



دولة ليبيا

وزارة التعليم

جامعة سبها

كلية العلوم

قسم علم النبات

قُدم هذا البحث استكمالاً لمتطلبات الاجازة الجامعية البكالوريوس بقسم النبات كلية العلوم جامعة سبها
بعنوان:

الخواص البيوكيميائية للريزوبيا المعزولة من نبات الحندقوق (*Melilotus officianalis* L.)
النامي في الترب الجافة من ليبيا (فزان)

Biochemical properties of rhizobia isolated from *Melilotus officianalis* L. growing in arid soil of Libya (Fezzan)

اعداد:

غالية احمد عمر قضاوار

اخلاص عبد القادر احمد عزاقة

مها مختار زيدان السنوسي

ميروكة مختار زيدان السنوسي

إشراف

أ. مسعودة عمر ابوالقاسم خليفة

الخريف 2018م



كلية: العلوم

قسم: علم النبات

إقرار من مشرف مشروع تخرج للمرحلة الجامعية بتسليمه للمناقشة
عنوان مشروع التخرج لنيل درجة: البكالوريوس

الخواص البيوكيميائية للريزوبيا المعزولة من نبات الحندقوق (*Melilotus officianalis L.*)
النامي في التربة الجافة من ليبيا (فزان)

اسم الطالب: اخلاص عبد القادر احمد عزاقة	رقمه الدراسي: 2130136
اسم الطالب: غالية احمد عمر قضاوار	رقمه الدراسي: 2150325
اسم الطالب: مبروكة مختار زيدان السنوسي	رقمه الدراسي: 2150050
اسم الطالب:- مها مختار زيدان السنوسي	رقمه الدراسي: 2150504

اسم المشرف: مسعودة عمر ابوالقاسم خليفة

اقرانا مشرف البحث المذكور أعلاه بان البحث مطابق لمواصفات البحوث الجامعية بجامعة سيها علمياً ولغوياً وشروط
الكتابة المعتمدة

توقيع المشرف:----- التاريخ:

يعتمد

توقيعه:-----

رئيس القسم: د. هدى سالم الرويق

الخريف 2018م



كلية: العلوم

قسم: علم النبات

تفويض

أنا..... أفوض جامعة سيما بتزويد نسخ من بحثي للمكتبات أو المؤسسات أو الهيئات أو الأشخاص عند طلبهم حسب الأنظمة واللوائح التنظيمية في الجامعة. للبحث المقدم لمتطلبات الإجازة الجامعية بقسم علم النبات كلية العلوم جامعة سيما بعنوان:

الخواص البيوكيميائية للريزوبيا المعزولة من نبات الحندقوق (*Melilotus officianalis L.*) النامي في التربة الجافة من ليبيا (فزان)

اعداد

اسم الطالب: اخلاص عبد القادر احمد عزاقعة	رقمه الدراسي: 2130136	توقيع
اسم الطالب: غالية احمد عمر قضاوار	رقمه الدراسي: 2150325	توقيع
اسم الطالب:-مبروكة مختار زيدان السنوسي	رقمه الدراسي: 2150050	توقيع
اسم الطالب:- مها مختار زيدان السنوسي	رقمه الدراسي: 2150504	توقيع

تحت إشراف

مسعودة عمر خليفة توقيع: -----

الدرجة العلمية للمشرف: محاضر

الخريف 2018م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ﴾

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْعِظِيمِ

من الآية 11 من سورة المجادلة

جامعة سيينا

الإهداء

الحمد لله وحده لا شريك له، له الملك و له الحمد و هو على كل شيء قدير. بداية تُهدي عملنا هذا إلى منارة العلم و العالمين الأُمي الذي علّم المتعلمين خاتم الانبياء والمرسلين محمد بن عبد الله عليه أفضل الصلاة و اتم التسليم.

إلى الذي وهبني كل ما يملك حتى أحقق أماله، الى من كان يدفعني قدماً نحو الامام لنيل المبتغى، إلى الانسان الذي امتلك الانسانية بكل قوة، إلى الذي سهر على تعليمي بتضحيات جسام مترجمة في تقديمه للعلم، الى مدرستي الاولى في الحياة و قوتي. "أبي الغالي"

إلى التي وهبت فلذة كبدها كل الحنان و العطاء، الى التي صبرت على كل شيء، إلى التي رعتني حق رعاية وكانت سندي في الشدائد، و كانت دعواتها لي بالتوفيق تتبني خطوة بخطوة في عملي، إلى من ارتحت كلما تذكرت ابتسامتها في وجهي. "أمي الغالية"

إلى سندي في هذه الحياة بعد الله سبحانه و تعالى، إلى من تذوقت معهم أجمل اللحظات، إلى القلوب الطاهرة الرقيقة و النفوس البريئة إلى رياحين حياتي. اهدى هذا العمل المتواضع لكي ادخل على قلوبهم شيئاً من السعادة. "اخوتي و اخواتي"

أخيراً بالصوت نهديكم الأمل، و بالصورة نهديكم مشروعاً قد اكتمل، و بالكلمة نهديكم خلاصة العمل.

كلمة الشكر

﴿لأن شكرتم لأزيدنكم﴾

لابد لنا و نحن نخطو خطواتنا الأخيرة في الحياة الجامعية من وقفة نعود إلى أعوام قضيناها في رحاب الجامعة مع اساتذتنا الكرام الذين قدموا لنا الكثير باذلين جهوداً كبيرة في بناء جيل الغد لتبعث الأمة من جديد و قبل أن نمضي نقدم أسمى آيات الشكر و الامتنان و التقدير و المحبة، إلى الذين حملوا أقدس رسالة في الحياة، إلى جميع أساتذتنا الأفاضل الذين أشرفوا على تعليمنا "كن عالماً فإن لم تستطيع فكن متعلماً، فإن لم تستطيع فأحب العلماء، فإن لم تستطيع فلا تبغضهم"

بعد رحلة بحث و جهد و اجتهاد تكمل بإنجاز هذا البحث. نحمد الله عز و جل على نعمه التي منّ بها علينا فهو العلي القدير، كما لا يسعنا إلا ان نخص بأسمى عبارات الشكر و التقدير الاستاذة "مسعودة عمر خليفة" لما قدمته لنا من جهد و نصح و معرفة طيلة انجاز هذا البحث. الشكر كل الشكر للأستاذة "ابتسام محمد احمادي" لمساعدتها لنا في جانب التحليل الاحصائي، فلها منّا كل التقدير والثناء و جزاها الله عنا كل خير.

شكرنا موصول إلى كل من مد لنا يد العون و ساعدنا في اكمال هذا البحث و نخص بالشكر كل من أ. شمسي عبدالله و زملائنا في شعبة الاحياء الدقيقة بقسم علم النبات و هم اسحيم مسعود علي، و نجاح غومة سالم، و عبدالرحمن يوسف كرنفلاه، و عمر تامر مختار الذين كنّا واياهم اخوة في هذا البحث و قطعناه معاً خطوة بخطوة فلکم منّا همسة شكر من صميم القلب.

شكرنا يمتد إلى كل من قدم لنا مساعدة أو نصيحة كان لها الاثر الملموس في نجاح هذا العمل، وكانوا عوناً لنا في بحثنا هذا و نورّ يضيئ الظلمة التي كانت تقف أحياناً في طريقنا. كما لا يفوتنا أن نشكر افراد أسرنا اللذين لم يبخلوا علينا لا بغالي و لا نفيس في طيلة مشوارنا التعليمي.

فلکم منا جميعاً كل الشكر و الثناء.

فهرس المحتويات

الصفحة

الموضوع

.....	الاقرار .
.....	التقويض .
أ الآية القرآنية .
ب الإهداء .
ج كلمة الشكر .
د فهرس المحتويات .
و فهرس الاشكال .
ز فهرس الجداول .
ح الملخص .
..... I. الفصل الاول .
1 1.1 المقدمة .
1 2.1 النباتات البقولية .
2 3.1 بكتيريا العقد الجذرية .
3 4.1 التباين المظهري للريزوبيا .
4 5.1 التصنيف العددي .
5 6.1 الهدف من البحث .
..... II. الفصل الثاني .
..... 2. المواد وطرق العمل .
6 2.1 موقع الدراسة و جمع العقد .
6 2.2 وسط النمو .
7 2.3 عزل الريزوبيا من العقد الجذرية .
7 2.4 المزارع البكتيرية .
8 2.5 السمات التكافلية للعزلات .
9 2.6 الصفات الزرعية .
9 2.6.1 زمن ظهور المستعمرة .
9 2.6.2 إنتاج حامض أو قلوي في وسط النمو .
9 2.7 الاختبارات البيوكيميائية .

10 2. 7. 1. آجار السكر الثلاثي.
10 2. 7. 2. أكسدة المواد الكربوهيدراتية.
10 2. 7. 3. أكسدة الاحماض الامينية.
11 2. 7. 4. المضادات الحيوية.
12 2. 7. 5. الاختبارات الانزيمية.
12 2. 7. 5. 1. اختبار انزيم Catalase.
13 2. 7. 5. 2. اختبار انزيم Oxidase.
13 2. 7. 5. 3. اختبار انزيم Tryptophanase.
13 2. 7. 5. 4. اختبار انزيم Urease.
14 2. 7. 5. 5. اختبار انزيم Gelatinase.
14 2. 7. 5. 6. اختبار انزيم Caseinase.
14 2. 8. التصنيف العددي Numerical taxonomy.
15 2. 9. التحليل الاحصائي.
 III. الفصل الثالث.
16 3. النتائج و المناقشة.
 IV. الفصل الرابع.
35 4. الاستنتاج.
36 5. التوصيات.
37 6. المراجع العربية.
38 7. المراجع الأجنبية.
 8. الملاحق.
45 8. 1. نبات الحندقوق.
45 8. 2. مجاميع التلقيح التبادلية.
46 8. 3. عدد الانواع الريزوبية و الاجناس الموصفة.
47 8. 4. وسط جنسن Jensen.
48 8. 5. مقياس ماك فورلاند McFarland standards.
48 8. 6. مكونات كاشف كوفاك.

فهرس الأشكال

الصفحة

الشكل

1. خريطة تبين مواقع جمع العينات من منطقة تاروت الشاطئ (ليبيا). 6
2. اختبار العزلات الريزوبية في أنابيب اختبار على البرسيم الحجازي. 17
3. متوسط وزن العقد البكتيرية (جم) لنبات البرسيم الحجازي بعد تلقّحه بعزلات من نبات الحندقوق. 18
4. متوسط عدد العقد البكتيرية لنبات البرسيم الحجازي بعد تلقّحه بعزلات من نبات الحندقوق. .. 19
5. متوسط وزن النبات الرطب (جم) لنبات البرسيم الحجازي بعد تلقّحه بعزلات من نبات الحندقوق. 20
6. متوسط وزن النبات الجاف (جم) لنبات البرسيم الحجازي بعد تلقّحه بعزلات من نبات الحندقوق. 21
7. مخطط شجري Dendrogram يبين علاقة العزلات الريزوبية ببعضها البعض. 24
8. شكل المستعمرة "يمين" و الفحص المجهرى "يسار" لبعض العزلات الريزوبية. 27
9. العزلات الريزوبية و نموها على آجار السكر الثلاثي "TSI". 28
10. نتائج اختبار بعض الانزيمات يمين انتاج Catalase، و يسار انتاج Urease. 32

جامعة سيينا

فهرس الجداول

الصفحة	الجدول
8	1. العزلات الريزوبية، عائلها النباتي و أماكن جمعها.
12	2. المضادات الحيوية التي استخدمت في الاختبار.
17	3. متوسط وزن العقد البكتيرية (جم) لنبات البرسيم الحجازي بعد تلقيحه بعزلات من نبات الحندقوق.
18	4. متوسط عدد العقد البكتيرية لنبات البرسيم الحجازي بعد تلقيحه بعزلات من نبات الحندقوق.
20	5. متوسط وزن النبات الرطب (جم) لنبات البرسيم الحجازي بعد تلقيحه بعزلات من نبات الحندقوق.
21	6. متوسط وزن النبات الجاف (جم) لنبات البرسيم الحجازي بعد تلقيحه بعزلات من نبات الحندقوق.
25	7. نتائج الاختبارات البيوكيميائية للمجاميع المتكونة بالتصنيف العددي.



المخلص

تمت دراسة التباين المظهري Phenotypic diversity لاثنتا عشرة عزلة ريزوبية تم الحصول عليها من العقد الجذرية لنبات الحندقوق *M. officianalis*، علاوة على السلالة المرجعية *Ensifer meliloti* باستخدام التصنيف العددي Numerical taxonomy. السمات التكافلية لهذه العزلات أظهرت قدرتها على تكوين التكافل الفعال و تكوين العقد مع نبات البرسيم الحجازي المزروع *M. sativa*. التصنيف العددي للعزلات الريزوبية بين أنه تم الحصول على مجموعتين عند مستوى تشابه 81%. أظهرت العزلات المكونة للمجاميع صفات زرعية مشابهة للريزوبيا سريعة النمو، بحيث ظهرت مستعمراتها خلال ثلاثة أيام، و جلها غيرت وسط النمو إلى حامضي. نتائج الخواص البيوكيميائية أظهرت تباين بين العزلات المكونة للمجاميع، فكل العزلات كانت قليلة في استخدامها للسكريات المتعددة، و معظمها مؤكسدة للسكريات الكحولية، و الأحادية الخماسية والسداسية و سكريات الأوليجو الثنائية، كما أن أغلبها أظهر تباين في استخدامها للأحماض الامينية. أغلب العزلات كانت مقاومة للمضادات الحيوية Cephalothin، Penicillin G، Bacitracin و Clindamycin و حساسة للمضادات Neomycin، Gentamicin و Streptomycin وتباينت في استجابتها مع و بقية المضادات الاخرى ك Fusidic، Polymyxin B، Chloramphenicol، Tetracyclin و Colistin، acid. اختبار الانزيمات أظهر تباين في استجابة العزلات، كل العزلات المكونة للمجاميع كانت موجبة لأنزيمي Catalase و Oxidase و كلها سالبة لأنزيمات Tryptophanase، Gelatinase و Caseinase وتباينت في اختبار انزيم Urease من منتجة لهذا الانزيم و تستطيع تحليل اليوريا إلى غير منتجة له.

الكلمات المفتاحية: الخواص البيوكيميائية، الريزوبيا، التباين المظهري، نبات الحندقوق، التصنيف العددي.

Abstract

The phenotypic diversity of twelve rhizobial isolates obtained from the root nodes of the *M. officianalis* as well as the reference strain *Ensifer meliloti* was investigated using numerical taxonomy. The symbiotic characteristics of these isolates showed their ability from effective symbiosis and nodes formation with *M. sativa*. Numerical taxonomy of isolates showed that two groups were obtained at a similarity level of 81%. The groups of isolates showed characteristics similar to the fast-growing rhizobia, developed colonies within three days and most acidified growth medium. The results of the biochemical properties showed difference between the groups of the isolates. All the isolates used the polysaccharides in abundance and most of them oxidizing, the alcoholic sugars, monosaccharaides and oligosaccharides. Most of the isolates showed difference in the use of amino acids. Most of the isolated were resistant to antibiotics including clindamycin, penicillin G, bacitracin and clindamycin while some of isolates were and streptomycin and differently reacted to chloramphenicol, sensitive to neomycin, gentamicin

Polymyxin B, Fusidic acid, colistin and Tetracyclin. The enzyme test showed variation in isolation response where all isolates were positive for Catalase and Oxidase while production, all of them were negative Tryptophanase, Gelatinase and Caseinase production and varied results were in Urease test of the production isolates of this enzyme and can analyze urea to non-production.

Key words: Biochemical properties, Rhizobia, Phenotypic diversity, *M. officianalis*, Numerical taxonomy.

