مجلة جامعة شندي العدد الثالث (يونيو 2006م) ISSN:1858-571X

دراسة بعض خصائص رايزوبيا فول الصويا سريعة النمو

عـوض جلال عثمان[1]

وسيمة سر الختم محمد[1]

المقدمة:-

تتكافل البقوليات بشكل اساسي مع بكتريا تنتمي الي جنسين هما Rhizobium و Bradyrhizobium ، و قد اضيف جنس ثالث هو Azorhiz obium. تكون البقوليات مع هذه البكتريا عقداً جذرية تتم فيها عملية التثبيت الحيوي للنتروجين يضم جنس ال bradyrhizobium نوع واحد هو B.japoniucum الذي يحتوي على سلالات لها القدرة على تكوين عقد جذر ي علي نبات فول الصويا(jordan, 1984). مؤخرا تم تصنيف bradyrhizobium الي ثلاثة انواع هي B.liaonginense و B.elk ani بالإضافة الي B.japoniucum (Tighe et al.,2000)

في عام 1982 تم عزل مجموعة جديدة من فول الصويا سريعة النمو. هذه المجموعة تربط بين Rhizobium والbradyrhizobium وذلك لان لها الصفة الفيزيولوجية لبكتريا Rhizobium سريعة النمو والصفة التكافلية لبكتريا bradyrhizobium بطيئة النمو. واعتمادا على التصنيف الرقمي Numerical Taxonomy فقد تم تسمية هذه المجموعة ب(Chen, et al., inorhiz obium) (1988 وتضم نوعين هما S.fedii, S.kinjiangensis.

التطور في علم الاحياء الجزيئية واستخدام العديد من الاختبارات يؤدي الي تغير مستمر في تصنيف بكتريا ال Rhizobium (Tighe et al.,2000)

[1] معهد البيئة و الموارد الطبيعية –المركز القومي للبحوث

مجلة جامعة شندي العدد الثالث (يونيو 2006م) ISSN:1858-571X

هنالك عدة عوامل مؤثرة عملية التثبيت الحيوي للنتروجين والتي تستخدم في تصنيف بكتريا الرايزوبيوم وتقسيمها الي مجموعات مختلفة وهي عوامل فيزيائية مثل درجة الحرارة، الرطوبة والأس الهيدروجيني وعوامل كميائية مثل الملوحة ،درجة الحموضة بالاضافة العناصر الضرورية للنمو والكيمياويات المختلفة مثل المبيدات والاسمدة

المواد وطرق البحث:-

استخدمت سبع سلالات من فول الصويا سريعة النمو في هذه الدراسة وهي TAL 337 RIZ,USDA 110,USDA- 6,USDA 138 وهي سلالات مستوردة بالاضافة ال B-3,A-6 وهي سلالات محلية. تمت زراعة هذه السلالات في وسط مستخلص الخميرة والمانيتول لإجراء الاختبارات التالية:-

1/الخصائص المورفولوجية:

استخدمت سبغة جرام لدراسة هذه الصفات.

2/تأثير الملوحة:

اضيف الي وسط مستخلص الخميرة والمانتول ثلاث تركيزات من كلوريد الصوديوم وهي 0.2، 0.3، 0.4 جرام/لتر.

3/تاثير درجة الحرارة:

تم توزيع هذه السلالات وحضنت في درجات حرارة مختلفة وهي 35 ،40، 45 درجة مئوية.

مجلة جامعة شندي العدد الثالث (يونيو 2006م) ISSN:1858-571X

4/الاختبارا ت البيو كيميائية:

اجريت هذة الاختبارات باستخدام (API Kits)Analytical profile Index Kits ويشتمل على الاختبارات التالية:

1. ONPG:ortho- nitri- pheny1-B-galactosidase.
2. ADH: arginine dehydrolase.
3. LDC: lysine decarboxylase.
4. ODC: ornithine decarboxylase.
5. CIT: citrate.
6. H2s: H2s production .
7. URE: urease.
8. TDA: try ptophane deaminase.
9. VP: vogerproskauer.
10. OX: oxidase.

5/ اختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية:

وقد تم استخدام أقراص محتوية على المضادات الحيوية حيث تقراء حساسية البكتريا بقياس قطر الدائرة الخالية من النمو بالملم (inhibition zone) وقد استخدمت المضاداة الحيوية التالية:-

1\ Contrimoxazol(COT) 2\ Ampicilin(AMP).

3\ Gentamycin(GEN) 4\ Niteofurantion(NIT).

5\ Nalidixic acid(NAL) 6\ Colistin(COL).

7\ tetracycline(TET) 8\ Streptomycin(STR).

النتائج والمناقشة:

الخصائص المورفولوجية:

يوضح (جدول 1) شكل سلالات البكتريا المختلفة وتفاعلها مع صبغة جرام.

مجلة جامعة شندي العدد الثالث (يونيو 2006م) ISSN:1858-571X

تأثير الملوحة:

في اختبار تأثير الملوحة على السلالات المختلفة، وجد ان جميع السلالات تنمو في التراكيز المختلفة المستخدمة في الاختبارات. الا ان بعض السلالات تنمو بصورة جيدة في جميع التراكيز مثل سلالات A-6, B-3, 138, USDA-6, USDA 110, RIZ, , بينما كان نمو السلالات USDA 110, USDA-6, TAL 337, ضعيفا عند تركيز 0.04جرام/لتر من كلوريد الصوديوم(جدول 2). ذكر (Elshikh,1998) ان الرايزوبيا اكثر مقاومة للملوحة مقارنة بالنباتات البقولية وأن عزلات الرايزوبيا سريعة النمو أكثر مقاومة من العزلات بطيئة النمو. وفي دراسة مشابهة وجد(Padmanabhan and Broughton) 1990 ان الرايزوبيومالتي عزلت من مناطق مدارية تنمو حتى تركيز 0.03 جم/لتر وأن سلالات البرادى رايزوبيوم تنمو حتى تركيز 0.04 جم/لتر من كلوريد الصوديوم.

تأثير درجات الحرارة:

يوضح(جدول 3) تأثير درجات الحرارة. فقد وجد أن جميع السلالات نمت في درجات الحرارة مختلفة. وتعتبر هذه السلالات مقاومة لدرجات الحرارة العالية حيث أنها نمت بصورة جيدة في درجة حرارة 45 درجة مئوية. وقد أجرى(Chen, et al., 1988) اختبار تأثير الحرارة لبعض السلالات في بكتريا فول الصويا سريعة النمو فوجد أنها تنمو في درجات حرارة عالية تصل 35درجة مئوية. كما ثبت في تجارب اخرى اجريت في النيجر أن الرايزوبيا المعزولة في مناطق حارة وجافة يمكن زراعتها في بيئات عند درجات حرارة 40 درجة مئوية.

مجلة جامعة شندي العدد الثالث (يونيو 2006م) ISSN:1858-571X

الاختبارات البيو كيميائية:

عند اجراء الاختبارات البيو كيميائية وجد ان هذه السلالات تبدي تباينا واضحا في استخدامها لهذه المواد كما في(جدول 4) .فقد وجد أن جميع السلالات المستخدمة في الدراسة كانت سالبة لاختبارات H2s productionوان جميع السلالات كانت سالبة ايضا لاختبار ONPGماعدا RIZكما وجد ان جميع السلالات موجبة لاختبارات ODCوTDAوVP. وهذا يؤكد ماذكرة (Chen, et al., 1988)عن تباين USDA 110, USDA-6, بكتريا فول الصويا سريعة النمو في استخدامها للمواد الكربوهيدرتية.

اختبارات حساسية الرايزوبيا للمضادات الحيوية:

أظهرت السلالات المستخدمة تباينا في مدى حساسيتها للمضادات المختلفة. حيث وجد أن لبعض السلالات مقاومة لعدد من المضادات الحيوية المستخدمة في حين أنها حساسة لمضاداة أخرى. فقد وجد أن السلالة USDA 138غير حساسة للمضادات الحيوية NITوNAL بينما اظهرت هذه السلالة حساسية اكبر للمضاد الحيوي GENعموما لوحظ أن السلالات المحلية اكثر مفاومة للمضادات الحيوية اكثر من السلالات المستوردة . كما لوحظ ان جميع السلالات اظهرت مقاومة للمضادات الحيوية COL و STR وNIT و(NA L(جدول 5).وقد أجرى (Chen, et al., 1988) إختبارات الحساسية لبعض سلالات الرايزوبيا سريعة النمو فوجد ان جميع السلالات كانت حساسة للمضادات الحيوية TETوSTR كما وجد أن جميع السلالات كانت مقاومة للمضاد الحيوي GEN.

مجلة جامعة شندي العدد الثالث (يونيو 2006م) ISSN:1858-571X

(جدول 1): بعض الخصائص المورفو لوجية لبكتريا فول الصويا سريعة النمو:

السلالة	صبغة الجرام	الشكل
TAL 337	سالبة لصبغة جرام	عصوي كروي
USDA 110	"	عصوي كروي
USDA 6	"	عصوي
USDA 138	"	عصوي مرتب في سلاسل
A-6	"	كروي
B-3	"	عصوي
RIZ	"	عصوي

(جدول 2): تأثير الملوحة على نمو بكتريا فول الصويا سريعة النمو:

السلالة	تركيز NaCl 0.2 جم/لتر	تركيز NaCl 0.2 جم/لتر	تركيز NaCl 0.4جم/لتر
TAL 337	++	++	+
USDA 110	++	++	+
B-3	++	++	++
A-6	++	++	++
USDA 138	++	++	++
USDA 6	++	++	+
RIZ	++	++	++

++نمو جيد جدا + نمو جيد

مجلة جامعة شندي العدد الثالث (يونيو 2006م) ISSN:1858-571X

(جدول 3): درجات الحرارة على نمو بكتريا فول الصويا سريعة النمو:

السلا لة	درجة الحرارة 35 درجة مئوية	درجة الحرارة 40 درجة مئوية	درجة الحرارة 45 درجة مئوية
TAL 337	-	-	-
USDA 110	-	-	-
B-3	+	+	+
A-6	+	+	+
USDA 138	+	+	+
USDA 6	+	+	+
RIZ	++	++	++

(++) نمو جيد جدا (+) نمو جيد (-) نمو ضعيف

(جدول 4): بعض الخصائص البيو كيميائية لبكتريا فول الصويا سريعة النمو:

السلالة	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2s	URE	TDA	VP	OX
TAL 337	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
USDA 110	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
USDA 138	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
USDA 6	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
B-3	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
A-6	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-
RIZ	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-

(-) نتيجة سالبة (+) نتيجة موجبة

مجلة جامعة شندي العدد الثالث (يونيو 2006م) ISSN:1858-571X

(جدول 5): تأثير المضادات الحيوية على نمو بكتريا فول الصويا سريعة النمو:

السلالة	AMP	COT	GEN	NA L	NIT	COL	STR	TET
B-3	*15	17	13	12	7.0	5.0	12	19
USDA 110	15	19	17	7.0	7.0	7.0	16	16
USDA 6	17	0.0	19	7.0	12	12	3.0	14
A-6	24	9.0	16	5.0	11	0.2	8.0	16
TAL 337	29	35	18	13	13	6.0	9.0	13
USDA 138	12	13	17	1.0	3.0	12	12	16

*تم قياس المناطق الخالية من النمو بالملم ، يدل مقياس 6 ملم على عدم وجود حلقة أي غير حساسة.

ISSN:1858-571X (يونيو 2006م) العدد الثالث

References

1. Chen,W.X.; Yan, G.H.and Li, .J.L .(1988). Numerical taxonomic study of fast – growing soybean Rhizobia and a proposal that Raizobium fedii be assigned to sinorhizobium gen. Nov. International Journal of Systematic Bacteriology 38 (4): 392-397.
2. Elsheikh, E.A.E.(1998). Response of legume Rhizobium Symbiosis to sylinity in sudan: Areview. U.K.j. Agric. Sci 6 (2):1414-156.
3. Jordan,D.c.(1984). Family rhizobiaceae Conn. 1938. Ln: Bergeys Manual of systematic Bacteriology Vol-1(ed. Kvieg, N.R.and Holt, J.G) pp.235-244. Williams and Wilkins, Baltimore.
4. Padmanahan, R.D. and Broughton, W.J.(1990). Rhizobia in tropical legume:Cultural Characteristics of Bradyehizobium sp. Soil Biochemistry 22(1): 23-28.
5. Tighe, S.W..; de Lajudie. P.; Pipeteo, K.; Lindstron. K.; Nick, G. and Jarvis, B.D.W.(2000). Analysis of cellular fatty acids and phenotypic of Agrobacterium, Bardyrhizobium, mesorhizobium Rhizobium, and sinorhiizobium specie using Sherlocke Microbial identification system. Inernational Journal of Systematic Evolutionary Microbiology 50:787-801.