) إفراز بعض منظمات النمو(GA+IAA).

5.المضادات الحيوية المقاومة للأمراض .

6.السمية في المنتجات نتيجة تقليل المتبقيات الكيماوية

7.إنتاج عالي الجودة (زراعة نظيفة)

8.زيادة المواد العضوية بالتربة وبالتالي تحسين خواصها وتحسين امتصاص الجذور المياه.

9.تحسين خواص التربة الرملية نتيجة إفراز مواد سكرية تعمل على تجميعها.

10.زيادة مسطح الجذور وبالتالي معدل الامتصاص.

11.إعادة التوازن الميكروبي للتربة وتنشيط العمليات الحيوية بها.

12.الحد من تلوث البيئة و الحفاظ على صحة الإنسان والحيوان.

13.تخفيض تكاليف الإنتاج لرخص ثمنها وتكاليف إنتاجها.

محمود , سعد وأخرون (1988)

الباب الثالث

مواد وطرق البحثMaterialsand Methods

1.3الاجهزة والادوات:

1.1.3الاجهزة :

* حضان Incubator

* كابينة التزريع Laminair flow

*سخان كهربائي Hot plate

* ثلاجة Fridge

* ميزان Balance

*الاتوكليف Autoclave

2.1.3 الأدوات:

* أطباق بتري Petri dishes

* أنابيب Tubes

*حامل أنابيب Rack

* موقد بنزن Bunsen burner

* زجاجات لحفظ البيئات Bottles

* كاس زجاجي Beaker

* ماصة Automatic&Manual Pipettes

*إبرة التزريع Inoculating loops

* ساق زجاجيGlass Rode

2.3المواد المستخدمة:

المواد	الكمية بالجرام
منتول	10جم
خميرة	0,2جم
اجار	15جم
Nacl	0.1جم
Cacl	0.1 جم
$Po_4.KH_2$	0.1 جم
$K_2H.po_4$	0.1 جم
ماء مقطر	

3.3مصدر البكتيريا:

تم أخذ العقد الجذرية من الولاية الشماليةوتم خلع النبات محتوياً علي بقايا التربة ووضعت في اكياس بلاستيكية معقمة وجلبت الي المعمل .

تم اجراء التجربة بمعمل التربة بكلية الدراسات الزراعية جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا.

4.3طريقة عزل البكتيريا من العقدة الجذرية :

1. تم احضار نبات الفول المصري من الحقل محتويا علي العقد .
2. تم غسل النبات من بقايا التربة .
3. تم فصل العقد من جزور النبات بواسطة ملقط وذلك برفق .
4. ثم وضعت العقد في انبوب محتوياً علي هيدروكسيد الصوديوم للحفاظ عليها مجففة .
5. ثم بعد ذلك وضعت العقدة في ماء مقطر للرجوع إلي وضعها الطبيعي .
6. بواسطة الساق الزجاجي Glass Rode تم هرس العقدة حتي تخرج البكتيريا من العقدة .
7. بواسطة الابرة ذات العقدة Loop

5.3تحضير الأوساط الزراعية المستخدمة:

1.5.3 تحضير بيئة مستخلص الخميرة الصلبة:

تم تحضيرها بأضافة مكوناتها جرام لكل لتر ماء مقطر. منتول 10,أجار15 , خميرة 2,KH_2 1, $K_2H.PO_4PO_4NaCl0,1CaCl$ 0.1

2.5.3تحضر بيئة مستخلص الخميرة السائلة:

تحضر بنفس المكونات ماعد الأجار وضعت في الدورق وتم تعقيم البيئة بواسطة جهاز الاتوكليف في درجة حرارة 121 درجة مئوية وضغط 15 رطل/بوصة .

ثم تم صبها في الاطباق وأدخلت في الحضان في درجة حرارة 15 درجة مئوية لمدة ثلاث ايام.

6.3 تلقح بالبكتيريا:

بعدهرس العقد تم تزريع الأطباق المحتوية علي البيئة باستخدام الأبرة ذات العقدة بطريقة التخطيط وادخلت الأطباق مرة أخري إلي الحضان في درجة حرارة 30 درجة مئوية .

7.3السلالات النقية:

من الأطباقالتي تم تزريعها تم تلقيح اطباق اخري محتوية علي بيئة جديدة للحصول علي سلالات نقية، من السلالات النقية تم تلقيح البيئة السائلة.

8.3عزل البكتيريا:

تم عزل البكتيريا بطريقة التخفيف المتسلسل وتم التزريع في بيئة اجار و ادخلت الأطباق في الحضان في درجة حرارة 30 درجة مئوية لمدة اسبوع .

9.3 المضاد الحيوي:

تمت معاملة بكتيريا الرايزوبيوم بثلاثة تركيزات(0.5 , 0.3 , 0.1)جم من المضاد الحيوي .

الباب الرابع

النتائج والمناقشة Results and Discussion

1.4 النتائج:

جدول (1) يوضح عدد مستعمرات بكتريا الرايزوبيومعنداضافة 0.1 جم من المضاد الحيوي Streptomycin

رمز العزلة	التخفيف 10^4 عدد المستعمرات	الخفيف 10^8 عدد المستعمرات
R1	14	0
R2	1	0
R3	1	1

جدول (2) يوضح عدد مستعمرات بكتيريا الرايزوبيوم عند أضافة 0.3 جم من المضاد الحيوي

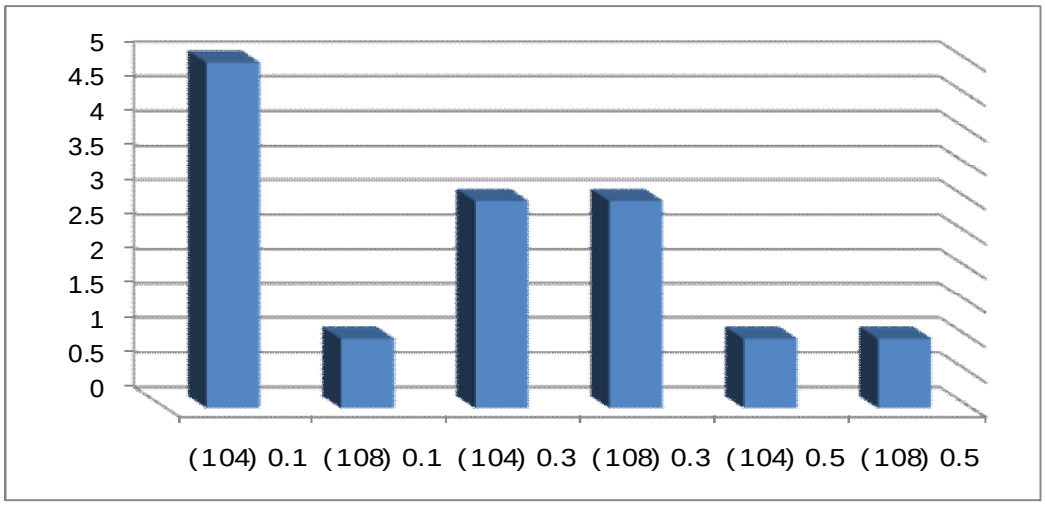
رمز العزلة	**التخفيف 10^4 عدد المستعمرات**	**التخيف 10^8 عدد المستعمرات**
R1	4	6
R2	3	3
R3	1	1

جدول (3) يوضح النتائج في حالة أضافة 0.5 جم من المضاد الحيوي

رمزالعزلة	التخفيف 10^4 عددالمستعمرات	التخفيف 10^8 عددالمستعمرات
R1	19	7
R2	5	3
R3	0	1

جدول (4) يوضح متوسطات عدد مستعمرات بكتيريا الرايزوبيومعند اضافة المضاد الحيوي

التركيزات	0.1 (10^4)	0.1 (10^8)	0.3 (10^4)	0.3 (10^8)	0.5 (10^4)	0.5 (10^8)
المتوسط	5	1	3	3	1	1



الشكل (1) يوضح متوسط عدد مستعمرات بكتيريا الرايزوبيوم عند اضافة المضاد الحيوي

2.4مناقشة النتائج:

بينت النتائج المعملية أن بكتيريا الرايزوبيوم قد تأثرت بتركيزات المضاد الحيوي (0.1 0.30.5) علي التوالي . أثبتت الدراسة أن بكتيريا الرايزوبيوم تتأثر سلبا بزيادة جرعة المضاد الحيوي حيث قلت أعداد المستعمرات البكتيرية في كل من التخفيفين.

الباب الخامس

التوصياتRecommendation

1.إجراء المزيد من البحوث والدراسات لمعرفة الجرعات المثلي من المضادالحيويلنمو مستعمرات بكتيريا الرايزوبيوم.
2 .اعتمادا علي نتائج البحث نوصي بان التركيزات (0.3-0.5)غير ملائمة لنمو بكتيريا الرايزوبيوم.
3.الاسمدة المعدنية خاصة الاسمدة النيتروجينة تاثر في تكوين العقد الجزرية.

المراجعReferences

المراجع العربية:

- المنظمة العربية للتنمية الزراعية (2010). دراسة حول الموارد الوراثية النباتية للأغذية والزراعة في الوطن العربي.
- محمد منصور عبد الفتاح وآخرون، (2000). الزراعة والغذاء في مصر، دار الشروق للنشر، القاهرة.
- محمد عمر الطنوبي، (1996). الإنتاجية بين البحث العلمي والإرشادالزراعي، منشآت المعارف، الإسكندرية.
- محمود، سعد علي زكي وآخرون (1988). ميكروبيولوجيا الأراضي، مكتبة الأنجلو، القاهرة، جمهورية مصر العربية.
- منصور، غيتا، حمد، ابتسام، القاضي، عماد (2005). الفصيلة الفولية وادي القرن، مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية.

المراجع الاجنبية :

-rdarson, G., Bliss,A., Cigales-Rivero. R. G. Henson, A. G.Longceri, L., Manriqus, A.(1993).Genotypic Varition in biological Nitrogen fixation by cammonbeam.plant soil 15-22

- Feank, D., Mesy, B. (1995). Fixing BacteriaMicrobilogy Facility, 22-16

- Dawson,J.o.(2008).Ecology of actinorhizol plants,Nitrogen-fixing.

المواقع الالكترونية:

- *aradina.kenanaonline.com*