بسم الله الرحمن الرحيم

جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا

كلية الدراسات الزراعية

قسم علوم التربة والمياه

بحث تكميلي لنيل درجة البكالوريوس مرتبة الشرف

أثر إضافة المضادات الحيوية والأملاح على بكتريا سيدوموناس

إعداد الطالبة:

عرفة عبد الكريم داود عمر

إشراف الدكتور:

السموأل محمد ميرغني

أكتوبر 2017م

الآية

قال تعالى:

ثُمّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا ﴿٢٦﴾ فَأَنبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ﴿٢٧﴾ وَعِنَبًا
وَقَضْبًا ﴿٢٨﴾ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ﴿٢٩﴾ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ﴿٣٠﴾
وَفَاكِهَةً وَأَبًّا ﴿٣١﴾ مّتَاعًا لّكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ ﴿٣٢﴾

صدق الله العظيم

سورة عبس (26-32)

الإهداء

إلى اللذان يستحقان مني كل الحب والتقدير

إلى ملاكي في هذه الحياة إلى معنى الحب والحنان والتفاني إلى بسمة

الحياة وسر الوجود

والدتي العزيزة

إلى من علمني العطاء بدون انتظار إلى من أحمل اسمه بكل افتخار له

الرحمة الواسعة والمغفرة

إلى روح أبي رحمه الله

إلى من منحني أجمل الأحاسيس والمشاعر شكرا لك أيها العالم الذي

احتواني بكل حب إلى سندي في هذه الحياة

زوجي العزيز

إلى كل من كان سببا في نجاحي وكل م قدم لي يد العون والنصح إلى

كل من أوقد بداخلي ومضة الأمل وحبب إلى المعرفة

أساتذتي الأجلاء

إهداء خاص إلى الزملاء والزميلات بقسم علوم التربة والمياه الدفعة

2012م وجميع طلاب كلية الدراسات الزراعية

إلى إخوتي وأخواتي الأعزاء جعلهم الله زخرا لي أظفر به في هذه الحياة

الشكر والتقدير

الشكر أولاً وأخيراً لله سبحانه وتعالى الذي وهبنا العقل والحكمة والحمد لله الذي أعاننا على إجتياز هذه المرحلة.

الشكر الجزيل للدكتور والأب الروحي للدفعة الدكتور/ السوالم محمد ميرغني الذي

لولاه ما خرج هذا البحث في هذه الصورة وأتمنى من الله أن يرزقه دوام الصحة والعافية.

وأخص بالشكر أسرتي التي وقفت معي في مشوار دراستي وكل من كان له الفضل في تأهيلي وإعدادي حتى وصلت إلى ما أنا فيه الآن.

وأخص بالشكر أصدقائي وصديقاتي بقسم علوم المحاصيل.

فهرس المحتويات

المحتويات **رقم الصفحة**

الآية..... I

الإهداء..... II

الشكر والتقدير III

فهرس المحتويات IV

ملخص البحث VI

الباب الأول 1

مقدمة: 1

الهدف من التجربة: 2

الباب الثاني..... 3

الدراسات السابقة..... 3

Literature Review..... 3

2-1 دور الأحياء الدقيقة في التربة وأهميتها: 3

2-1-1 أهمية أحياء التربة: 3

2-1-2 التأثيرات الضارة للأحياء الدقيقة في التربة: 4

2-1-3 دور الكائنات الحية في التربة: 4

2-1-4 التطبيقات في الزراعة: 6

2-2 العوامل البيئية التي تؤثر على توزيع الكائنات الحية بالتربة: 8

2-2-2 تركيز الأملاح The concentration of salts 9

2-2-3 الرقم الهيدروجيني pH: 10

2-2-4 الرطوبة Moisture: 10

2-4 البكتريا Bacteria 10

2-4-1 تقسيم البكتريا على أساس تركيبها وطريقة نموها: 11

2-4-1-1 بكريا حقيقية Eubacteriales: 11

2-4-1-2 البكتريا الراقية Bacteries superieures: 11

2-4-2 أشكال البكتريا الرئيسية: 11

2-4-3 تقسيم Bergey للبكتريا: 12

2-5 معدنة الفسفور العضوي: 14

الباب الثالث.....15
طرق ومواد البحث 15
3-1 الأجهزة والمعدات:.....15
3-2 الأدوات المستخدمة: Used equipment 15
3-3 المواد المستخدمة: Material used.....16
3-4 التجربة:.....16
3-4-1 العزل والتشخيص Insulation diagnosis.....16
3-4-2 تجربة الملح: 17
الباب الرابع.....18
النتائج والمناقشة.....18
التوصيات:.....20
المراجع: 21

ملخص البحث

أجريت التجربة في معمل التربة بجامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا (شمبات) لدراسة أثر إضافة المضادات الحيوية والأملاح على بكتريا السيدوموناس Pseudomonas وقد استخدمت ثلاثة تركيزات من المضاد الحيوي (0.1، 0.3، 0.5) وأربعة تركيزات من الأملاح (0.1، 0.2، 0.6، 0.8) وقد أوضحت النتائج أن استخدام المضاد الحيوي بالثلاث مستويات من التركيز أضعف وقلل من نمو بكتريا سيدوموناس وان إضافة الأملاح شجع وحفز نمو البكتريا بشكل كبير.

الباب الأول

مقدمة:

التربة هي تلك المنطقة من القشرة الأرضية التي تلتقي فيها الجيولوجيا والبيولوجيا، تتميز التربة بأنها تأوي جذور النباتات بالإضافة إلى الكائنات الحية الدقيقة وميكروبات التربة والحشرات والديدان والفئران..الخ.

كما أنها تأوي أعداد هائلة من الكائنات الحية الدقيقة (بكتريا بشتى أنواعها، فطريات، طحالب، بروتوزوا وفيروسات ...الخ). والتي تصل أعدادها إلى بلايين لكل جرام تربة. تحتوي التربة على أنواع كثيرة من الكائنات الحية الدقيقة أكثرها انتشارا البكتريا حيث يبلغ معدل انتشارها نصف إجمالي أعداد الكائنات الحية الجرثومية الموجودة في التربة وتوجد البكتريا بمعدل يتراوح بين 10.000- عدة ملايين لكل جرام تربة والغالبية منها غير ذاتية التغذية.

البكتريا الخيطية: وسيطة بين البكتريا والفطريات وهذه المجموعة كثيرة العدد موزعة بشكل كبشرة في التربة يتراوح عددها ما بين 104-108 / جم تربة تمثل المتسلسلات 70% من البكتريا الخيطية من المعروف أن معظمها منتج للمضادات الحيوية ويزداد عددها مع زيادة عمق التربة.

للفطريات والطحالب والبروتوزوا والكائنات المتعددة الخلايا دور كبير في تنظيم التوازن الحيوي في التربة، للكائنات الحية الدقيقة دور كبير في خصوبة التربة والتوازن الحيوي الميكروبي من أهم مهامها في التربة الآتي:

1. المساهمة في عملية التحول الغذائي.
2. تحلل المكونات المقاومة الموجودة في أنسجة الحيوان والنبات.
3. المشاركة في تكوين الدبال (Humus).
4. محاربة الكائنات الحية الممرضة.

5. المحافظة على التوازن الحيوي كما أنها تقوم بتفكيك المواد العضوية الطبيعية وهضمها وتحسين خصوبة التربة بتحطيم الأنسجة النباتية والحيوانية ودمج النواتج والمعادن مع التربة.

كما أن لها مقدرة عالية على تحليل المنتوجات المصنعة وتحويل المواد المحللة إلى معقدات عضوية مهمة في التربة في صورة (Humus) ويتركب من حوالي 60% من الكربون C و 6% من الأزوت N بالإضافة إلى مركبات فوسفاتية عضوية وسكريات معقدة. كما أن أحياء التربة الدقيقة تقوم بمزج هذا الدبال مع حركتها في التربة مما يساعد على تحسين خواص التربة وتفكيك حبيباتها وتهويتها وحركة الماء فيها تجعل الدبال المتكون في متناول الأحياء الدقيقة حيث تقوم بهدمه وتحليله تحلل بطيء محررة منه المغذيات النباتية بعد موت هذه الأحياء.

تتوزع الأحياء الدقيقة في التربة إما توزيع متجانس أو غير متجانس في قطاع التربة إذ يتركز معظم هذه الأحياء في طبقة البقايا العضوية وهي السنتمترات العلوية من التربة السطحية أو التحت سطحية وحوالي 90% من الأحياء الدقيقة منتشرة في الطبقة العلوية والباقي يتوزع توزيع أفقي تبعا لمحتوى التربة للمادة العضوية لمستوى جفاف الأرض أو غمرها بالماء كما يؤثر وجود النبات أو المحصول في أعداد الكائنات الحية المنتشرة بأنواعها في المحيط الجذري (Rizophere).

الرايزوسفير هي المنطقة المحيطة بجذور النباتات حيث تنمو فيها الكائنات الحية بأعداد هائلة ومن أهم الكائنات المنتشر في منطقة الرايزوسفير بكتريا السيدوموناس هي بكتريا سالبة لصبغة جرام.

الهدف من التجربة:

دراسة تأثير الأملاح والمضادات الحيوية على بكتريا السيدوموناس.

الباب الثاني

الدراسات السابقة

Literature Review

2-1 دور الأحياء الدقيقة في التربة وأهميتها:

2-1-1 أهمية أحياء التربة:

تقوم أحياء التربة بتفكيك المواد العضوية الطبيعية جميعها، وتحسين خصوبة التربة بتحطيم أنسجة النباتات والحيوانات فيها، ودمج النواتج والمعادن المحررة مع التربة، كما أن لبعض أنواعها قدرة على حل بعض المنتوجات المصنعة من الإنسان. تحول أحياء التربة بشقيها الفلورا النباتية والفونا الحيوانية المواد المتحللة إلى معقد عضوي مهم في التربة يسمى الدبال Humus يتركب من نحو 60% كربون ونحو 6% من الأزوت إضافة إلى مركبات فينولية وفوسفاتية عضوية وسكريات معقدة وغيرها. تمزج حيوانات التربة بحركتها الدبال مع التربة، مما يساعد على تحسين خواص التربة بتفتيت حبيباتها وتهويتها وحركة الماء فيها وتجعل الدبال المتكون في متناول الأحياء الدقيقة. تقوم الأحياء الدقيقة بهدم الدبال وحله، هذا التحلل بصورة بطيئة محررة منه المغذيات النباتية بعد موت هذه الأحياء. (المفرجي وآخرون، 1991)

تحطم الأحياء الدقيقة البقايا العضوية النباتية والحيوانية وتساعد على تحللها وتحويلها إلى الصيغة المفيدة في تغذية النباتات. تكون هذه الأحياء الدقيقة أكثر عددا ونشاطا في ترب الغابات منها في ترب المروج والترب المفلوحة. وعموما تتحقق الأدوار المفيدة للأحياء الدقيقة في التربة عن طريق الدورات البيوجيوكيمائية:دورة الكربون ودورة الأزوت تثبيته من الجو ودورة الكبريت والفسفور والحديد وغيرها.

2-1-2 التأثيرات الضارة للأحياء الدقيقة في التربة:

في التربة بعض الأحياء الدقيقة التي يمكن أن تسبب أمراضا للإنسان والحيوان، وتصل الجراثيم إلى التربة عن طريق مياه الري أو جثث الحيوانات المصابة، ومن أمثلتها البكتريا المسببة لمرض الجمرة الخبيثة والكزاز وغيرهما، ويسبب بعضها الآخر الأمراض النباتية، ومن أمثلتها البكتريا المسببة للتدرن التاجي Agrobacterium tumefaciens وجرب البطاطا Streptomuces scabis وغيرهما. كما يمكن أن تقوم أحياء بقضم جذور النباتات أو بالتطفل على جذور النباتات مسببة أضرارا كبيرة للمحصول.

وقد يفرز بعضها الآخر بعض المواد السامة للنباتات أو لأحياء أخرى، وتظهر أهمية هذه الإفرازات في الظروف غير الهوائية ومن أمثلة هذه المواد الميثان وكبريت الهيدروجين.

2-1-3 دور الكائنات الحية في التربة:

- زيادة خصوبة التربة وتنوعها البيولوجي.
- الإسراع في إنبات البذور وخروج البادرات مما يقلل من فرصة إصابة البادرات بالأمراض.
- تساعد على الحد من إصابة الورقة بالحشرات لإحتوائها على مادة الاستر الناتجة من تخليقها بواسطة البكتريا المكونة Lacticacid والذي يعطي طبقة لامعة للمجموع الخضري والثمرة كذلك تساعد في الحد من تبخر الماء من داخل الورقة وبالتالي يمنع تساقطها.
- الحصول على إنتاج عالي كما ونوعا.
- زيادة العمر التسويقي للمنتج.

- تكسير المواد السامة والتخلص منها مثل المبيدات الحشرية ومبيدات الحشائش.
- يساعد في الحد من استخدام المواد الكيماوية والمبيدات الزراعية.
- يحسن نسبة C:N عن طريق تقليل نسبة الكربون بواسطة عملية التخمر الذي تقوم بها حيث يزيد من نسبة Nitrogen عن طريق تحرر NH_4 الأمونيا في التربة مما يعطي التربة فوائد كثيرة ويقلل نسبة الكربون في الأرض عن طريق عملية التخمر التي تقوم بها الكائنات الحية اللاهوائية الموجودة في الكائنات الحية الدقيقة النافعة عن طريق إطلاق CO_2 وهذا يعطي للأرض نسبة عالية من المواد العضوية الذي يحسن من كفاءة التربة عن طريق تكوين Humus أو الدبال.
- تحسين بناء التربة Soil Structure عن طريق تجميع حبيبات التربة بربطها مع بعضها بواسطة خيوط هيفات الفطريات والاكتينوميسيتات أو لصقها بواسطة مواد صمغية لزجة تفرزها الكائنات الدقيقة مما يزيد من درجة التهوية في التربة.
- تساعد الكائنات الدقيقة على تكوين الدبال في التربة الزراعية وهو تركيب معقد له طبيعة غروية ناتج من تحلل المواد العضوية وهو يؤدي إلى زيادة السعة التشبيعية Water holiding capacity والسعة التبادلية Cation exchange capacity والقدرة التنظيمية لدرجة pH في التربة Bffering capacity يعتبر مخزن للمواد الغذائية في التربة مما يحسن من خصوبة التربة بوجه عام.
- إمداد التربة بأعداد وفيرة من الكائنات الدقيقة المفيدة التي تنافس الميكروبات المرضية وتحول دون نشاطها وا ٍصابتها للنبات.

- إفراز أنزيمات تقوم بتحليل المواد العضوية المعقدة ومعدنة العناصر الغذائية الموجودة بها أي تحويلها من الصورة العضوية غير الذائبة إلى الصورة المعدنية الذائبة التي يستطيع النبات امتصاصها والاستفادة منها.
- إفراز الأحماض التي تقوم بإذابة العناصر المعدنية الموجودة في التربة مثل إذابة أملاح الفوسفات الصخري غير الذائبة وتحويلها إلى أملاح فوسفات ذائبة وكذلك تحرير عنصر البوتاسيوم وغيره من العناصر المرتبطة بمعادن التربة الزراعية.
- إفراز بعض المواد المخلبية Chelating agents التي تعرف باسم حوامل الحديد Siderophores التي تيسر للنبات الأمر الذي يسرع من معدل نمو النبات.
- إفراز منظمات النمو النباتية الأمر الذي يسرع من معدل نمو النبات.
- إفراز مضادات حيوية تثبت نمو الميكروبات الممرضة للنبات.
- أكسدة مركبات الكبريت غير الذائبة وتحويلها إلى صورة ذائبة.
- تثبيت أزوت الهواء الجوي مما يزيد من محتوى التربة من النتروجين وكذا تمثيل ثاني أكسيد الكربون بواسطة البكتريا الاوتوروفية مما يزيد من الكربون العضوي.
- تخلق السترات التي لها تأثير طارد للحشرة الضارة.

2-1-4 التطبيقات في الزراعة:

التلقيح بالبكتريا المتعايشة المثبتة للأزوت، تستعمل أنواع البكتريا التابعة إلى الجنسين ريزوبيوم Bradyhizobium, Rhizobium بعد تنميتها في أجهزة خاصة (مخمرات Fermenters) وتحميلها على مواد عضوية مناسبة لتلقيح النباتات البقولية المتوافقة مع هذه الأنواع بهدف زيادة كمية الأزوت المثبت وخصب الترب.

التلقيح بالأحياء المثبتة للأزوت على نحو حر: يعود الفضل في محافظة أراضي الصين وجنوب شرق آسيا على خصبها إلى نمو الأحياء الدقيقة في الوسط المائي الذي يغمر به الأرز أو على سطح تربته، وتتميز هذه الأحياء بقدرتها على تثبيت الأزوت الجوي على نحو حر معوضة الفاقد من التربة وا ٍن تشجيع انتشار هذه البكتريا ونموها أو التلقيح أو بـAzolla له أثر بيئي مهم في توفير الأزوت ورفع خصوبة التربة. كما إن إضافة بعض أشكال البكتريا المثبتة للأزوت بصورة حرة غير ذاتية التغذية مثل Azotobacter, Azotomon, Beijerinckia, Azospirillum قد أعطت نتائج إيجابية في كثير من الحالات وخاصة في الترب التي تتميز بنقص الأزوت وارتفاع نسبة الكاربوهيدرات فيها.

التلقيح بالبكتريا المحللة للفوسفات: تمتاز بعض أنواع البكتريا الموجودة في التربة مثل بكتريا السيدوموناس بالقدرة على تحويل الفوسفات الثلاثية غير المتيسرة للنبات إلى فوسفات ثنائية أو أحادية، وترتبط معظم التحولات الجرثومية للفوسفات بالتحول من الصيغة غير الذائبة إلى الذائبة المتحركة.

والصيغة الأكثر شيوعا للفوسفات هي فوسفات الكالسيوم الثلاثية التي تستطيع بعض الأحياء إذابتها لتمثيلها أو لجعلها صالحة للاستعمال من أحياء أخرى، وتعتمد آلية الإذابة على إنتاج الكائن الحي لأحماض عضوية او معدنية.

التلقيح بفطريات الميكورايزا: تجني النباتات الفائدة نتيجة تعايش هذه الفطريات على جذورها وبخاصة في مجال التغذية الفسفورية وتحمل الجفاف وغيرها. وتحتل هذه العملية أهمية خاصة في مناطق التحريج الصنعي الجديد.

استعمال خلائط جرثومية وعضوية لإخصاب التربة وتحليل المخلفات: تصنع بعض الشركات أو المؤسسات خلائط من ميكروبات التربة النافعة المختلفة وتحمل هذه

الميكروبات على مواد عضوية نصف متحللة للمحافظة على حيويتها أثناء التخزين والنقل، وتستعمل هذه الخلائط في الإنتاج الزراعي المكثف للنباتات لارتفاع كلفته.

استعمال التقانات الحديثة المتطورة في الهندسة الوراثية للحصول على سلالات جرثومية لأغراض معينة مثل زيادة قدرة السلالات على تثبيت الأزوت الجوي أو تحطيم الخشب وتطوير سلالات منافسة للسلالات المرضية من الجرثوميات أو تحليل مبيدات وبقاياها أو التخلص من ملوثات التربة.

2-2 العوامل البيئية التي تؤثر على توزيع الكائنات الحية بالتربة:

الكائنات الحية الدقيقة التي تتواجد في الطبقات العليا من مياه البحار لا تختلف كثيرا عن البكتريات الأرضية كثيرا لتشابه ظروفهما البيئية فيما عدا ارتفاع ملوحة مياه البحار. أما فيما يختص بالبكتريا التي تعيش في أعماق المحيطات فإنها تعيش تحت ظروف من الحرارة والضغط لا يتحملها أكثر البكتريات الأرضية مقاومة للظروف غير الملائمة. والدراسات التي أجريت على بكتريا الأعماق هذه والي تم عزلها من رواسب أعماق المحيطات على أبعاد تصل إلى 10.000 قدم فأكثر، أسفرت عن إمكان تنمية هذه الكائنات صناعيا في ظروف تختلف عن ظروف تختلف عن الظروف السائدة في بيئاتها الطبيعية ألا وهي الملوحة المرتفعة،ؤ والضغط المائي المرتفع والحرارة المنخفضة. وبمقارنة بكتريا الأعماق بالبكتريا الأرضية أو تلك التي تعيش في المناطق السطحية من مياه البحار أمكن التعرف على أجناس بكتيرية متشابهة تماما من الوجهة التقسيمية، من ذلك يمكننا أن نفترض أن بروتوبلازم بكتريا الأعماق هذه تعمل بطريقة أفضل تحت ظروف تختلف عن الظروف الملائمة لنمو الأنواع البكتيرية الأرضية، وأن الاختلاف في هذه الظروف يتمثل فقط في الضغط سواء كان ضغطا مائيا أو اسموزيا.

وسوف نتناول فيما يلي مناقشة بعض الظروف الفيزيائية التي تؤثر على نمو ونشاط البكتريا بشيء من التفصيل. ويجب أن نعلم أنه من الصعب تحديد تأثير الظروف الفيزيائية وتمييزها عن تأثير الظروف الكيميائية حيث أن تأثيراتها قد تكون متداخلة بدرجة ملحوظة.

وعند درجات الحرارة فوق الحد الأقصى للنمو لا يمكن لعمليات التعويض أو الإصلاح بداخل الخلية أن تعوض كل البروتينات التي تفسد، فيقل بذلك عدد الخلايا الحية. وقد وجد أن موت الخلايا نتيجة لارتفاع درجة الحرارة يتم طبقا لنظام لوغاريثمي بمعنى أن معدل الموات يزداد باضطراد بارتفاع درجة الحرارة. ومن المقطوع به أن الفعل المميت للحرارة يزداد بدرجة واضحة في وجود الماء حيث أن البروتينات عموما تتأثر وتفسد بدرجة أسرع في الحرارة الرطبة أكثر منها في الحرارة الجافة. (الشبيني، 2002)

2-2-2 تركيز الأملاح The concentration of salts

الترب المالحة هي التي تحتوي على كميات كبيرة من الأملاح الذائبة من أملاح الكالسيوم، الماغنسيوم، الصوديوم والكلور.

تتكون هذه الترب عادة في المناطق الجافة الحارة وفي موسم الخريف حيث تكون كمية الأمطار والماء أعلى من كمية التبخر مما يؤدي إلى أن تغور الأملاح مع الماء فيداخل التربة وفي فترات الجفاف حيث يقل الماء والأمطار فإن الأملاح تنساب لسطح التربة على الماء المتبخر مما يؤدي لتراكم الأملاح في التربة.

يؤدي التركيز العالي للأملاح لإعاقة نمو وتكاثر الكائنات الحية الدقيقة تعزى هذه الإعاقة إلى أن هذه الأملاح تعطل تركيب الإنزيمات ونشاطها.

2-2-3 الرقم الهيدروجيني pH:

تمتد الأراضي الحامضية في معظم أنحاء العالم وتزداد حموضة التربة بواسطة التعرية وزيادة ثاني أكسيد الكربون المذاب في محلول التربة وبعملية النترتة وأكسدة الكبريت. تفضل معظم أجناس البكتريا الوسط المتعادل في التربة (الرقم الهيدروجيني= 7) لذلك فإن زيادة الحموضة أو القلوية تعمل على تقليل أعداد البكتريا في التربة ولكنها لا تختفي تماما. (حياتي، 1993)

2-2-4 الرطوبة Moisture:

يعد وجود الرطوبة ضروريا لأحياء التربة، إلا أنها تختلف في مدى تحملها للجفاف، وتوجد علاقة وطيدة بين رطوبة التربة ودرجة تهويتها وتأثيرها المشترك في الأحياء جميعا.

2-4 البكتريا Bacteria

من أصغر المجاميع التي توجد في التربة حيث نادرا ا يتجاوز طولها عدة مايكروميترات ولا يزيد وزنها عن 10^{-12} جرام.

تنتمي البكتيريا لمجموعة البروكاريوتس Prokaryotes التي تشمل:

- الايوباكتيريا Eubacteria
- الارشاباكتيريا Archaebacteria

بينما تنتمي بقية الكائنات الحية باستثناء الفيروسات لمجموعة الابوكاريوتس.

تحتوي التربة على أعداد كبيرة من البكتريا تختلف كما نوعا تبعا للظروف السائدة في التربة. ومن النادر وجود بكتريا حرة في محلول التربة لأن معظم الخلايا تلتصق بالدبال وحبيبات الطين. حيث تنجذب البكتريا حر وحبيبات الطين إلى بعضها

البعض بتأثير التجاذب الالكتروستاتيكي للتربة على خلايا البكتريا وهذا يؤدي لاحتجاز معظم الخلايا البكتيرية في التربة وقلة الأعداد التي تنتقل مع الماء إلى أسفل (هاري وآخرون، 1989).

تعتبر البكتريا من أكثر الكائنات الحية انتشارا حيث يكثر عددها بالقرب من سطح الأرض وجدت أيضا على بعد أربعة أميال من سطح الأرض كما توجد ف يالتربة على عمق كبير ويقل العدد كلما تعمقنا لأسفل. توجد كذلك فيشتى بقاع العالم وفي الينابيع والثلوج في القطب الجنوبي والمياه المالحة والعذبة.

تحتوي التربة الخصبة على أعداد كبيرة من البكتريا فقد وجد أن الجرام الواحد من هذه التربة يحتوي على حوالي مائة مليون ميكروب.

2-4-1 تقسيم البكتريا على أساس تركيبها وطريقة نموها:

2-4-1-1 بكريا حقيقية Eubacteriales:

بكتريا بدائية لا تشابه إلا الأحياء الأخرى الأكثر رقيا من البكتريا.

2-4-1-2 البكتريا الراقية Bacteries superieures:

تشترك في صفات البكتريا الحقيقية إلا أن بعضها له صفات تشبه صفات البروتوزوا.

2-4-2 أشكال البكتريا الرئيسية:

- شكل كروي أو مستدير Cocci
- شكل عصوي Bacterium
- الشكل الحلزوني Spirillum

2-4-3 تقسيم Bergey للبكتريا:

قسمت فيه البكتريا إلى عدة رتب أهمها:

Order: Pseudomonadales

هي بكتريا خلايا أفرادها عصوية أو كروية أو حلزونية سالبة لصبغة جرام تتحرك بواسطة الأسواط البكتيرية نجد أن بعضها غير متحرك تقسم إلى تحت رتبتين:

1. Sub-order: Rhodobacteriineae

خلايا أفرادها لها ألوان مميزة عندما تنمو في مجاميع.

2. Sub-order: Pseudomonadineae

عموما أفرادها لا تحتوي على صبغات فهي عديمة اللون أغلبها ذاتي التغذية أي تحصل على طاقتها عن طريق أكسدة مواد كيميائية لا عضوية بعضها يؤكسد المواد العضوية ومن أهم عائلات هذه الرتبة:

Family: Pseudomonaslec

خلايا أفرادها عصوية متوسطة الطول غير ذاتية التغذية تنمو جيدا على البيئات العادية بعضها يسبب أراض نباتية من أهم أجناسها:

Genus: Pseudomonas

أفراد هذا الجنس تنتج صبغات تذوب في الماء وغالبية أنواعه تؤكسد الجولوكوز وبعضها يختزل النترات وبعضها الآخر يحلل البروتينات والكثير من أنواع هذا الجنس يسبب أمراض نباتية هامة مثل سل الزيتون الذي تسببه بكتريا Pseudomonas savastanoi.

صنفت بكتريا سيدوموناس في مجموعة البكتريا متوسطة الحرارة التي تنمو في درجات الحرارة بين 20-45 درجة مئوية حيث يتفاوت نشاطها في ومعدلات نموها في هذا المدى ولا تستطيع النمو خارج هذا المدى.

التحولات الميكروبية للفسفور:

يوجد الفسفور في التربة والنبات والكائنات الحية الدقيقة في صورة عديد من المركبات العضوية وغير العضوية وهو كعنصر غذائي معدني يلي عنصر النتروجين مباشرة من حيث احتياج كل من النباتات والكائنات الدقيقة لهذا العنصر وله دور فسيولوجي رئيسي في العديد من الخطوات الهامة المتعلقة بتراكم الطاقة وا ٍطلاقها من خلال عمليات التمثيل الغذائي للخلية يمكن إضافته إلى التربة في صورة أسمدة كيميائية كما يمكن أن يختلط مع التربة في صورة أوراق الأشجار ومخلفات النبات وبقايا الحيوانات.

تقوم الكائنات الحية بعد تحولات لهذا العنصر تشمل:

أ. التاثير على ذوبان مركبات الفسفور غير العضوي.
ب.معدنة المركبات العضوية مع إنتاج الفوسفات غير العضوية.
ت.تحويل الأنيونات الغير ميسرة لهذا العنصر إلى مكونات الخلية لتمثيلها بطريقة مشابهة لما يحدث بالنسب لعنصر النتروجين.
ث.القيام بأكسدة و ٍاختزال المركبات الفسفورية غير العضوية.

إذابة الفسفور غير العضوي:

تعتبر المركبات غير الذائبة من الفسفور المعدني غير ميسر للنبات إلى درجة كبيرة ولكن يمكن لكثير من الكائنات الحيةي الدقيقة أن تقوم بتحويلها إلى صورة ذائبة ويبدو أن هذه العملية غير نادرة الحدوث فقد وجد أن 10%-50% من العزلات

البكتيرية المختبرة لديها القدرة على إذابة مركبات فوسفات الكالسيوم وأن أعداد البكتريا المذيبة لصور الفوسفات غير الذائبة في التبرة تتراوح بين 10^5-10^7 في الجرام وغالبا ما تتواجد مثل هذه البكتريا بوفرة على سطح جذور النباتات وقد وجد أن الأنواع الميكروبية النشطة في هذا المجال تتبع لأجناس *Pseudomonas, Mycodacteria, Micococcus, Bacillus, Flavobacterium, Penicillium, Sclerotium, Aspergillus* بالإضافة إلى غيرها من الأجناس الأخرى.

2-5 معدنة الفسفور العضوي:

يؤكد وجود المخزون الضخم من الفسفور العضوي في التربة الذي لا يمكن استخدامه بواسطة النباتات أهمية دور الكائنات الدقيقة في تحويل هذا الفسفور العضوي إلى الصور غير العضوية. وتقوم البكتريا والاكتينوميسيتات بتحويل الصورة المرتبطة من الفسفور في بقايا النباتات وفي المادة العضوية للتربة إلى الصورة الميسرة للأجيال التالية من النباتات. (الكسندر، 1982)

الباب الثالث

طرق ومواد البحث

تمت التجربة في (2017/7/13) بجامعة السودان للعلوم والتكنولوجي- كلية الدراسات الزراعية، الهدف من هذه التجربة هو دراسة أثر الأملاح المضادات الحيوية على بكتريا السيدوموناس وقد بدأت بجمع عينة التربة من مزرعة الكلية شمال قسم الإنتاج الحيواني من العمق (5-10 سم)، ثم وضعت في علبة بلاستيكية وحفظت في الثلاجة إلى حين الاستخدام.

3-1 الأجهزة والمعدات:

1. جهاز التعقيم Autocleve.
2. ميزان حساس Balance
3. سخان Heater
4. كابينة تزريع Laminiarflor
5. حضان Incubators.

3-2 الأدوات المستخدمة: Used equipment

1. أنابيب اختبار Test tubes
2. إبرة العزل Lop
3. موقد بنزن Bunsen burner
4. ماصة Absorbent
5. أطباق معقمة Petridish
6. كأس زجاجي Beker
7. قنينة زجاجية Glass bohle

8. ساق زجاجي.

3-3 المواد المستخدمة: Material used

1. إيثانولEthanol
2. أجار مغزي Natural Agar
3. مضاد حيوي (Antibiotic) من النوع Yesyline
4. ملح (Nacl)
5. ماء مقطر Distilled water

3-4 التجربة:

3-4-1 العزل والتشخيص Insulation diagnosis

1/ لقد قمت بوزن (2.5 جم)من الأجار المغزي وا ٍذابته في (500 م) من الماء المقطر.

2/ وضعت البيئة في السخان وحركت بالساق الزجاجي حتى تمام الذوبان.

3/ قمت بتعقيم البيئة في جهاز Autoclave ثم أحضرت البيئة (Nutural Agar) في (15) طبق ثم حفظتها في الثلاجة.

4/ في يوم 2017/9/3 قمت بعمل Series Dilution بوزن (1 جم) من التربة ثم قمت بتزريع (3 أطباق) من الأنبوب الملقح بالبكتريا (10) و (3 أطباق من الأنبوب (10^{-8}) ثم وضعت في (Incubator 3^{o}).

5/ في يوم 2017/8/26 قمت بوزن (0.1، 0.3، 0.5) من Antibiotic (Streptomicin) و (2.5 جم) Natural Agar أذيب في (1000 مل) من الماء المقطر وبعد ذلك قمت بعمل Series Dilution من البكتريا المزرعة.

6/ وضعت البيئة في 19 طبق وأضيف إليها المضاد الحيوي كالآتي:

أنبوب التلقيح / وزن المضاد	10^{-4}	10^{-8}
0.1	3 أطباق	3 أطباق
0.3	3 أطباق	3 أطباق
0.5	3 أطباق	3 أطباق
الكنترول	طبق واحد	

3-4-2 تجربة الملح:

في يوم 2017/9/26 قمت بوزن (2.5) من الأجار المغزي 0.1، 0.2، 0.6، 0.8) من NaCL أذيبت في 1000 مل ماء مقطر ثم قمت بعمل Series Dilution للبكتريا التي زرعت سابقا كان الـ Series Dilution في 8 أنابيب فيكل أنبوب 9مل من الماء المعقم. وصبت في 28 طبق كالآتي:

أنبوب التلقيح / وزن المضاد	10^{-4}	10^{-8}
0.1	3 أطباق	3 أطباق
0.2	3 أطباق	3 أطباق
0.6	3 أطباق	3 أطباق
0.8	3 أطباق	3 أطباق
الكنترول	2 طبق	2 طبق

كانت هذه هي تجربة إضافة المضاد الحيوي والأملاح لدراسة تأثيرها على الـ (Paseudomonas) وكانت النتائج كما وردت في الباب الرابع.

الباب الرابع

النتائج والمناقشة

أجريت تجربة المضادات الحيوية كما ذكرت في الباب السابق وكانت نتائجها كالآتي:

أنبوب التلقيح / وزن المضاد	10^{-4}			10^{-8}		
0.1	Non	1	Non	Non	Non	Non
0.3	Non	1	4	Non	3	Non
0.5	Non	7	3	Non	2	Non
الكنترول	10 مستعمرات					

1. أفضل النتائج في 10^{-4} كانت في وزن 0.5 جم بمتوسط 3 ثم يليه 0.3 جم بمتوسط 2 ثم يليه 0.1 بمتوسط 0.33.
2. في 10^{-8} أفضل النتائج في 0.3 جم بمتوسط 1 ثم يليه 0.5 جم بمتوسط 0.7 ثم يليه 0.1 بمتوسط صفر.

أنبوب التلقيح / وزن المضاد	10^{-4}			10^{-8}		
0.1	150	TmTc	TmTc	TmTc	TmTc	TmTc
0.2	720	TmTc	TmTc	510	4.2	TmTc
0.6	TmTc	TmTc	TmTc	345	427	158
0.8	TmTc	TmTc	TmTc	150	96	87
الكنترول1	13 مستمرة			16 مستعمرة		
الكنترول2	27 مستعمرة			Non		

TmTc= Too Much to count

1. في 10^{-4} كل نتائج إضافة الأملاح أعطت نتيجة TmTc ابتداءا من 0.1-0.8 جم عند زيادة كمية الأملاح تزيد معها البكتريا.
2. في 10^{-8} أكثر أعداد البكتريا كانت في 0.1، 0.2، 0.6 ثم يليه 0.8 بمتوسط 111مستعمرة.

التوصيات:

بكتريا السيدوموناس تحتاج إلى وسط ملائم حتى تنمو فهي تحتاج إلى درجة معينة من الحرارة للنمو وتحتاج أيضا إلى pH محدد وكمية معينة من الأملاح كما أنها حساسة للمركبات الكيميائية والمضادات الحيوية لذلك لا بد من الاهتمام بالآتي:

1. معرفة الاحتياجات البيئية للسيدوموناس من pH وحرارة وأملاح وغيرها.
2. تجنب تعريضها للمركبات الكيميائية مثل المضادات الحيوية وغيرها.
3. الاهتمام بدرجة الحموضة والقلوية الملائمة لنمو السيدوموناس.
4. دراسة العوامل المؤثرة على نمو بكتريا السيدوموناس ومحاولة تجنب المشاكل الناجمة من تأثيرات العوامل الأخرى.
5. بكتريا السيدوموناس محبة لأملاح ومتوسطة الملوحة لذلك لا بد من توفير كمية ملائمة من الملح في بيئ السيدوموناس حتى تعطي نموا أفضل وتجنب تعريضها للمضادات الحيوية.

المراجع:

1. جمال محمد الشبيني (2002). التسميد الحيوي، معهد بحوث الأراضي والمياه والبيئة، المكتبة المصرية للنشر والتوزيع.
2. الصديق أحمد المصطفى الشيخ حياتي (1993). الأحياء الدقيقة في التربة، كلية الزراعة، جامعة الخرطوم، دار جامعة الخرطوم للنشر.
3. طالب كاظم المفرجي وشذى سليمان العزاوي (1991). علم الأحياء المجهرية للتربة والمياه، بغداد.
4. مارتن الكسندر (1982). مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة، دار جون وأولاده للنشر.
5. ماهر نسيم هاري وماجدة أبو المجد حسين (1989). كلية الزراعة، جامعة الإسكندرية.