بسم الله الرحمن الرحيم

جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا

كلية الدراسات الزراعية

قسم علوم التربة والمياه

بحث تكميلي لنيل درجة البكالوريوس مرتبة الشرف

بعنوان:

دراسة معملية لمعرفة تأثير مستويات مختلفة من درجات الحرارة علي بكتريا السيدوموناس

إعداد:

تسابيح أحمد مصطفى حسن

إشراف الدكتور:

السموأل محمد ميرغني

2017م

الآية

بسم الله الرحمن الرحيم

قال تعالي:

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا لَهَا مَا كَسَبَتْ وَعَلَيْهَا مَا اكْتَسَبَتْ رَبَّنَا لَا تُؤَاخِذْنَا إِنْ نَسِينَا أَوْ أَخْطَأْنَا رَبَّنَا وَلَا تَحْمِلْ عَلَيْنَا إِصْرًا كَمَا حَمَلْتَهُ عَلَى الَّذِينَ مِنْ قَبْلِنَا رَبَّنَا وَلَا تُحَمِّلْنَا مَا لَا طَاقَةَ لَنَا بِهِ وَاعْفُ عَنَّا وَاغْفِرْ لَنَا وَارْحَمْنَا أَنْتَ مَوْلَانَا فَانْصُرْنَا عَلَى الْقَوْمِ الْكَافِرِينَ

صدق الله العظيم

الآية (286) سورة البقرة

الإهداء

إلي...امي(الأم المثاليه)

إلي...ابي(سند الحياة)

إلي...اختي الوحيدة

إلي...اخوات لم تنجبهم امي

إلي...صديقاتي(رفيقات الدرب)

إلي...جميع زملائي وزميلاتي

إلي...اساتذة قسم علوم التربة والمياه

إلي...مشرفي في هذا العمل

إلي...جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا

شكر وتقدير

أتقدم بالشكر والتقدير لكل من ساهم في إكتمال هذا البحث...

وإلي زميلتي في الدراسة وشريكتي في الإنجاز عرفة عبد الكريم...

والشكر كل الشكر للدكتور الذي أشرف علي هذا البحث

دكتور/ السموأل محمد ميرغني..

والشكر والعرفان للأستاذة زينب لبذل كل الجهد والوقت لإتمام هذا البحث..

والشكر لله من قبل ومن بعد

والله المستعان

فهرس المحتويات

المحتويات **رقم الصفحة**

الآيـــة I

الإهداء II

شكر وتقدير III

فهرس المحتويات IV

ملخص البحث VI

الباب الأول 1

المقدمة 1

أهداف البحث: 1

الباب الثاني 2

الدراسات السابقة 2

البكتريا:(Bacteria) 2

توزيع وانتشار البكتيريا: 2

العوامل البيئية التي تؤثر علي توزيع الكائنات الحية بالتربة: 3

الحرارةTemperature 4

تأثير درجات الحرارة المنخفض: 6

تأثير درجات الحرارة المرتفعة: 7

تركيز المادة العضويةThe Concentratraion Of Organic Matter: 9

الفسفور:Phosphorus 10

إذابة الفسفور غير العضوي 10

معدنة الفسفور العضوي 11

بكتيريا السيدوموناس:Pseudomous 13

خصائص هذا النوع من البكتريا: 13

العوامل التي تساعد على انتشارها: 14

صفات البكتيريا:Characteristice of bacteria 15

الإنتشار والتوزيع:Proliferation and Distribution 15

تقسيم للبكتيرياBERGEY : 16

الباب الثالث.....18
مواد وطرق البحث 18
مصدر البكتيريا: 18
تحضير بيئة الآجار المغذي: 18
عزل البكتيريا: 18
الأجهزة المستخدمة:.....18
عدد الأطباق: 19
الباب الرابع.....20
النتائج والمناقشة.....20
درجة حرارة 20 درجة مئوية: 20
درجة حرارة 30 درجة مئوية: 20
درجة حرارة 40 درجة مئويه: 20
درجة الحرارة 50 درجة مئويه:.....20
المراجع: 22

ملخص البحث

أجريت الدراسة بمختبرات قسم التربة والمياه, كلية الدراسات الزراعية لمعرفة تأثير درجات مختلفة من الحرارة علي نمو بكتيريا السيدمونس(20,30,40,50) درجة مئوية وأثبتت النتائج المعملية أن درجة الحرارة20 درجة مئوية لم تكن مثلي لنمو البكتيريا ولم تسجل أي نمو في تخفيف. $10^{4}.10^{8}$.

درجة الحرارة 30 درجة مئوية كانت مثلي لنمو بكتيريا السيدمونس سُجلت أعلي قراءات عند التعداد بطريقة الأطباق.

وسُجلت درجة الحرارة 40 درجة مئوية أعداد أقل في عدد المستعمرات ولم تُسجل درجة الحرارة50 درجة مئوية أي نمو للبكتيريا.

الباب الأول

المقدمة

لجأ العلماء في السنوات الأخيرة في جميع أنحاء العالم إلي إستخدام تقانات التسميد الحيوي في مجالات الزراعة المختلفة.

السماد الحيوي عبارة عن تحضيرات سائلة أو صلبة تحتوي علي كائنات حية دقيقة نافعة منتقاة بعناية وذلك لتحسين خواص التربة ولزيادة الإنتاج الزراعي للمحاصيل النباتية المختلفة ،وأيضا للحد من تلوث البيئة الناجم عن الإسراف في إستخدام الأسمدة الكيميائية والذي يتسبب مع مرور الوقت في تلوث التربة والمياه بالإضافة إلي كونه مكلفـماديا ً أيضا) .جميل.(2013

تقوم بكتيريا السيدوموناس بإفراز كميات كبيرة من الأحماض العضوية قليلة الوزن الجزيئي مثل حمض الأكساليك والفيومايك والجلوكونيك والستريك إن إفراز هذة الأحماض العضوية في التربة يؤدي إلي زيادة تركيز الفسفور المذاب في المحلول عن طريق زيادة حمضية التربة عن طريق تفاعلات الإحلال والإبدال مع العناصر الأخري وذلك لتحرير الفسفور غير المذاب. تقوم هذه الأحماض العضوية بنزع الفسفور من فوسفات الكالسيوم والحديد نتيجة لتفاعلات الإستبدال والإحلال وذلك عن طريق إزالة عنصر الكالسيوم والحديد والألمونيوم ومن ثم تحويل الفسفور إلي صورة اورثوفوسفات والتي أيضا يستطيع النبات إمتصاصها).الشبيني (2006,أيضا تقوم بكتريا السيدموناس بإفراز إنزيم أسيد فوسفاتيز وإنزيم الكالينفوسفاتيز،وبدورها تؤدي هذه الإنزيمات إلي زيادة ذوبانية عنصر الفسفور وتحويلة إلي صورة قابلة للإمتصاص من قبل النبات .ومن المعروف أن زيادة ذوبانية عنصر الفسفور في الترب القاعدية يؤدي لتحسين خصائص التربة مما يؤدي لزيادة الإنتاج الزراعي.أيضا يؤثر ذلك علي ذوبانية العناصر الصغري والكبري حيث يصبح أكثرتيسراً للنبات مما يعني رفع مستوي خصوبة التربة). التويجري،.(2013

أهداف البحث:

- عزل بكتريا السيدوموناس من رايزوسفير نبات أبوسبعين.
- معرفة تأثير درجات الحرارة المختلفة علي نمو بكتيريا السيدوموناس.

الباب الثاني

الـدراسـات السـابـقـة

البكتريا:(Bacteria)

البكتريا من أصغر المجاميع التي توجد في التربهونادراً ما يتجاوز طولها عده ميكرومترات.تنتمي البكتريا لمجموعة البروكاريوتس.(prokaryotes)بينما تنتمي بقية الكائنات الحية بإستثناء الفيروسات لمجموعة الأيوكاريوس.

تحتوي التربة علي أعداد كبيرة من البكتريا تختلف تبعا للظروف السائدة في التربة.تستطيع البكتريا أن تسود في التربة علي بقية الكائنات الدقيقة الأخري عندما تتوفر ظروف مناسبة من التهوية. أما تحت ظروف الأوكسجين فإن البكتريا تكون المسؤلة عن التغيرات الكيمائية والحيوية.

تتميز البكتريا عن باقي مجاميع الكائنات الحية الدقيقة التي تشترك معها في نفس العمليات الحيوية في التربة بسرعة تكاثر خلاياها وقدرتها الفائقة في تحليل أنواع كثيرة من المواد الطبيعية والمواد العضوية في التربة).حياتي(1993,

توزيع وانتشار البكتيريا:

تعتبر من أوسع الكائنات الحية الدقيقةانتشاراً في التربة وتختلف أعداد البكتريا المتحصل عليها من الجرام الواحد من التربة بإختلاف الطريقة المتبعه في التقدير.

عموماً فإن أعداد البكتريا المتحصل عليها عن طريق الأطباق المزوعة تمثل نسبة من 1-10%من العدد الكلي للبكتريا في التربة.

توجد البكتريا في التربة عادة علي شكل مستعمرات صغيرة ملتصقة بمصادر المواد الغذائية العضوية مثل جذور النباتات مما يدل علي أن البكتريا لا تتوزع بالتساوي علي التربة.

إن إختلاف أعداد البكتريا في التربة يجب أن ينظر إلية من واقع تأثير الجيوب والأماكن الصغيرة في داخل البيئة أكثر منه بتأثير العوامل الأساسية عليها وذلك لإختلاف مستوي الرطوبة والمادة العضوية. تؤثر العوامل البيئية علي تركيب المجموعة البكتيرية وكثافة الأعداد في التربة وتؤدي العوامل غير الحيوية التي تغير في المجتمع الميكروبي وفي نشاطة الحيوي فعوامل البيئة الرئيسية من رطوبة وتهوية وحرارة تؤثر في بكتيريا التربة. كما أن هنالك عواملأُخري مثل الزراعة والعوامل الموسمية لها تأثير. (حياتي، 1993)

العوامل البيئية التي تؤثر علي توزيع الكائنات الحية بالتربة:

الكائنات الحية التي تتواجد في الطبقات العليا من مياة البحار لا تختلفكثيراً عن البكتريات الأرضيةنظراً لتشابة ظروفهما البيئية فيما عدا إرتفاع ملوحة مياة البحار.أما فيما يختص بالبكتريات التي تعيش في أعماق المحيطات فإنها تعيش تحت ظروف من الحرارة والضغط لا يتحملها أكثر البكتريات الأرضية المقاومة للظروف غير الملائمة. والدراسات التيأُجريت علي بكتريا الأعماق هذة والتي تم عزلها من رواسب أعماق المحيطات علي أبعاد تصل إلي10000 قدم فأكثر. أسفرت عن أمكان تنمية هذة الكائناتصناعياً في ظروف تختلف عن الظروف السائدة في بيئاتها الطبيعية ألا وهي الملوحة المرتفعة. والضغط المائي المرتفع والحرارة المنخفضة.

وبمقارنة بكتريا الأعماق البكتريات الارضية أو تلك التي تعيش في المناطق السطحية من مياة البحار أمكن التعرف علي أجناس بكترية متشابهة تماما من الوجهة التقسيمية ،من ذلك يمكننا أن نفترض أن بروتلازم بكتريا الأعماق هذة تعمل بطريقة أفضل تحت ظروف تختلف عن الظروف الملائمة لنمو الأنواع البكتيرية الارضية.

،وأن الاختلاف هذه الظروف يتمثل فقط في الضغط سواء كانضغطاً مائياً أو إسموزياً .

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

الحرارةTemperature

من المعروف أن خلايا البكتريا لا يمكنها النمو علي درجات حرارة تزيد أو تقل عن تلك السائدة في بيئاتها وفيما يختص بتأثير الحرارة وتأقلم الخلايا البكتيرية نفترض أن الخلايا البكترية والبيئة النامية بها تكون ذات درجة حرارة متشابهة ،وأن الحرارة التي تنطلق في الخلايا نتيجة للعمليات الأيضية المختلفة بالخلية تفقد منها عن طريق الاشعاع الحراري أو التحول بكلتا الطريقين. وتتلخص دراسة تأثير الحرارة علي البكتريا في كل معرفة قدرتها علي النمو بقوة او ببطء أو توقفها عن النمو علي درجات الحرارة المختلفة) المرتفعة والمنخفضة(،كما تشمل أيضا دراسة قدرة الخلايا علي تحمل الدرجات القصوي والدنيا من الحرارة عندما تعرض لها لفترات قصيرة.إن النطاق الحراري الذي يسمح لنمو البكتريات بصفة عامة يتراوح بين صفر الي75 م. هذا ولكل نوع بكتيري ـ أحيانا لكل سلالة ـ نطاق حراري يقع في الحدود الدرجة الدنيا والدرجة القصوي وتقع بينهما درجة الحرارة المثالية لنموه ودرجة الحرارة المثالية هي درجة الحرارة التي تسمح بحدوث أسرع نمو خلال فترة حضانة قصيرة نسيبا تتروا ح بين12 ـ 24 ساعة إلا أنة ممكن الحصول علي عدد كلي أكبر من الخلايا البكترية عندما يحتفظ بالمزرعة البكترية لفترة حضانة طويلة علي درجة من الحرارة تقل عن الدرجة المثالية. ويجب أن نعلم أن الدرجة المثلي للنمو ليس من الضروي أن تكون هي نفس الدرجة المثلي للنشاط الخلوي الأنزيمي.

إن معدل التفاعلات الكيمياوية عموما تتأثر بدرجة حرارة التفاعل تتضاعف بزيادة الحرارة مما قيمتة 10 درجات مئوية. وقد وجد أن هذا صحيحا فيما يختص بالنمو البكتيري بصفتة يتم نتيجة لحدوث تفاعلات كيميائية حيوية بداخل الخلايا في حدود حرارية تتراوح بين45 - 25 م.حيث إرتفاع درجة عن هذا الحد سوف يفسد البروتين الإنزيمي الخلوي .لذلك فإن محصلة تأثير درجات الحرارة المتزايدة علي خلايا البكتريا هو زيادة سعة التفاعلات الكيماوية بالخلية والتي من شأنها بناء البروتوبلازم وإنتاج الطاقة .كما أنها تشمل أيضا التفاعلات التي من شأنها إفساد أو هرجلة البروتينات الخلوية.

فدرجة الحرارة تحدد جزئيا معدل النمو وكميتة النهائية وقد تؤثر أيضا علي العمليات الأيضية علي الشكل المظهري للخلايا. فكل نوع بكتيري ينمو علي درجة مثالية من الحرارة تقع في مجال حراري معين ،وعلي أساس المجال الحراري الخاص والذي في نطاقة تنمو البكتيريات أمكن تقسم البكتيريا إلي ما يلي:

- بكتريا محبة للحرارة المنخفضةPsychrophiles وهي التي يجود نمؤها علي درجات الحرارة المنخفضة وهي تقسم الي مجموعتين إحداهما إجباريةObligare epsychrophilesوهي التي تموت عند حرارة20 م أو قليلا والمجموعة الأخري Facultative Psychrophilsإن درجتي الحرارة المثلي والقصوي لا تكونان في النطاق الحراري للمحبة للحرارة المنخفضة.

- بكتريا محبة للحرارة المتوسطة Mesophiles وتقع درجة حرارتها المثالية النمو بين45 -35 م.

- بكتريا حبة للحرارة المرتفعة Thermophiles وتقع درجة حرارتها المثالية بين درجتي75 - 55 م.وقد يمتد مجال بعض البكتريات المحبة للحرارة المرتفعة الي مجال البكتريات الميزوفيلية وتعرف هذة الأنواع بالمحبة للحرارةاختياراً Facultative Psychrophilesأو eurithermophiles والبعض الأخر من البكتريا

الثيرموفيلية يكون نموها علي أشدة علي درجة حرارة60 م ولا تنمو علي درجات الحرارة الواقعة في مجال البكتريات الميزوفيلية. وهذه الأنواع تعرف بالبكتريا المحبة للحرارة حقيقة Ture Thermophiles أو stonothermophiles وأحيانا يطلق علي الخلايا البكتيرية التي تقاوم وهي في حالتها الخضرية إسم البكتريات المتحملة للحرارة Thermoduric بالرغم من عدم وجود حد فاصل) في درجة الحرارة أو وقت التعرض لها(بين البكتيريات الحساسة والمتحملة للحرارة) .هاري،(1989

تأثير درجات الحرارة المنخفض:

عند إنخفاض درجة الحرارة فإن النشاط الأيضي للخلايا يقل بسرعة ملحوظة ويحث ذلك عند الأقتراب من درجة حرارة التجمد.ويجب أن نعلم أن التفاعلات لا توقف كليا علي مثل هذة الحرارة حيث يمكن لبعض الأعفان أن تنمو علي اللحوم المحفوظة عن درجة10 م كما أمكن عزل بعض البكتريات التابعة لجنس Bacillus والتي يمكنها أن تحلل اليوريا علي درجات من الحرارة تتراوح بين2 - 4 م. وعموما فإن تعريض البكتريا إلي درجات من الحرارة دون درجة التجميد لا يقتلها كليا.فبالرغم من سرعة موت غالبية الخلايا هذه الدرجات إلا أنأعداداً متوسطة منها تظل حية.فقد وجد أن خلايا E coli تتحمل الحرارة شديدة الانخفاض) درجة -20م(بمعدل أفضل من تعرضها لدرجة) -2م .(ويبدو أنة عقب موت بعض الخلايا المزرعة نتيجة للتعرض إلي درجة التجمد فإن الخلايا المتبقية ينخفض معدل موتها بدرجة ملحوظة .وقد وجد أنأعداداً من البكتريا يمكنها أن تقاوم درجة حرارة الغازات السائلة. فقد وجد أن خلايا الخميرة تقتل خلال تلاثة أيام من حفظها علي درجة حرارة الهواء السائل)-191م.(ولكن الجراثيم الأسكية لخلايا الخمية وغيرها من الفطريات كانت أكثر مقاومة. فمن ناحية العملية يمكن أن نقول أن الأغذية المجمدة والثلج يمكنها أن تحمل ميكروبات ممرضة بالرغم من درجتها المنخفضة.فبكتيريا التيفودمثلاً يمكن عزلها من الأغذية المجمدة التي أمكن حفظها لمدة عام علي درجة حرارة -25م وممكن القول

أن عدم تأثر الخلايا البكتيرية الملوثة للأغذية المجمدة يرجعجزئياً إلي إنفصال بلورات الثلج والتي تكون عادة خالية من خلايا البكتريات تاركة هذة الخلايا مركزة في الجزء السائل من الغذاء والذي لا يتجمد عادة علي درجات التجمد العالية .هذا وتعرض الخلايا البكتيرية إلي التجميد والإسالة المتكررة يحدث تأثيرا ضارا بالخلايا البكتيرية عنة في حالة التجميد البسيط.

يجب أن نعلم أنة بدرجات الحرارة المنخفضة يقل التأثير الضار علي البروتين الخلوي إذا لم تصل درجة الحراة إلي ما دون التجميد بدرجات كبيرة.وإذا حدث التجمد بسرعة فائقة ليتكون نتيجتها بلورات ثلجية صغيرةجداً فإن ذلك يضمن الإحتفاظ بحيوية الخلايا . وقد أمكن إيجاد طريقة لحفظ الخلايا البكتيرية لمدة طويلة بهذة الطريقة بإسم Lyophilized). ألكسندر(1982,

تأثير درجات الحرارة المرتفعة:

تزاد سرعة العمليات الأيضية الخلوية لإزدياد درجة الحرارة إلي حد محدود حيث أن الزيادة في النشاط الأيضي علي الدرجات المرتفعة من الحرارة يكون مصحوبا بزيادة في فساد البروتين الإنزيمي أيضا.فحدوث النمو علي مثل هذة الدرجات المرتفعة من الحرارة يعني حدوث توازن بين العمليات الحيوية المختلفة بمعني أن العمليات التي من شأنها تعويض البروتين بالخلية تفوق سرعة فساد البروتين نفسة نتيجة للحراة المرتفعة. ومقاومة الخلايا البكتيرية لدرجات الحرارة المرتفعة) من الحد الأقصي للنمو(تعني أن الفساد الذي قد يحدث للبروتين الخلوي لم يشمل البروتين الإنزيمي الخاص بعملية التعويض أو الإصلاح بحيث أنة لو أعتدت الخلايا إلي الدرجات الملائمة للنمو يمكنها أن تستأنف نشاطها.

قد أظهرت الأبحاث أن درجة الحرارة القصوي لإي نوع بكتيرية تقع مباشرة تحت درجة الحرارة الدنيا لتثبيط البروتين الإنزيمي الخلوي.أو بمعني أخر أن أقل درجة من الحرارة يمكنها أن تثبط الأنزيمات تكون أعليقليلاً من درجة الحرارة القصوي

للنمو.وبما أن لكل نوع بكتيري درجة قصوي خاصة بة إذا فإن درجة الحرارة التي تتثبط عندها الأنزيمات البكتيرية تختلفـتبعاً للنوع البكتيري.ولا يوجد ما يفيد ما إذا كانت كل الأنزيمات الخلوية تتأثر أو تتثبط بنفس الدرجة المرتفعة من الحرارة.

وقد وجد أن إنزيمات البكتريا المحبة للحرارة وخاصة إنزيم Cytochrome Oxidaseوإنزيم Malic dhydrogenase تكون مقاومة للتثبيط الحراري حتي بعد عزلها من الخلايا في صور نقية. ولا يمكن أن يقال أن مثل هذه الأنزيمات تكون محيمة بإتحادها مع بعض البروتينات الغروية بالخلية والمقاومة للحرارة بل يعزي مقاومة هذه الأنزيمات للتثبيط الحراري إلي تركيب الإنزيم في حد ذاتة فإن هذا التركيب يساعد علي مقاومتها للحرارة ،علاوة علي هذه الأنزيمات تعمل في ظروف الحرارة المرتفعة بدرجة أسرع منها في الدرجات المتوسطة من الحرارة .والإختلاف في الطاقات الحرارية للبكتريا الميزوفيلية قد يرجع بالمثل أن الأختلافات في طبيعة البروتين الإنزيمي الذي يختلف من نوع إلي أخر. فقد عُزلت هذه الأنزيمات من خلايا االبكتريات المحبة للحرارة ووجد أن نشاطها يقل بمعدل 50% عندما تتعرض لدرجة 65م لمدة نصف ساعة علي حين أن تنفس الإنزيمات المعزولة عن البكتريات الميزوفيلية يزول نشاطهكلياً بعد تعرضها لمدة5 دقائق لنفس درجة الحرارة.

ومن الملاحظ أنة إذاأُوقف نشاط إنزيم معين ،مسئول عن تكوين مادة ايضية ضرورية للنمو ،نتيجة لإرتفاع درجة حرارة البيئة ،فإن الكائن البكتيري يتوقف نموة كلياً ما لم تضاف إلي بيئتة الغذائية تلك المادة الأيضية التي إمتنع تكونها بالرغم من وجود النظام الإنزيمي الخاص بتجهيزها بالخلية والذي يعمل علي الدرجات المنخفضة من الحرارة.ولزيادة في الإيضاح نسوق المثل التالي:أن أحد السلالات الطفرية للبكتريا E coli يتطلب إضافة الفايتمين acid Pantothenic فقط عندما تحضن مزارعها في درجة حرارة أعلي من30 م حيث وجد أن الأنزيم الذي يمكنة أن يخلق هذا الفايتمين يفقد نشاطة بدرجة واضحة في مثل هذه الحرارة.وعلي النقيض

فإن خلايا E coli الأصلية.التيأُشتقت منها السلاسة الطفرية السابقة الذكر لا تتطلب إضافة هذا الفايتمين علي أي درجة من الحرارة بمعني أن إنزيمها المسئول عن تخليق هذا الفايتمين لا يثبط نشاطة بالحرارة المرتفعة.

والتفسير الأقرب إلي الحقيقة تأثر الإحتياجات الغذائية بدرجة حرارة التحضين هو أن النظم الإنزيمية المسئولة عن تجهيز بعض المواد الضرورية للنمو يثبط نشاطها بالدرجات المرتفعة من الحرارة أثناء الحضانة. (حياتي، 1993)

وعند درجات الحرارة فوق الحد الأقصي للنمو لا يمكن لعمليات التعويض أو الأصلاح بداخل الخلية أن تعوض كل البروتينات التي تفسد ،فيقل بذلك عدد الخلايا الحية،وقد وجد أن موت الخلايا نتيجة لإرتفاع درجة الحرارة يتم طبقا لنظام لوغاريتمي بمعني أن معدل الموت يزداد بإضطراد بإرتفاع 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)

تركيز المادة العضوية:The Concentratraion Of Organic Matter

زيادة تركيز المادة العضوية بالتربة يعني زيادة أعداد الكائنات الحية بالتالي رفع خصوبة التربة وتحسين خواصها. كذلك أن إضافة المواد العضوية تسبب زيادة في البكتريا غير ذاتية التغذية.

العمقDepth:

تكثر البكتريا في الطبقات العليا من التربة أي في عمق30 سم وتقل كلما تعمقنا نتيجة للظروف السائدة التي تسود الأعماق (العش، 1998)، (حياتي، 1993) (Janet, 2005)

التثبيت التكافلي:Symbiotic

لا يتم تثبيت النتروجين في هذه الحاله إلا عندما تكون علاقة من نبات معين مثل علاقة بكتريا الرايزوبيوم مع النباتات البقولية وتكوين العقد الجزرية في النبات التي يتم عن طريقها تثبيت نتروجين الهواء الجوي وتعتبر هذه المجموعة هي الأهمبيئياًواقتصادياً حيث أنها تمثل أكثر هذه المجموعاتتثبيتاً للنتروجينوتعديلاً لميزان النتروجين في التربة.

النتروجين:Nitrogen

عنصر أساسي وضروري لكل الكائنات الحية حيث يدخل في بنية كل الخلايا وهو كذلك مكون أساسي في تركيبة البروتينات والأحماض الأمينية والكلورفيل وهو الأساس تركيبة كل الإنزيمات التي تدير وتتحكم في كل هذة النشاطات الحيوية داخل كل خلية خاصة النمو والتكاثر. مصدر النتروجين الأصلي هو الهواء الجوي ولا يستطيع النبات الإستفادة منه إلا بعد أن يدخل في سلسة تفاعلات بواسطة الأحياء الدقيقة. ولا يمكن لأغلب الكائنات الحية إستخدام النيتروجين الحر.

التثبيت اللاتكافلي:Nonsymbiotic

توجد في حالة حرة في التربة وتثبيت النتروجين علي هذة الحالة أي دون الحاجة إلي دون الحاجة إلي الدخول في علاقة مع النبات كما يعتمد هذا النوع من الكائنات علي نفسة في الحصول علي مصدر الطاقة وهي إما هوائية مثل بكتريا السيدوموناس أو لآهوائية مثل الكلوستريدم.مختار وآخرون(2001)

الفسفور:Phosphorus

إذابة الفسفور غير العضوي

تعتبر المركبات غير الذائبة من الفسفور المعدني غير ميسرة للنباتات إلي درجة كبيرة.ولكن يمكن للكثير من الكائنات الدقيقة أن تقوم بتحويلها الي الصورة

الذائبة.ويبدو أن هذه العملية غير نادرة الحدوث.فقد وجد أن 10% إلي 50% من العزلات البكتيرية المختبرة لديها القدرة علي إذابة مركبات فوسفات الكالسيوم.وأ، أعداد البكتريا المذيبة لصور الفوسفات غير الذائبة في التربة تتراوح بين 10^5 إلي 10^7في الجرام, وإنهوغالباً ما تتواجد مثل هذه البكتريا بوفرة علي سطوح جذور النبات (Raghu k and I C MacRae 1966)

علي الرغم من أن إذابة الفوسفات عادة ما يحتاج إلي إنتاج الأحماض فإن هناك وسائل أخري يمكن أن يتم بها تحويل مركبات فوسفات الحديديك إلي الصورة الذائبة , في الأراضي المغمورة بالماء يمكن أن تختزل أملاج فوسفات الجديديك غير الذائبة وتؤدي عملية الإختزال إلي تكوين ملح الحديد الذائب ويصاحب ذلك إنتاج الفوسفات الذائبة في الماء. (Patrick. W. H.1973)

هذه الزيادة في الصورة الميسرة في الأراضي المغمورة بالماء تفسر السبب في قلة إحتياج محصول الأرز في هذه الأراضي إلي التسميد بالأسمدة الفوسفاتية إذا ما قورن ذلك باحتياجات نفس المحصول عند زراعتة بطرق الزراعة الجافة في الأراضي غير المغمورة بالماء, يمكن أن تتوفر أيضا الصور الميسرة من الفسفور للنبات عن طريق تأثير بعض أنواع البكتريا التي تعمل علي إنتاج كبريتيد الإيدروجين الذي يتفاعل مع فوسفات الحديديك وينتج كبريتيد الحديدوز بالإضافة إلي الفوسفات الذائبة(Spreber.J.I. 1957).

معدنة الفسفور العضوي

تم معدنة الفسفور في الأراضي البكر بسرع أكبر منها في مثيلاتها المنزرعة ,وبالإضافة إلي زيادة الكمية الكلية التي تم معدنتها في الأراضي البكر فإن النسبة المئوية للفسفور العضوي الكلي الذي يتم تحويلة تكون هي الأخري أكبر في الأراضي البكر عنها في الأراضي المنزرعة. تناسب درجات الحرارة الدافئة عمليات التحلل كما أن المدي الحراري المرتفع المناسب للميكروبات المجبة للحرارة العالية يعتبر

أكثر مناسبة من المدي الحراري المتوسط. وتنشط معدلات معدنة الفسفور نتيجة التعديل في درجة حموضة التربة إلي الحد الملائم لعمليات التمثيل الغذائي الميكروبي بوجة عام, وأن تحويل رقم الأس الايدروجيني للتربة منى الحموضة إلي ناحية التعادل يزيد من معدل إنتاج الفوسفات. ووجود الفسفورغير العضوي لا يعمل علي تثبيط عملية المعدنة فهي تستمر بسرعة حتي في الأماكن التي يتوفر بها الفوسفات(Daughtrey.1973)

وكما هو متوقع, فإن إمتصاص النباتات لعنصر الفسفور يكون مرتبطا مع معدل معدنة هذا العنصر(Sekhon.G.S.and C.A.Black.1968)

يشير وجود مركبات فوسفات الإينوزيتول التي يحتوي الجزئ منها علي خمس ذرات أقل من الفسفور في التربة إلي تحلل الإينوزيتول سدادي الفوسفات هو أحد العمليات التي تحدث بالفعل في التربة ويعمل إنزيم فيتز علي إطلاق الفوسفات من حامض الفيتيك أو أملاح كاليسوم ـ مغنسيوم.

يعتبر نشاط انزيم الفيتيز من النشاطات الواسعة الانتشار حيث أن حوالي 30% الي 50%من الميكروبات المعزوله من التربه يمكنها تخليق هذا الانزيم كما يزداد نشاط هذه الانزيمات في الطبيعة عند اضافة المواد الكربونيه التي تعمل علي زياده كثافتها العدديه وقد وجد انواع الميكروبات القادره علي تخليق هذا الانزيم تتبع اجناس aspergillus, penicillium, rhizopus, pseudomonas مع ذلك فانه علي الرغم من وجود النشاط الكامن لإنزيم الفيتيز بدرجة عاليه فإنه لا يحدث تمثيل المركبات الفيتين بكثرة في التربه ويبدو ان قدرة الكائنات الدقيقه المنتجه لإنزيم الفيتيز وهي قدره عاليه بالفعل ليست هي العامل المحدد لحدوث عمليات التحلل المائي لهذا المركب بل ان قلة حدوث مثل هذا التحليل في التربه يرجع الي وجود حامض الفيتيك بكميات صغيره في محلول التربه يعتبر الفسفور المضاف للتربة في صورة فيتات غير ميسر نسبيا للنباتات النامية في الظروف الحامضيه ومع ذلك فان درجة احتجاز مركبات فوسفات الإينوزيتول لا يمكن اعتبارها العامل الوحيد

المسبب في عدم تيسر هذه المركبات للكائنات الدقيقه لان ادمصاص انزيم الفيتيز او وقف نشاطه بواسطة حبيبات الطين يمكن ان يؤدي ايضا الي خفض معدل تحلل الماده .(Creaves 1969) والكمية من فسفور مثل هذه المركبات التي تمتصها نباتات قد لا تكون طلها ناتجة عن نشاط الكائنات الدقيقه في التربه حيث ان جذور النباتات يمكنها استخدام الإنزيتول سداسي الفوسفات كمصدر للفوسفات حتي في حالة نموها تحت ظروف معقمة .(Martin 1973)

بكتيريا السيدوموناس:Pseudomous

بكتريا السيدوموناس تسمي الزانفة الأسم الانجليزي لها Pseudomonas وهي من جنس البروتيوبكترياغاما وظهر في الأونة الأخيرة إعادة تصنيف هذا النوع الزانفة،تم إكتشافها بسبب وقوعها في نطاق واسع في مجال المياه والبذور النباتية وتم تسميتها زانفة وهو إسم غامض لهذة الكائنات عام 1894 هي بكتيريا عصوية الشكل وقضيبية السوط وتصنف كأحد عوامل العدوة الإنتهازية في المجال الطبي وعام 2000 تم تحديد التسلسل الجيني الكامل لهذا النوع من البكتيريا ،نجد أن الكلمة استعملت مبكرا في تاريخ علم الأحياء الدقيقة للإشارة إلي الجراثيم).أيات الطاهر(2015,

خصائص هذا النوع من البكتريا:

يتميز هذا النوع من البكتريا ببعض الخصائص منها أنها عصوية الشكل ،سلبية الغرام ،هوائية،لها سوط قطبي واحد أو أكثر ليمكنها من الحركة ،كما أنها غير مكونة للبوغ من شعبة البروتيوباكتريا غاما ورتبها من الزوافات فصيلتها زوائف إسمها العلمي Pseudomonasوإسمها النمطي Pseudomonas aeruginosa ويوجد منها أنواع وأنواع كثيرة مصنفة أعدد من المجموعات حوالي عشر مجموعات كل مجموعة بها أكثر من 20 نوع من البكتريا الزانفة تنتشر جميعها حول الإنسان أهما ما يميزها علي الإطلاق قدرتها الشديدة علي التكيف مع البيئة المحيطة بها،بعضها تتسبب في فساد الأطعمة والمواد الغذائية، والقليل منها الذي يصيب الإنسان

بالمرض،خطورتها الحقيقية تكمن في مقاومتها للمضادات الحيوية المعروفة وتنتشر في المستشفيات حيث أنها تقوم بإنتاج مادة زرقاء حيث أنها هوائية فتنمو بسهولة في الأوساط الهوائية وتقاوم كل المطهرات العادية.

العوامل التي تساعد على انتشارها:

- الإستعمال العشوائي للجرعات غير المدروسة والعشوائية من المضادات الحيوية.
- عمليات الزرع والبدائل الصناعية.
- إستخدام علاجات كابتات المناعة.
- التعامل مع العينات المرضية.

(2017الحرة، ويكيبيديا،الموسوعة)

- المملكة : بكتيريا
- الشعبة : متقلبات
- الطائفة : زوافات
- الفصيلة : زوائف
- الجنس : زائفة
- النوعaeruginosa.P :
- الإسم العلميPseudomonas aeruginosa(Schroter 1872) :

(آيات طاهر، 2015)

صنفت هذه البكتيريا في المجموعة الأربعة من تقسيم بيرغي عام1994 م.

أسم المجموعة:Group Name

Gram negative aerobic microaerophitic Rods and cocc.

تعتبر كائنات هذه المجموعة من اهم انواع البكتيريا لأهميتها في تثبيت نيتروجين الهواء الجوي وتيسير عملية إستهلاك النبات له بصورة مثلى وفاعلة.

صفات البكتيريا:Characteristice of bacteria

- بكتيريا هوائية
- سالبة لصبغة جرام
- تعيش مفردةSingle

الشكل:Shape

- عصوية طويلةStraight rods
- عصوية هلاليةCarved rods

التغذية:Nutrition

لهذا النوع من البكتيريا المقدة العالية في النمو في أكثر من 90 مادة كيميائية عضوية كمصدر وحيد للكربون (Chemoorganotrobhe) .وهي بكتيريا غير ذاتية التغذية (Hetrrotrophic).أيضاً لها المقدرة على إستخدام أنواع كثيرة من المواد الغذائية الكيميائية في تمثيلها الغذائي مثل : المبيدات الحشرية.

الإنتشار والتوزيع:Proliferation and Distribution

توجد هذه البكتيريا بصوة واسعةجداً ومنتشرة في الترب المزروعة وغير المزروعة)جميل .(2013 كما تعيش هذه البكتيريا في النطاقات التي توجد بها نسب ملوحة

منخفضة ودرجات حرارة في المدى بين20 ْ 40 ْ ووسط غذائي متعادل (ph=7) (حياتي، 1993)

تقسيم للبكتيريا BERGEY :

قسمت فيه البكتيريا الى عدة رتب اهمها:

Order: Pseudomonadales

هي بكتيريا خلايا افرادها عصوية او كروية او حلزونية سالبة لصبغة جرام تتحرك بواسطة الأسواط البكتيرية , نجد ان بعضها غير متحرك وتنقسم الى تحت رتبتين:

1/ Sub- Order : Rhodobacteriineae

خلايا افرادها لها ألوان مميزة عندما تنمو في مجاميع.

2/ Sub- Order : Pseudomonadineae

عموماً افرادها لا تحتوي على صبغات في عديمة اللون اغلبها ذاتي التغذية اي تحصل على طاقتها عن طريق اكسدة مواد كيميائية لا عضوية بعضها يؤكسد المواد العضوية ومن اهم عائلات هذه الرتبة-:

Famille: Pseudomonaslec

خلايا افرادها عصوية متوسطة الطول غير ذاتية التغذية تنموجيداً على البيئات العادية بعضها يسبب امراض نباتية من اجناسها-:

++ Genus: Pseudomonas

افراد هذا الجنس تنتج صبغات تذوب في الماء وغالبية انواعه تؤكسد الجلكوز وبعضها يختزل النترات وبعضها الاخر يحلل البروتينات والكثير من أنواع هذا

الجنس يسبب امراض نباتية هامة مثل : سل الزيتون الذي تسببه بكتيريا Pseudomonas savastanoi

صنفت بكتيريا سيدوموناس في مجموعة البكتيريا متوسطة الحرارة التي تنمو في درجات الحارة بين 20-45 درجة مئوية . حيث يتفاوت نشاطها ومعدلات نموؤها في هذا المدى ولا تستطيع النمو خارج هذا المدى.

الباب الثالث

مواد وطرق البحث

مصدر البكتيريا:

تم أخذ عينات من تربة شمبات لعمق10 سم من مزرعة الكلية وتم تعقيم الأدوات وأكياس أخذ العينات بكحول الإيثانول.

تحضير بيئة الآجار المغذي:

تم تحضير بيئة الآجار المغذي28 جم/لتر وتم تعقيم البيئة بواسطة جهاز الأتوكليف في درجة حرارة121 درجة مئوية وضغط15 رطل/بوصة.

عزل البكتيريا:

تم عزل البكتيريا بواسطة التخفيف المتسلسل وتم التزريع في بيئة الآجار المغذي وأُدخلت الأطباق إلي الحضان في درجة حرارة 30درجة مئوية لمدة إسبوع.

درجة الحرارة:

تم معاملة بكتريا السيدموناس في أربعة درجات حرارة 50_ 40 _30 _20 درجة مئوية.

الأجهزة المستخدمة:

- الفرن الجافDry Oven
- السخان الكهربي المسطحHot Plate
- الثلاجةCentrifuge
- الميزانBalances

- جهاز التعقيم بالبخارAutoclave Pressure
- جهاز التحضينIncubator
- كابينة تزريعflow Laminair
- موقد بنزنBenzen Burner

عدد الأطباق:

تم تعداد مستعمرات بكتيريا السيدمونس في تخفيف.10^8.10^4

الباب الرابع

النتائج والمناقشة

درجة حرارة 20 درجة مئوية:

أثبتت النتائج أن نمو البكتريا في درجة جرارة 20 درجة مئويه سجلت اعداد مستعمرات قليله جدا) عدد مستعمره واحده(في تخفيف 10^4 وغياب النمو في 10^8 وهذا التطابق في جدول (4-1) هاري1989 م

درجة حرارة 30 درجة مئوية:

سجلت المستعمرات أعلي قراءه في درجة حرارة 30 درجة مئوية 33) مستعمره (في (12) 10^4مستعمره في 10^8 وهذا التطابق في دول (4-1) ألكساندر1981 م

درجة حرارة 40 درجة مئويه:

سجلت مستعمرات السيديموناس أعداد أقل من درجة حرارة 30 درجة مئويه (15) مستعمرة في 3) 10^4 مستعمرات (في 10^8 وهذا يطابق ألكساندر1981 م في جدول (4-1)

درجة الحرارة 50 درجة مئويه:

سجلت بكتريا السيديموناس غياب تام في الأطباق التي تم حضنها في درجة حرارة 50درجة مئوية .حياتي 1993 في جدول.(4-1)

التخفيف	درجات الحرارة			
	20	30	40	50
10^4	1	33	15	0
10^8	0	12	3	0

المراجع:

المراجع العربية:

1. الصديق أحمد المصطفي الشيخ حياتي .(1993) الأحياء الدقيقة في التربة ,دار النشر جامعة الخرطوم، الخرطوم ص.54-45
2. ظريف العش .(1982) الموجز في علم الأحياء الدقيقة، المؤسسة الشرقية للطباعه والنشر، سوريا، ص.25-20
3. جميل فوزي جميل .(2013) ورقة علمية بعنوان التسميد الحيوي.
4. جمال محمد الشربيني .(2006) الفسفور في الأرض والنبات، المكتبة المصريه للطباعة والنشر والتوزيع، الإسكندرية، ص.242-106
5. عبد المنعم بلبع .جمال محمد الشربيني (2002) التسميد العضوي، القاهرة ، ص.49-46
6. هاري د .سيلي بول ج .فاندي ماك .(1989) الكائنات الدقيقةعملياً، العربية للنشر، القاهرة، ص.35-30
7. هاشم محمد بابكر نوري .نوري عثمان مختار .(2001) تثبيت النتروجين الجوي والتسميد الحيوي، هيئة البحوث الزراعية، السودان، ص.5-3

المراجع الإنجليزية:

1. Sprent Janet (2005). The biological nitrogen fixing organisms, university of UK page 30-34.
2. Benians, G. J. and D. A. Barber. 1974. Soil Biol. Biochem. 6:195-200.
3. Chang. S. C. 1940. Soil Sci, 49:197-210.
4. Cosgrove. D. J. G. C. J. Irving. and S. M. Bromfield. 1970. Ausi. J. Biol. Sci. 23: 339-343
5. Daughtrey. Z. W. J. W. Cilliam. and E. J. Kamparth. 1973. Soil Sci. 115:18- 24.
6. Creaves. M. P. and D. M. Weblery. 1969. Soil Biol. Biochem, 1:37-43.
7. Hayman. D. S. and B. Mosse. 1971. New Phytol. 70:19-27.
8. Heinen. W. and A. M. Lauwers. 1974. Arch. MICROBIOL., 95:267-274.
9. Jackson. N. F. R. F. Franklin, and R. H. Miller. 1972.Soil Sci. Soc. Amer. Prac. 36:64-67.
10. Kaila. A. 1949. Soil Sci. 68:279-289.
11. Macura. J. and F. Kune. 1965. Folia Microbiol. 10:36- 43.
12. Martin. J. K. 1973. Soil Biol. Biochem, 5:473-483.
13. Mills. A. L. and M. Alexander. 1974. J. Environ. Qual., 3:423- 428.
14. Patrick. W. H. Jr. S. Cotoh. and B. C. Williams. 1973. Science., 179: 564-565.
15. Raghu, K. and I. C. MacRae. 1966.J. Appl.Bacteriol., 29:582-586.
16. Rudakow, K. J. 1929. Zent. Bakteriol., II, 79: 229- 245.
17. Sekhon, G.S and C. A. Black. 1968. Plant Soil, 29:229-304.
18. Sperber, J. I. 1957. Nature, 180:994-995.
19. Tsubota, g. 1959. Soil Plant Food, 5: 10-15.
20. WWWar.m.wikpedia.org//https:
21. Almrsal.com//https: