

وزارة التربية والتعليم

جامعة سبها /كلية العلوم/قسم النبات

مشروع البحث التخرج بعنوان :-

دراسة مدى تحمل بكتيريا **rhizobium**

leguminosarumbv.viciae

لعدة مستويات من الملوحة ودرجة الحرارة

عمل الطالبين:-

1-منيره محمد علي البصير

رقم القيد 2090565

2-فاطمة آدم أدريس

رقم القيد:-02090539

تحت إشراف أستاذة :-مسعودة

سنة الدراسية صيف:-2014-2015

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(())

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

أهداء

- إلى من ساعدنا وذللو كل مصاعب الحياة أمامنا وزرعو بذرة الأمل في صدورنا

((أبائنا وأزواجنا للأعضاء))

- إلى من وهبنا الحياة ونهلت من بحر محبتها حتى الأرتواء ((أمهاتنا))

- ألى من ترعرنا بينهم صغاراً وعشنا معهم أجمل اللأوقات واسعدها ((إخواننا للأعضاء))

- إلى من علمونا أول حرف وأنارو لنا درب العلم حتى وصلنا إلى ما نحن عليه ((أعضاء هيئة التدريس))

- إلى من رافقنا خلال دربنا وعاشو معنا أجمل اللحظات وعاملون بكل حب والتقدير

((أصدقائنا واقربائنا))

- إلى كل داع بالخير نهدي ثمرة هذا الجهد المتواضع

كلمة شكر

الحمد والشكر لله أولاً وأخيراً اللذي وفقنا وأعاننا على
إنجاز هذا المشروع وبعد

نتقدم بشكر والعرفان إلى الأستاذة الفاضلة

((مسعوده عمر أبو القاسم خليفة))

مشرفة هذا المشروع لما قدمته لنا من توجيهات
وأرشادات قيمة لإنجاز هذا المشروع وأظهاره بهذه
الصورة.

كما نتقدم بالشكر والتقدير إلى أعضاء هيئة التدريس
جامعة سبها كلية العلوم ونخص بذكر مدرسينا وذكاترة
الآفاضل بقسم الشعبة النبات وشعبة الأحياء الدقيقة على
ما قدموه من عون طيلة فترة الدراسة .

المقدمة

عنصر النيتروجين من اهم العناصر الاساسيه والضروريه للنبات والتسميد النيتروجيني من الاسمدة المكلفه اقتصاديا لأنها تستخدم الطاقة في تصنيعها مما يجعل اسعاره مرتفعه وذلك بالمقارنة بالاسمدة البوتاسيه والفوسفاتية لأنها تؤخذ من مصادر طبيعية (موارد التربه) ولزيادة محتوى التربه من النيتروجين بطرق طبيعية ذات تكلفه ارخص فانه يستخدم التسميد العضوى و الناتجة من (المخلفات الحيوانيه) والتي تقوم بتحليلها بكتريا التآزت وأكسدتها الى نيتريت ثم الى نترات ، كذلك بكتريا العقد الجذريه التي تقوم بتثبيت النيتروجين الجوى والتي تنمو على جذور المحاصيل البقولية مكونه عقد بكتيرية تعيش معيشة تكافلية مع المحصول حيث تأخذ منه مصدر الطاقة (كربوهيدرات) وتقوم هى بتثبيت النيتروجين الجوى الذى يستفيد منه النبات

تعد النباتات الطبية المصدر الرئيسي لكثير من العقاقير الطبية المستخدمة لمختلف الأمراض العلاجية سيما في علاج الكثير من الأمراض المزمنة كونها تعد مصدراً للمواد الفعالة التي تدخل في تحضير الكثير من المركبات الدوائية (al_rawi1998)

أن اختيار بذور نبات البرسيم الحجازي في هذه الدراسة لكونه جزء الطبي في هذا النبات البرسيم الحجازي أو الفصْفَصَة (وباللهجة العامية : الفصّة (نبات معمر يتبع جنس الفصّة من الفصيلة البقولية، واسمه العلمي) باللاتينية Medicago sativa)

أزهار البرسيم الحجازي

يعد البرسيم الحجازي أهم محاصيل العلف وبالأخص لأبقار الحليب يستعمل أيضاً كنبات مراعي وكعلف للمواشي

الوصف النباتي [عدل]

يصل ارتفاع البرسيم الحجازي إلى أكثر من متر إذا لم يحش، مجموعته الجذري وتدي وعميق، وساقه متفرعة، وأوراقه مركبة ثلاثية الوريقات، والوريقات بيضوية مقلوبة، والنورة عنقودية رأسية، والأزهار صغيرة طولها حوالي 1.5 سنتيمتر وتويجها وردي اللون أو أزرق أو بنفسجي، الثمرة عبارة عن قرن لولبي متفتح يحتوي على عدد كبير من البذور. شكل البذرة يشبه الكلية.

تحتوي المادة الخضراء وخاصة الأوراق على 9.1% كربوهيدرات و 5% بروتين و 0.9% مواد دسمة و 2.4% مركبات معدنية) أملاح الكالسيوم والفوسفور) ، بالإضافة إلى الحيمينات. ويعتبر البرسيم مصدراً هاماً للـ ليخضور و الحيمينات، إذ يحتوي على فيتامينات A و هـ بكميات كبيرة وكذلك حيمينات B و B1 و D بكميات أقل، والبرسيم مادة أولية للحصول على فيتامين k

الاستعمال الطبي

إلى جانب استعمالات البرسيم العلفية وخواصه المدرة للحليب فإن منقوع أوراق البرسيم إذا أخذ قبل تناول الطعام فإنه يرفع الشهية ويزيد الحيوية ويساعد على زيادة الوزن، هذا إلى جانب كونها مصدراً للـ ليخضور

مرادفات للاسم العلمي

- (باللاتينية): Medicago afganica (Bordere) Vassilcz.)
- (باللاتينية): Medicago grandiflora (Grossh.) Vassilcz.)
- (باللاتينية): Medicago ladak Vassilcz.)
- (باللاتينية): Medicago mesopotamica Vassilcz.)
- (باللاتينية): Medicago orientalis Vassilcz.)
- (باللاتينية): Medicago polia (Brand) Vassilcz.)
- (باللاتينية): Medicago praesativa Sinskaya)
- (باللاتينية): Medicago sogdiana (Brand) Vassilcz.)
- (باللاتينية): Trigonella upendrae H. J. Chowdhery & R. R. Ra

التصنيف العلمي

<u>حقيقيات النوى</u>	<u>النطاق:</u>
<u>النباتات</u>	المملكة:
<u>النباتات الأرضية</u>	الفرع:
<u>النباتات الوعائية</u>	القسم:
<u>مستورات البذور</u>	الشعبة:
<u>ثنائيات الفلقة</u>	الطائفة:
<u>الفوليات</u>	الرتبة:
<u>البقولية</u>	الفصيلة:
<u>النفلاوية Trifolieae</u>	القبيلة:
<u>الفصية Medicago</u>	الجنس:

البرسيم الحجازي النوع:

نبذه مختصرة عن البكتيريا العقد الجدرية :-

تعدا لعلاقة بين بكتريا العقد الجدرية والعائل الباقولى من العلاقات المعقدة ويمكن تحديدها بعوامل عدة تؤثر كل منها على فاعلية العزله بتثبيت النيتروجين تعد بكتيريا rhizobium التي تعود الى عائلة rhizobiaceac المسؤله عن تكوين العقد nodules فى جذور النباتات البقوليه وأختزال غاز النيتروجين الى أمونيا ليقوم بدوره فى عمليات أيض (vi.1998) حيث تهاجم بكتريا العقد الجدرية التابعه لجنس الرازيبوم النباتات البقولية عن طريق الشعيرات الجدرية بعد تكوين الاوراق الحقيقية "،وتكون هذه البكتريا العقد الجدرية حوالى 7 اسابيع معيشه تكافليه 0(تعاونيه)symbiosis حيث ينموالنبات العائل أثناء هذه الفترة يسمه تثبيت النتروجين الجوى كما يستفيد البكتريا من النبات بالمواد الكربوهيدراتيه والمواد العضويه الأخرى . تم تنفجر العقده وتخرج البكتريا الى الأرض الزراعيه كى تعاود تكوين عقده مرة أخرى الكائنين يستفيد من الأخر حيث يقوم النبات بأمداد البكتيريا با لمصدر الكربونى (سكر)ومصادر الطاقه والأحماص العضويه والغير العضويه ،فيما تقوم البكتيريا بعملية تثبيت النيتروجين الى صوره يمكن النبات العائل أن يستفيد منه كتحويله ألى أحماض أمينية مثل الجلوتاميك ولاسبراجين.

العلاقة بين بكتيريا العقد الجدرية والعائل الباقولى:-

علاقة تبادل المنفعة بين بكتيريا rhizobium ونباتات مثل علاقة تبادل المنفعة بين البكتريا والنباتات لبقولية مثل البرسيم،الفول ،الفاصوليا،فول الصويا،الحلبه، وغيرها أحد أشهر الأمثله العلاقات البيئية بين الميكروبات وبين الكائنات الراقية:وفى هذه العلاقة نجد أن كلا

علاقة تبادل المنفعة بين البكتيريا والعائل:-

تثبيت الحيوى النيتروجين:-

الطرق الحيوية لتثبيت النيتروجين تعتمد على الكائنات الدقيقة وخاصة البكتريا فتستطيع بعض أنواع البكتريا تثبيت النيتروجين بطريقة "التكافل" الذى يحدث بالفعل المشترك بين :

بكتريا_العقد_الجدرية و النباتات البقولية_

العلاقة بين أنواع البكتريا المثبتة للنيتروجين والعائل

Table 3.8. Symbiotic N₂ fixation (kg N ha⁻¹ a⁻¹) in Fabaceae. (Werner 1992)

Plants	Minimum/maximum	Mean
<i>Lens</i>	50 – 150	80
<i>Trifolium</i>	45 – 670	250
<i>Pisum</i>	50 – 500	150
<i>Medicago</i>	90 – 340	250
<i>Lupinus</i>	140 – 200	150
<i>Vicia</i>	100 – 300	200
<i>Glycine</i>	60 – 300	100
<i>Arachis</i>	50 – 150	100
<i>Sesbania</i>	600 – 800	700
N ₂ -fixing trees	80 – 500	150

مميزات الرئيسية لبكتيريا العقد الجذرية:-

1. تتبع بكتريا العقد الجذرية جنس *Rhizobium*
2. بكتريا صغيرة اسطوانية .
3. غير متجذثة .
4. هوائية .
5. تعيش حرة في التربة
6. قادرة على إصابة نباتات بقولية معينة محدثة العقد الجذرية ، فكل نبات بقولي أو مجموعة من النباتات البقولية نوع أو سلاسل معينة الرايزوبيا التي تستطيع أن تكون عليها العقد ، بينما لا تستطيع ذلك سلالة أخرى .

شكل العقده البكتيري:-

غالباً ماتأخذ العقدة البكتيرييه الشكل الاسطواني المستطيل clongode and cylindrical توجد غالباً هذا النوع في المناطق القميه للجذور أما الشكل الكروي

spherical فهو يتواجد في المناطق مختلفه كما في الفول. اما الشكل الطرفي caller ممتد لى طول الجدار كما في الترمس (dart,1975)

عدد العقده البكتيرييه: تتوقف عدد العقده البكتيرييه على الجدار وعلى جذور وعلى عدد الشعيرات الجدرية تصل عدد العقد البكتيرييه خلال 12 يوم ينمو حوالى 80 عقده بكتيرييه للجدر (dreyfus and r aham1973r)

- تكوين العقدة البكتيرية

تعيش بكتيريا Rhizobium بصورة حرة في التربة ، عادة قريباً من جذور النباتات البقولية ، تقوم النباتات بافراز مواد مختلفة مثل Flavonoids ، هذه المواد تقوم بحث خلايا البكتيريا للاقتراب أكثر من جذور النبات و محاولة اختراق الجذور



عندما تتم عملية الاختراق يتكون خيط الإصابة Infection thread و هو المسار الذي تسلكه خلايا البكتيريا للوصول إلى داخل الخلايا الموجودة في الجذر

3- عندما تدخل البكتيريا داخل الخلايا النباتية تحاط بغشاء و تتحول بعد ذلك الخلية البكتيرية إلى طور يسمى Bacteroid تأخذ أشكال TYLXV هذا الطور الذي

تستطيع البكتيريا من خلاله تثبيت النيتروجين لاحتوائها على انزيم النيتروجينيز المثبت لينتروجين الهواء الجوي

نظام تكوين العقد:

درجة الحرارة

الكثافة

نوع العائل

وظيفة العقده البكتيرييه: تعمل على تثبيت النيتروجين وعند حدوث اى تأثير طبيعى خلال نمو النبات قد يؤثر على كميته النيتروجين المثبتة (viamdset al1979) وان قد يحدث توقف تثبيت النيتروجين او قد تكون محدد العقد البكتيرييه

العوامل المؤثره على معدل تثبيت النيتروجين :-

مراحل تكوين العقد البكتيرية **1-التعريف :-** من المعروف ان ميكانيكية النمو للنبات تمنع دخول الكائنات الحيه الدقيقه والتي ممكن ان تحدث اصابه مرضية. وأن الاساس فى التعارف بين النباتات والبكتريا هو الافرازات التى على سطح الشعيرات الجذريه وغالبا ما تكون تلك الافرازات سكريات وأحماض عضويه وأحماض امينيه وتعمل هذه الافرازات على جذب البكتريا المتخصصة واهم العلماء اللذين قاموا بالدراسة فى هذا المجال (Hamblin and kent 1973) على محصول الحلبه البريه.

2- العدوى :- هى الخطوه التاليه التى تلى عمليه التعريف حيث يحدث تغير مظهرى فى الشعيرات الجذريه التى سيتم بها العدوى ويتحلل جدار الشعيرة الجذريه حيث تستطيع البكتريا الدخول داخل الشعيرة الجذريه ويتكون جدار خلية جديد يفصل بين محتويات خلية الشعيرة الجذرية والبكتريا ويلتحم جدار الشعيرة الجذرية من الخارج وتصبح البكتريا فى فضاء مغلق ويمتد الجدار الداخلى وينمو فى صورة انبوبية يطلق عليها خيط العدوى فى إتجاه قاعدة خلية الشعيرة الجذرية ثم تتوصل البكتريا محاطة بصفائح بلازمية.

3- نمو العقدة :- يستمر خيط العدوى فى النمو داخل الشعيرة الجذرية ويتخلل طبقة القشرة للجذر وتتنبه خلايا القشرة للانقسام وتتضاعف وتنمو عكس حزم الخشب وتنبثق فى نفس الموضع على هيئة عقدة وتنمو العقدة وتتباين فى درجة

الإعتماد على العائل فهي أما أن تكون عقد محدودة النمو كما فى فول الصويا أو غير محدودة النمو كما فى البسلة والفول والحمص. فالعقدة محدودة النمو تكون الخلايا غير قادرة على الانقسام أما النوع الثانى الغير محدود فانها تحتوى على خلايا برانشيمية قادرة على النمو لفترة طويلة

• العقد محدودة النمو:

• فى هذه العقدة تكون البكتريا حرة داخل خلايا القشرة المنقسمة وتتوقف الخلايا عن الانقسام ولذلك تكون اقصى زيادة فى الحجم خلال توسع الخلايا وتحتوى هذه الخلايا على أوعيه تتصل بالجهاز الوعائى للجذر.

• العقدة غير محدود النمو:

• فى هذه العقد تنتشر البكتريا بواسطة خيوط العدوى داخل الخلايا المنقسمة حديثا والتي لا تنقسم مره اخرى ويستمر خيط العدوى فى النمو والتفرع خلف الخلايا المنقسمة حديثا لى يتم العدوى وينتج عن ذلك عقد انبوبية مستطيلة أو متفرعة ويمكن توضيح أربعة مناطق أساسية فى العقدة غير محدودة النمو.

• 1- المر سيتم النشاط فى المنطقه الخارجيه للعقدة.

• 2- منطقة العدوى: تحتوى على خلايا ناضجة بها البكتريا ويتم بها تثبيت النيتروجين الجوى ولونها قرمزى لاحتوائها على صبغه البقلهيموجلوبيين وهى تميز الى منطقتين منطقه حديثه الانقسام يتم بها العدوى ومنطقة أخذت الخلايا المنقسمة حجمها الطبيعى وتم عدوها بالبكتريا وأصبحت فى حالة نشطة.

• 3- ويتقدم العقدة فى العمر تنشأ المنطقه الرابعه حيث تحتوى على خلايا مكونه صبغه خضراء يمكن تميزها ويكون شكل العقدة فى البرسيم والبسلة على هيئة حرف Y وتأخذ الشكل الكمثرى فى انواع البرسيم المختلفه وتستمر العقدة نشطة منتجة للنيتروجين حوالى سبع اسابيع ثم بعد ذلك تفرز البكتريا أنزيم البكتيز الذى يذيب الصفيحة الوسطى للخلايا ثم تنفجر العقدة وتخرج البكتريا للارض الزراعيه.

• العوامل التى تؤثر على تكوين العقد البكتيرية:

• **1- مدى احتواء بذور النبات البقولى على المواد السامة:** أوضح (, kneur 1965) فى دراسته على البرسيم الحجازى وكذلك (Wahab etal 1976,) على فول الصويا ان بذورها تحتوى على مواد سامة تفرز اثناء الانبات تؤثر على بكتريا Rhizobium ولعلاج ذلك تندى البذور بالماء قبل إجراء خلط البكتريا بالبذور.

• **2- الافرازات الجذرية:-** قد تفرز جذور البقوليات بعض المركبات الكيماوية كالكسكريات او الاحماض العضوية والاحماض الامينية خلال عملية التغذية فى التربة حيث تتجمع بكتريا Rhizobium بالقرب من هذه الافرازات الجذرية حيث تتجمع بكتريا R. trifolii R. meliloti بالقرب من المجموع الجذرى للبرسيم الحجازى بينما البرسيم المصرى يحت بكتريا R. trifolii اكثر من R. meliloti لقد اشادت أبحاث (Van Egerat , 1972) ان جذور نبات البسلة تفرز مواد Honoserin والتي تشجع نمو البكتريا R. leguminosarm .

• **3-تخصص البكتريا فى العدوى:** من المعروف أنه لكل سلالة بكتيرية تخصص فى مهاجمة المجموع الجذرى لمحصول او اكثر من المحاصيل البقولية يتبع نفس المجموعه يطلق عليه اسم التخصص للعائل لا يمكن ان تهاجم غيره وإذا حدث أن هاجمت فأنها تكون غير فعالة اى غير قادرة على تثبيت النيتروجين الجوى.

• عدوى الجذور:

من علامات نجاح العدوى ظهور اللون البنى فى الجذور ولكن ليس اللون هو كل شيء وخيط العدوى يظهر عند الانحناء. وعند حدوث العدوى يكون لون طبقة البشرة فى الجذور يميل إلى اللون الأزرق وبذلك تكون قد انتهت لعملية الانقسام وبعض الخلايا يكون قد حدث لها عملية اختراق بواسطة بكتريا العدوى فى حين أن البعض الآخر لم يحدث فيها ذلك الاختراق. والأجزاء التي تم فيها حدوث العدوى بواسطة البكتريا. وتدخل حزمة صغيرة ثم تكون نسيج طبقه البلازما العضوية وأيضاً بمساعدة البكتريا التي لها القدرة على الانقسام وتنمو فى طبقة البشرة فى جذور النبات البقولى قبل حدوث العدوى ويكون لون طبقة الإبيدريس فى الجذور مزرقه وأيضاً البشرة تكون قد انتهت لحدوث عملية انقسام العقد البكتيرية وبعض الخلايا يكون قد حدث لها عملية اختراق بواسطة بكتريا العدوى والأخرى لم يحدث لها اختراق. وفى الاجزاء التي لم يتم بها العدوى بواسطة البكتريا وتدخل بواسطة

تحلل الطبقة بواسطة حزمه صغيره تدخل عن طريق النسيج البلازمى . وأيضا بمساعدة البكتريا وتستطيع ان تنقسم وتنمو فى طبقة الأبيدرمس بالجذر

تأثيرات الفسيولوجية والبيروكيميائية بالعقدة البكتيرية

- يتم تثبيت النيتروجين بواسطة العقد الجذرية أولا ويتكون النيتروجين كما يلى بالعقدة:



- هاتان المعادلتان تبين حدوث التمثيل للنيتروجين وفى النهاية تكوين الهيدروجين مع الناتج من النيتروجين الذى قد انخفض بحوالى 15 جزىء ATP والتي قد يحتاج لها مع N_2 وأيضا مع H_2 . والهيدروجين المتحرر يستطيع ان يتفاوت فى كمية الطاقة الموجودة فى ATP ومن المحتمل ان تكون الطاقة المستخدمة والتي قد تتناسب تناسباً طردياً مع كمية النيتروجين المثبتة. بعض البكتريا من جنس *Rhizobium* لها القدرة على استخدام انزيم Hydrogenase الذى يؤكسد الهيدروجين فى الماء مما يساعد فى انتاج ATP ويصعبه زيادة فى تركيز الأوكسيجين الأمونيا المثبتة بواسطة انزيم الهيدروجينيز بفعل البكتريا والتي تقوم بتثبيت النيتروجين يكون الناتج النهائى لها جلوتامين ويحتاج الى ATP مرة اخرى ، وتفاعل آخر يحدث وينتج اسبورجين الألينون وحمض الأوليك ومركبات الأمينو التي توجد فى النبات . وأعلى قيم النيتروجين المثبت تم الحصول عليها فى وجود عنصر الكربون حيث يكون متزن مع PH ويحتوى إنزيم النيتروجينيز على كل من الحديد والموليبدينم ويحتاج الى كمية من النترات قليلة لتساعده فى التكوين
- كعامل مساعد منشط . ونجد أن الإنزيم يتأثر نشاطه بالهواء الجوى بالترربة. **تطور ونشوء العقد البكتيرية**

- يتوقف ذلك على العديد من العوامل:

• 1- شكل العقدة.

• 2 عدد العقد على الجذر

- 3- نظام تكوينها على الجذر
- 4- ميعاد ظهور أول عقدة بكتيرية على الجذر
- 5- النوات الشاذة في العقد البكتيرية.
- 1- شكل العقدة البكتيرية: غالبا ما تأخذ العقدة البكتيرية الشكل الإسطوانى المستطيل elongate and cylendrical وهذا النوع غالبا ما يتواجد الا فى المناطق القمية للجذر اما الشكل الكروى spherical فهو يتواجد فى مناطق مختلفة كما فى فول الصويا والفول البلدى اما الشكل الطوقى caller فهو ممتد على طول الجذر كما فى الترمس (Dart ,1975).



- 2- عدد العقد البكتيرية على الجذر: يتوقف عدد العقد البكتيرية على الجذر على عدد الشعيرات الجذرية والتي بدورها تختلف من نوع الى آخر فى المحصول البقولى على سبيل المثال تتواجد شعيرات كثيفة لجنس Trifolium حيث يصل عدد العقد البكتيرية على الجذر خلال 12 يوما الأولى من النمو الى 80 عقدة بكتيرية للجذر حيث أوضح (Dreyfus and Raham 1973) ليس فقط عدد الشعيرات الجذرية هى العامل المحدد لعدد العقد البكتيرية بل مدى توافر السلالة الملائمة بالتربة كما فى

الفاصوليا.ويمكن تلخيص هذا القول بأنها تتوقف على نوع العائل والسلالة الملائمة.

- **نظام تكوين العقد البكتيرية:** يتأثر نظام تكوين العقد البكتيرية على الجذر بعوامل عديدة منها: أ- درجة الحرارة ومدى ملاءمتها لنشاط البكتريا وتأثيرها الغير مباشر على العائل ونواتجات البناء الضوئى والجو الخاص من هذه النواتجات ب- **الكثافة النباتية:** أوضح (Graham and Rosas,1978) أن الكثافة النباتية تؤثر فى إنتشار الضوء وبالتالي على كمية نواتجات البناء الضوئى المثبتة وبالتالي على الجزء الخاص بالجذر لذلك تؤثر الكثافة النباتية المرتفعة فى نصيب الجذر من بكتريا التربة. **ج- نوع العائل:** فمثلا الترمس L-consentinii تتواجد العقد البكتيرية على الجذر الوندى فقط بينما فى الترمس L-mutabilis تتواجد فى منطقة التاج بالجذر وأفرعه الجانبية (Lany and Pata,1960) وفى جنس Arachis الخاص بالفول السودانى فإن العقد البكتيرية تتركز فى مناطق نشؤ الأفرع الجانبية والجذر الأصلى (Dregfus and Dommergues,).

- **4- ميعاد ظهور أول عقدة بكتيرية:** يختلف ميعاد ظهور اول عقدة بكتيرية على جذر المحصول العائل من نوع لآخر داخل الجنس الواحد (Graham and Hubbell,1975) كما انها تختلف من صنف لآخر فى البرسيم الأبيض.

- **5- الخلل أو الشذوذ فى نمو العقدة البكتيرية:** لقد اشارت العديد من الأبحاث فى هذا المجال الى ان السبب فى حدوث خلل خلال النمو او فى تثبيت النيتروجين الجوى بالعقد البكتيرية الى العوامل الوراثية بالصنف والنوع المنزرع حيث اشارت دراسات (Nest and Colotwell,1972) على فول الصويا أن اسباب الظروف الغير فعالة لتلك العقد الى اسباب جينية عرفت (rg2, rg3, rg4). حيث وجد (Caldwel,1966) ان الجين rg3 متواجد بصنف فول الصويا Hardse وهو المسئول عن الفشل أو الخلل فى نمو العقدة البكتيرية والتي تختلف على حسب السلالة البكتيرية والذى يرجع لهما عدم تكوين العقدة البكتيرية.

- **د-العوامل الارضية التى تؤثر على تكوين العقد البكتيرية وتثبيت النيتروجين:**

- **-خصوبه التربة:** وتؤثر خصوبه التربه على العائل النباتى حيث تساعد التربه الخصبه على جودة نمو العائل النباتى وعليه تزداد كميته النيتروجين التى تمد البكتريا بالطاقة نظراً لتوافر الكربوهيدرات وتؤثر من جانب آخر على البكتريا وتكوين العقد فمثلا العناصر الموليبدنيوم - البورون -الكوبلت - النحاس من اهم العناصر الدقيقة والتى تؤثر على نمو ونشاط العقد وعملية التثبيت فى البكتريا حيث يدخل الموليبدنيوم فى تركيب إنزيم النيتروجيناز المسئول عن تثبيت النيتروجين ونقص البورون يؤدي لعدم تكوين الجهاز الوعائى بالعقد البكتريه وبالتالي إنتقال الكربوهيدرات من العائل للعقد مما يؤثر على كميته النيتروجين المثبت. وكلما زادت نسبه النيتروجين بالتربه يقلل من تكوين العقد البكتيرييه حيث اذا توافر بمقدار 55 جزء من المليون يمنع من تكوين هذه العقد.

- **2-حموضة التربة pH:** تختلف سلالات الريزوبيم البكتيرييه فى مدى تحملها لحموضه التربه فمثلا تتحمل ريزوبيم الفول السودانى حموضه التربه حتى (PH=4.8) ووجد (Graham et al,1982) وريزوبيم فول الصويا تتحمل الانخفاض فى الحموضه حتى $pH = 3.2$ بينما ريزوبيم البرسيم الحجازى والفاصوليا حساسه لدرجه حموضه التربه $pH = 5.0$.

- **3-درجة حرارة التربة:** تتباين سلالات الريزوبيم فى مدى تحملها لدرجه حراره التربه ويختلف ذلك تبعا لنوع التربه . يتحمل ريزوبيم البرسيم الحجازى الارتفاع الشديد لدرجه حراره التربه فى العراق وغرب استراليا وكلما زادت نسبه معادن الطين بالتربه مثل الهيماتيت فانها تقى البكتريا من الحراره المرتفعه .

العوامل المؤثره فى ملوحة الرازوبيم:تعد التربه البيئيه الطبيعيه لنمو هذه البكتيريا والقيام بنشاطها وعلى هذا فان هذه البكتيريا تتأثر بما تحتويه التربه من العناصر والمواد الكيمياءيه والتى تكون بتركيزمختلفه حسب طبيعة التربه وتؤثر بصورة مباشره على نشاط الحيوى الاحياء المجهرية التربه وان زيادة نسبة الملوحة يعود سببها الى قلة الامطار وعملية التبخر المستمر للمياه نتيجة الارتفاع درجات الحرارة abdel_monmen,1999

ومن خلال الدراسات البحثية قمنا بدراسة اهم عوامل التى تؤثر فى نمو الرازوبيا

أولاً دراسة مدى تحمل بكتيريا rhizobium لعدة مستويات من الملوحة:-

تعد العلاقة بين بكتريا العقد الجذرية والعائل البقولي من العلاقات المعقدة ويمكن تحديدها بعوامل عدة يؤثر منها على فعالية العزلة بتثبيت النيتروجين وتؤثر الاملاح في العقد الجذرية لانها تثبط فعالية الانزيمات المكونة للمواد المحفزة لاصابة الجذور بالبكتريا، كما يؤثر الاجهاد الملحي في نمو وكفاءة بكتريا الرايزوبيا. (siugleton1987) كما ان التأثيرات السلبية للاملاح في الاحياء المجهرية قد تعزى (الى تأثير ايونات الاملاح والضغط الازموزي مما يؤثر على فسلفة الخلية والمسارات الايضية فيه1987,p.a prior).

واشارة لدراسة قام به (raa.2002) عن تأثير الملوحة على تكون العقد الجذرية وتثبيت النتروجين تبين ان الملوحة لاتؤثر على مستعمرات الرايزوبيا داخل الجذور التي نمت مبكرا في ظروف غير ملحية ثم نقلت الى ظروف ملحية ولكنها قللت من كفاءة العقد الموجودة ومنعت تكون عقد جديدة على جذور النبات. جاءت الحاجة للبحث عن اساليب جديدة لادخال بكتريا محيطه الجذري وبكثافة كافية لاحداث الاصابة لذا جاءت دراستنا بهدف عزل وتشخيص البكتريا استعملت بواسطة حقن البكتيريا في اوساط سائله مختلفة في درجات الملوحة و اللقاحات الحيوية. وتنمية العزلات وتطبيعها على اوساط ملحية واختبار العزلة الكفوة فيتحمل الملوحة العالية وفحص قدرتها على اقامة علاقة تعايشية مع النبات.

رمز معاملة	حجم المستخلص المضاف لوسط	حجم وسط YEM	نتائج
%1	2 مل	0.4	
%2	2 مل	1.4	
%3	2 مل	2.4	
%4	2 مل	3.4	

ثانيا دراسة مدى نمو البكتيريا RHIZOBIUM لعدة مستويات السكرية:

ثالثا دراسة مدى تاتير نمو البكتيريا على درجة الحموضة والقلوية PH

المواد وطرق العمل

المواد المستخدمة :-

التراكيز المستخدمه لتحضير وسط yaem مستخلص الخميره والمانيتول

المواد	التراكيز
--------	----------

المانيتول	10غ
مستخلص الخميره	1غ
كلوريد الصوديوم	0.1غ
كبريتيت الماغنيسيوم المائيه	0.2غ
كبريتيت الماغنيسيوم الامائيه	0.46غ
الآجار	17غ
ماء مقطر	1000ل

اهداف

ان الهدف من إجراء هذه الدراسة هو تحديد قابلية بكتريا

المعزولة من نبات البرسيم الحجازى لتحمل عدة تراكيز من الملوحة والقلوية والسكرية و الذى يعكس مدى تأثير نشاط هذه البكتريا بملوحة التربة النامية فيها بالإضافة إلى إيجاد أفضل تركيز للنمو الأمثل مقارنة بمعاملة السيطرة.

الخلاصة

من خلال مشروعنا العلمى هذا قدمنا مفهوم مبسطاً قمنا فى هذا البحث دراسة تأثير عدة مستويات مختلفة من تراكيز الملح كلوريد الصوديوم بنسبة 1%-3% وكذلك تأثير درجات الحرارة مختلفة فى النمو البكتيري من خلال أضافتها الى الوسط آكار سكر الما نيتول ومستخلص الخميره وملاحظة ومدى نمو وتحمل البكتيريا لزيادة تركيز الملح بمقارنة بمعاملة السيطرة ,ظهرت البكتيريا معدلات النمو أكبر من معاملة السيطرة عند تركيز 1% بينما أنخفض النمو مع زيادة تركيز تدريجياً عند تركيز 3%

المصادر

- AL-Rawi, and Chkravarty . Medical plants of Iraq . 2nd ed. Al-Yiltha press , Baghdad . 74: 92-94 .(1998) .
الأعشاب و النباتات " زيد، أبو نصر ، الشحات 2-
و للنشر العربية الدار ، " الطبية
. (2000) (التوزيع) .
- 3- Lall, N. and Meyer, J. J. In vitro inhibition of drug-resistant and drug-sensitive strains of Mycobacterium tuberculosis African plants, J. Ethnopharmacol. 66(3): 349 – 354 (1999) .
- 4-Pandian, R.S; Anuradha,. C.V and Viswanathan, P Gastroprotective effect of fenugreek seeds (Trigonella foenum graecum) on experimental gastric ulcer in rats. J Ethnopharmacol Aug;81(3):393-397 (2002) .
- 5-Barnes,J; Anderson, L.A and Phillipson, J.D. Herbal Medicines: A Guide for Healthcare Professionals , 2nd ed. Pharmaceutical Press: London (2002)
- 6-Langmead, L; Dawson, C; Hawkins, C, Banna, N; Loo, S and Rampton, D.S Antioxidant effects of herbal therapies used by patients with inflammatory bowel disease: an in vitro study. Aliment Pharmacol Ther Feb;16(2):197-205 (2002) .

7- Blumenthal, M; Busse, W.R and Goldberg
A The Complete Commission E
Monographs: Therapeutic Guide to
Herbal
Medicines. Boston, MA: Integrative
Medicine Communications, p 130.
(2000) .

8- Han, Y; Nishibe, S; Noguchi, Y and Jin, Z
.Flavonol glycosides from the stems
of *Trigonella foenum-graecum*.
Phytochemistry . Oct;58(4):577-580
(2001).

9- زراعتها الطبية النباتات"، قطب طه فوزي

F.A.O. (1984). Fertilizer and plant nutrition
guide. Fertilizer and plant nutrition
service and water development division. Bulletin. No. 9, Rome, Italy.

- Sadowsky , Michael J. and Siriluck Jitacksorn (2008). Nodulation Gene
Regulation

and Quorum Sensing Control Density-Dependent Suppression and
Restriction of Nodulation in the *Bradyrhizobium japonicum* - Soybean
Symbiosis, 3749-3756, Vol. 74, No. 12.

- Singleton, P. W. & Bohlool , B.B. (1984). effect of salinity on nodule
formation by
soy bean . plant . physio 74 , 72-76.

-Prior, B.A. ; C.P. Kenyon ; M.V. Veen and J.P. Mildenhall (1987).

Water relations of

solute accumulation in *Pseudomonas fluorescens*. J. of Appl. Bacter. 62 :
119-128.

ISSN: 1992-7479 المجلد الزراعي، للعلوم الانبار مجلة 8 العدد (4) خاص عدد

2010 ، بالمؤتمر

163

-Rao, D.L.N ; K.E. Giller ; A.R. Yeo ; T.J. Flowers (2002). The effects of
salinity

and sodicity upon nodulation nitrogen fixation in chickpea (*Cicer
arietinum*).

-Beck, D. P. ; Materon, L. A. and Afandi ,F .(1993) .Practical Rhizobium
legumetechnology manual. Technical manual No. 19.ICARDA.

-Balatti, A.P. (1982). Culturing Rhizobium in large scale fermentors. P.
127-132. In

P.H. Graham and S.C.Karris (eds) BNF Technology for Tropical
Agriculture. CIAT, Cali, Colombia.

- Mohammed, R.M. Khavan, MA. Camphell, W.F. Rumbagh, M.D. (1991). Identification of salt and drought tolerant *Rhizobium meliloti* L. strains. *Plant and soil*. 134:271-276.
- Sambrook, J. ;Fritgah , E. and Mahiatis , T. (1989). molecular cloning , alaboratoryman nal, Cold spring Harbour laboratory . Newy ork .
- Pospiech A. and Neuman S. (1995). Salting out procedure for isolation of genomic DNA. *Bioresource Technol*. 90:134-141.
- Domenico, P.; Schwartz, S., and Cunha , B. C. (1989). Reduction of capsular polysaccharide predu ction in *Klebsiell aphenmoniae* by Sodium salicylate. *infect . Immun .* 57:3778-3782.
- Bremner, J.M. (1965). Total nitrogen In : "Methodes of soil analysis" American society of Agronomy. Madison Wisconsin , USA.
- Mikanova, O. ; Novakova, J.(2002). Evluation th p_solu bilizing activity of soil microoryanisms and its.sensivity to soluble phosphatel Rostlinna vyroba; 48 , (9): 397-400 .
- Murphy, J.P.; Riley J.P. (1962). Amodified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta*,27 : 31-36.
- Black, C.A. (1965). Methods of soil analysis. Part2. chemical and microbiological properties. Am. Soc. Agron, Inc. Madison, Wiseonson, USA.
- Bouhmuch, I.; F.Brhada ; A.Maltouf and J.Aurag (2001). Selection of osmotolerant and effective strains of *Rhizobiaceae* for inoculation of common bean (*phasedus vulgaris*) in Moroccan saline Soils. *Agronomie .* 21:591-599.
- Arora, N. K. ; R. Naraia and D. K. Maheshwari (2008). Sawdust as a superior carrier for production of multipurpose bioinoculant using plant growth promoting rhizobial and pseudomonad strains and their impact on productivity of *Trifolium repense* Gurukula Kangri University Hardwar 249- 404, India.
- Miller, J.H. (1972). Experiments in Molecular Genetics . Cold Spring Harbor : New York .
- Campbell, R. (1983). Microbiol Ecology . Blak well Scientific Publications : Oxford and London .

- Talibart, R.;M. Jabbar ; G. Gouesbet; S. Himd-Kabbab ; H. Wroblewski; C. Blanco
& T. Bernaard (1994). Osmoadptation in rhizobia : Ectoine-induced salt tolerance. J. of Bacteriology . 176(17) : 5210-5217 .
- Nogales, J. R. Campos, H. BenAbdelkhalek, , J. Olivares, C. Lluch, and J. Sanjuan
(2002). Rhizobium tropici Genes Involved in Free-Living Salt Tolerance are Required for the Establishment of Efficient Nitrogen-Fixing **المصادر**
1. Vincent, J. "The genus *Rhizobium*". In Starr, M.P.; Stolp, H.; Truper, H.G.; Balows, A and Schilegel, H.G.(eds). "The Prokaryotes". Vol.1, Springer-Verlang, U.SA, pp.818-837. (1981).
 2. Hafez, F.y.; Aslam, Z and malik, K.A.; nuclear Institute for agriculture and biology, Faisalabad, pakitan. (1987).
 3. Abdel Moumen, H., Filali – Maltou, F.; Neyra, M.; Belabed, A. and Elidrissi, M., journal of Applied Microbiology, 86, 889-898 (1999).
 4. Rafig, S., Journal of Bacteriology, 176(17):5211-5217. (2007).
 5. Sinoloton, P.W.; Elswaify, S.A. and Bohlod, B. Applied and Environmental Microbiology p(884-890). (1982).
 6. 7. Prescott, L.M.; Harley, J.P. and Klein, D.A. "Microbiology". 3rd ed., Wm.C. Brown Communication, Inc., Iowa, USA, (1996).
 8. Black, C.A.; Evans, D.D.; Ensmingev, L.E.; White, J.L.; Clark, J.E. "Methods in soil analysis". part 2: Chemical and Microbiology properties American Society of Agronomy, Inc. U.S.A. (1979).
 9. Benson, H.J., "Microbiological Application", 8th ed. McGraw. U.S.A. (2002).
 10. Faituri, M.Y.; El-Mahi, Y.E. and El-Hassan, G.A.. Can. J.Microbiol. 47(9): 807-812(2001).
 11. Tejera, N., campos, R.; Sanjuan, J. and Luch, C., J. of Plant nutrition vol.28 : 123-127p (2007).
 12. Kucuk, C.; Kivane, M. and Kinaci, E. Turk. J. Biol. 30: 127-132. (2006).
 13. Foth, H. D. "Fundamental of Soil Science". 8th ed. John Wiley and Sons Inc.U.S.A. (1990)
 14. Soussi, M.; Ocana, A. and luch, C. J. of Experimental Botany vol. 49, No 325 pp1329-1337. (1998).
 15. . التعليم وزارة، "المهجريّة التربة أحياء علم". الستار عبد مضر .ود محمد غياث.د قاسم، . 15 (1989) العراق الموصل، جامعة العلمي، والبحث العاليي .)

16. Lal, B. and Khanna, S. Word Journal of Microbiology and

والعلم