

بسم الله الرحمن الرحيم

الملخص العربي

"تحسين بعض صفات سلالات الريزوبيا المتخصصة للفول السوداني"

يعتبر نقص النيتروجين في التربة واحدا من اهم المعوقات التي تواجه الزراعة في معظم الاراضي المصرية والتي تصنف ضمن المناطق شبه الجافة . وبالرغم من ان غاز النيتروجين يشغل 80% من مكونات الهواء الجوى الا انه يوجد في صورة غير ملائمة للاستخدام بواسطة النبات . ولذلك يتم اضافة كميات كبيرة من الاسمدة الاذوتية الكيماوية خلال المواسم الزراعية لامداد المحاصيل المختلفة باحتياجاتها لعنصر النيتروجين . وقد ادى الاستخدام المفرط لتلك الاسمدة الى ارتفاع اسعار الغذاء العالمي بشكل كبير بالإضافة الى المشاكل الصحية والبيئية الناجمة عن صناعة واستخدام تلك الاسمدة .

يعتبر التلقيح البكتيري للمحاصيل البقولية واحدا من اهم الطرق البديلة لاستخدام الاسمدة الاذوتية في مصر والعالم . يعتمد التلقيح البكتيري على بكتيريا الريزوبايا المثبتة للنيتروجين الجوى تكافليا وذلك لقدرتها على اقامة علاقة تكافلية مع البقوليات من خلال تكوين عقد جذرية على النباتات البقولية والتي تقوم بثبيت النيتروجين الجوى بيولوجيا وتحويلة الى الامونيا (NH3) والتي تستخدم بسهولة في تغذية النباتات .

تعتبر الامراض الفطرية التي تصيب الفول السوداني مشكله خطيره تهدد زراعة وانتاجيه محصول الفول السوداني في مصر و من اهم هذه الامراض الاصابه بفطر الـ *Aspergillus flavus* المسبب لتراتكم الـ Aflatoxin وهي ماده مسرطنه تتسبب في امراض الكبد . تستخدم المبيدات الفطرية في الحد من هذه الامراض ولكن هذه المبيدات الكيميائيه لها تاثير ضار على البيئه وصحه الانسان ولذلك تعتبر المقاومه الحيويه من اهم الحلول البديله لاستخدام المبيدات الكيميائيه .

من اهم الكائنات الحية الدقيقة التي تستخدم في مجال المقاومه الحيويه مجموعة البكتيريا التي تعيش في محيط المجموع الجذري والتي تسمى بـ *Rhizobacteria* . وترجع اهمية تلك البكتيريا الى قدرتها على تحفيز نمو النبات بالإضافة الى دورها في مقاومه او وقف نمو الفطريات الممرضه للنبات . وقد اجريت هذه الدراسه بهدف تحسين لقاحات ريزوبايا الفول السوداني من خلال عمل تزاوج" Conjugation" بينها وبين عزلات من بكتيريا الجذور" *Rhizobacteria*" ذات كفاءه في وقف نمو الفطريات الممرضه للفول السوداني لانتاج اتحادات وراثيه جديده لها القدرة علي مقاومه الامراض الفطرية بالإضافة الي دورها الرئيسي في تثبيت النيتروجين الجوى تكافليا .

ويمكن تلخيص النتائج التي تم الحصول عليها كما يلي:

1. تم اختبار مدى كفاءة عزلات وسلالات من ريزوببيا الفول السوداني في تثبيت النيتروجين الجوي تكافليا مع نباتات الفول السوداني تحت ظروف الصوب الزراعيه مقارنه بالكتنرول الغير ملچ. وقد اشتلت تجربه الاصص على سلالات مرجعية من ريزوببيا الفول السوداني (USDA 3339, USDA 3456 (ARC 601,ARC 617, Isolate 1, Isolate 2) مع 6 اصناف محلية (Giza 5, Giza 6, Ismailia 1, Gregory, NC, Early bunch) واجنبية من الفول السوداني (Giza 5, Giza 6, Ismailia 1, Gregory, NC, Early bunch).
2. اظهرت النتائج ان جميع معاملات التلقيح بالريزوببيا لها تأثيرا ايجابيا على النباتات المنزرعه من الاصناف المحليه (Giza 5, Giza 6, Ismailia 1) مقارنه بالكتنرول الغير ملچ . حيث تراوح الوزن الجاف للعقد في جميع المعاملات البكتيريه بين 75.0 و 252.5 مللي جرام / نبات بينما لم يتكون عقد في حالة الكتنرول . وترادت الزياده في الوزن الجاف والمحتوى النيتروجيني للمجموع الخضري في جميع المعاملات البكتيريه بين 4.8- 60.5 % و 5.9- 99.8 % على الترتيب بالمقارنه بالكتنرول الغير ملچ.
3. اظهرت جميع معاملات التلقيح بالريزوببيا تأثيرا ايجابيا على النباتات المنزرعه من الاصناف الاجنبية (Gregory, NC, Early bunch) مقارنه بالكتنرول الغير ملچ. حيث تراوح الوزن الجاف للعقد في جميع المعاملات البكتيريه بين 104.9 و 235.3 مللي جرام / نبات بينما لم يتكون عقد في حالة الكتنرول. وترادت الزياده في الوزن الجاف والمحتوى النيتروجيني للمجموع الخضري في جميع المعاملات البكتيريه بين 8 - 62 % و 22 - 123 % على الترتيب بالمقارنه بالكتنرول الغير ملچ.
4. وقد ادت كل معاملات الريزوببيا الى زياده ملحوظه على قياسات نمو نباتات الفول السوداني والمحتوى النيتروجيني للمجموع الخضري مقارنه بالكتنرول الغير ملچ. كما اوضحت النتائج ان السلاله USDA 3456 كانت الاكثر كفاءة بين كل العزلات و السلالات المختبره من حيث تثبيت النيتروجين الجوى تكافليا.
5. تم اختبار مدى قدرة 5 عزلات من السراتيا "Serratia marcescens" و 3 عزلات من البسيديوموناس (Pseudomonas putida, P. BF9 and BEF 91) على وقف نمو فطر الـ *Aspergillus flavus* (aeruginosa , P. fluorescens) للسموم الفطرية الـ Aflatoxins على الاطباق في المعمل.
6. اوضحت النتائج ان عزلة السراتيا GT و عزلة البسيديوموناس P. putida هما الاكثر كفاءة في وقف نمو الفطر مقارنة بباقي العزلات المختبرة.

7. بناء على نتائج التجارب السابقة تم اجراء تزاوج ثنائي بين سلالة الريزوبيا USDA 3456 الاكثر كفاءة في تثبيت النيتروجين تكافليا و اكثrezلات بكتيريا الجذور قدرة على وقف نمو الفطر وهي عزلة السراتيا GT و عزلة البسيديوموناس *P. putida* كلا على حده. وقد استخدمت سلالة الريزوبيا "USDA 3456" كمستقبل "Recipient" بينما استخدمت عزلات بكتيريا الجذور كمصدر "Donor" للجينات في هذا التزاوج.

8. تم استخدام 4 مضادات حيوية كوسيلة لتعليم السلالات البكتيرية الثلاثة المستخدمه في عملية التزاوج البكتيري وراثيا وهي (Ampicillin, chloramphenicol, neomycinsulphate and streptomycin) وكانت كل السلالات حساسة للـ Ampicillin بينما كانت كلها مقاومه للـ streptomycin. كما اوضحت النتائج ان سلالة الريزوبيا USDA 3456 كانت حساسه neomycinsulphate للـ streptomycin و مقاومه للـ chloramphenicol وعلى العكس من ذلك فإن عزلة السراتيا GT و عزلة البسيديوموناس *P. putida* كانت مقاومة للـ streptomycin و حساسة للـ chloramphenicol.

9. تم انتاج اتحادين وراثيين نتيجة للتزاوج البكتيري وهما DiM 71 (الناتجه من التزاوج بين سلالة الريزوبيا USDA 3456 و عزلة السراتيا GT) و DiM 73 (الناتجه من التزاوج بين سلالة الريزوبيا USDA 3456 و عزلة البسيديوموناس *P. putida*).

10. تم اختبار قدره الاتحادات الوراثية الجديده "Dim73" على تثبيت النيتروجين الجوى مع محصول الفول السوداني "Giza 6 , Gregorey , Early bunch" تحت ظروف الصوب الزراعية. كما تم ايضا اختبار قدره تلك الاتحادات الوراثية على وقف نمو الفطريات الممرضه للفول السوداني معمليا. واوضحت النتائج عدم وجود فروق معنويه بين الاتحادات الوراثيه الجديده (DiM 73, DiM 71) و سلالة الريزوبيا الرئيسيه USDA 3456 من حيث قدرتها وكفائتها في تثبيت النيتروجين الجوى تكافليا مع نباتات الفول السوداني المنزرعة. اوضحت النتائج ان كلا الاتحادين الوراثيين قد اكتسبا صفة وقف نمو الفطر من العزلات الرئيسية (عزلة السراتيا GT و عزلة البسيديوموناس *P. putida*).

11. تم دراسه درجات التشابه بين عزلات و سلالات الريزوبيا المختبرة من خلال تحليل المحتوي البروتيني باستخدام تقنية الـ SDS- PAGE وقد اظهرت النتائج درجة عاليه من التشابه الوراثي بين جميع العزلات والسلالات المختبرة. كما اوضحت النتائج وجود العديد من البروتينات المميزة بين جميع العزلات والسلالات المختبرة.