جامعة الفيوم

كلية العلوم

قسم النبات

دراسة خصائص بكتيريا الريزوسفير ودورها في تحفيز نمو النبات

رسالة مقدمة

لاستيفاء متطلبات الحصول على درجة

دكتوراه الفلسفه في العلوم

في

(الميكروبيولوجي)

من

كريمه علي سيد حسان

المدرس المساعد بقسم النبات

كلية العلوم

جامعة الفيوم

2025

دراسة خصائص بكتيريا الريزوسفير ودورها في تحفيز نمو النبات

مقدمة من

كريمه علي سيد حسان

للحصول علي

درجة دكتوراه الفلسفه في العلوم

(الميكروبيولوجي)

ا.د /أشرف محمد محمد عيسى

استاذ الميكروبيولوجي، قسم النبات، كلية العلوم، جامعة الفيوم (مشرف رئيس)

.....

د / أماني محمد محمد رياض

استاذ مساعد الميكروبيولوجي، قسم النبات، كلية العلوم، جامعة الفيوم

.....

قسم النبات

كلية علوم

جامعة الفيوم

2025

الملخص العربي

تم إجراء هذه الدراسة في قسم النبات، كلية العلوم، جامعة الفيوم، مصر، خلال الفترة من 2022 إلى 2024، وهدفت إلى عزل وتحديد البكتيريا المرتبطة بالنباتات والمحاصيل الزراعية المختلفة مثل القمح، القطن، الطماطم، البصل، والثوم. تم عزل 44 عزلة بكتيرية، من بينها 18 عزلة تمتلك القدرة على إذابة الفوسفات و12 عزلة أظهرت تأثيرًا مضادًا ضد فطري ***Rhizoctonia solani*** و تم اختيار أفضل عزلتين.

تعتبر الملوحة من أهم المشاكل العالمية التي تؤثر سلباً على إنتاجية المحاصيل. ووفقاً للتقديرات، تؤثر الملوحة العالية على 20% من إجمالي الأراضي الزراعية على مستوى العالم.

ضغط الملوحة هي ظاهرة معقدة تشمل التغيرات في عمليات التمثيل الغذائي ، والضغط التأكسدي ، والضغط التناضحي ، وتأثير الأيونات المحددة ، ونقص امتصاص الغذاء. تم استخدام العديد من التقنيات الجديدة ، مثل بكتيريا المجموع الجذري لتحسين تحمل ملوحة النبات وتقليل العواقب الخطرة للملوحة.

يتأثر نمو وتطور النباتات بمجموعة متنوعة من العوامل، بما في ذلك توفر العناصر الغذائية الأساسية في التربة. يعد الفوسفور P أحد المغذيات الكبيرة الرئيسية التي تحتاجها النباتات للعديد من العمليات الفسيولوجية، مثل نقل الطاقة وتنمية الجذور وتحسين إنتاجية المحاصيل لذلك، فإن توفير تركيز P كافي يعد عملية حاسمة لنمو النبات.

تتعرض النباتات في بيئتها الطبيعية لعدة ضغوطات حيوية، وهي تلك العوامل الحية التي تؤثر على نموها وصحتها. من بين هذه الضغوطات، تعد الفطريات من أكثر العوامل التي تشكل تهديدًا للنباتات. فطر ***Rhizoctonia solani*** يعتبر واحدًا من الفطريات الضارة التي تصيب العديد من المحاصيل الزراعية، ومنها نبات **القطن** .يؤدي هذا الفطر إلى مرض يعرف بـ "التعفن الجذري" أو "التبقع"، مما يتسبب في تدهور نمو النبات وتقليل إنتاجية المحصول. كما يعمل على تدمير الجذور وتقليل امتصاص العناصر الغذائية والماء، مما يؤدي إلى ضعف النبات وموته في الحالات الشديدة.

للتغلب على هذا النوع من الضغوطات الحيوية، تلعب البكتيريا المفيدة دورًا مهمًا في تعزيز مقاومة النباتات. هذه البكتيريا، المعروفة باسم **البكتيريا المحفزة لنمو النباتات** (PGPR)، تعمل على تحسين صحة النباتات من خلال عدة آليات، مثل إذابة الفوسفات، وإنتاج مركبات محفزة للنمو، وأحيانًا تقوم بتثبيط نمو الفطريات الضارة مثل ***Rhizoctonia solani***.

بناءً على تحليل التسلسل الجيني باستخدام تقنية **16S rRNA:** العزلة الأولى، التي تم الحصول عليها من نبات القمح، تم تحديدها على أنها ***Mammalicoccus lentus*** وهي قادرة على إذابة الفوسفات وايضا مقاومة الملوحه. أما العزلة الثانية، المستخلصة من نبات القطن، فقد تم تحديدها على أنها تنتمي إلى ***Bacillus halotolerans***ولديها القدرة على إذابة الفوسفات وكذلك إظهار تأثير مضاد ضد فطر ***Rhizoctonia solani.***

في هذه الدراسة، تم تقييم العديد من المؤشرات الحيوية والفسيولوجية للنباتات تحت ظروف الإجهاد المختلفة. تم قياس **IAA** تحت تأثير الملوحة بتركيزات متزايدة50 ، 100، 200، 300مللي مولر لتحديد تأثير العزلات البكتيرية على مستويات IAA.

تم إجراء تجربة باستخدام العزلة ***Mammalicoccus lentus*** على نباتات القمح المزروعة في نظام **Leonard system** في ظل وجود إجهادات مثل الملوحة والفوسفات غير الذائب. وقد شملت التقييمات القياسات الحيوية مثل **طول الجذور والسيقان، الوزن الطازج والجاف،** بالإضافة إلى تقدير مستويات **الكلوروفيلA** ، **الفوسفات الكلي، البروتينات، الكربوهيدرات،** وبعض الإنزيمات المهمة مثل **الكاتاليز، بيروكسيداز الأسكوربات بيراوكسيديز، سوبراوكسيد ديزميوتيز، جلوتاثيون ريدوكتاز، جلوتاثيون، و حمض الأسكوربات**.

النتائج التي تم الحصول عليها كانت على النحو التالي:

1- انخفض وزن المادة الطازجة والجافة لبادرات القمح تدريجيًا مع زيادة مستوى كلوريد الصوديوم مقارنة بالـ Control . ومع ذلك، أظهرت هذه المعلمات زيادات كبيرة نتيجة التلقيح بالعزلة البكتيرية ***Mammaliicoccus lentus* TV2**.

2- أظهرت النتائج أن نشاط إنزيم Glutathione Reductase في بادرات القمح زاد طرديًا مع زيادة مستويات كلوريد الصوديوم. في المقابل، انخفض نشاط CAT و APX و SOD بشكل ملحوظ. عند تركيز 100 مللي مولار من كلوريد الصوديوم، أدى التلقيح بعزلة ***Mammaliicoccus lentus* TV2** إلى زيادات كبيرة في نشاط CAT و APX .

3- انخفضت محتويات الجلوتاثيون وحمض الأسكوربيك في بادرات القمح بشكل ملحوظ مع زيادة مستويات الملوحة. ومع ذلك، أسفر التلقيح بالبكتيريا عن زيادات في محتويات الجلوتاثيون وحمض الأسكوربيك مع المعالجة بمستويات عالية من كلوريد الصوديوم.

4- أظهرت الدراسة انخفاضًا ملحوظًا في محتويات البروتينات الكلية والكربوهيدرات والفوسفات الكلي والكلوروفيل A في نباتات القمح المزروعة تحت مستويات متزايدة من كلوريد الصوديوم. ومع ذلك، أدى التلقيح بالعزلة (TV2) ***Mammaliicoccus lentus*** إلى زيادات كبيرة في هذه المحتويات. حيث ارتفعت محتويات البروتينات الكلية والكربوهيدرات والفوسفات الكلي والكلوروفيل A مقارنة بالـ Control تحت الملوحة العالية.

فيما يخص العزلة الثانية ***Bacillus halotolerans***، تم تطبيق تجربة على نباتات القطن عمر 21 يومًا تحت تأثير الاصابه بفطر ال ***Rhizoctonia solani***، الذي يسبب مرض ذبول القطن وتم قياس نفس المؤشرات الحيوية بالإضافة إلى **الفينولات الكلية** لتقييم استجابة النبات للتلقيح البكتيري.

النتائج التي تم الحصول عليها كانت على النحو التالي:

1. تحسنت نسبة إنبات البذور بشكل ملحوظ، حيث كانت الزيادة 26% و34% و40% في العلاجات المختلفة: نقع البذور، نقع التربة، وتغطية البذور. بالمقارنة مع النباتات غير المعالجة.

2. تم تقليل شدة المرض بشكل ملحوظ بواسطة ***B. halotolerans* C3** عبر جميع طرق العلاج. وأظهرت طريقة نقع التربة أكبر تقليل، حيث خفضت شدة المرض إلى نفس مستوى التحكم غير المصاب.

3. طول السيقان تحسن بشكل كبير بواسطة ***B. halotolerans* C3**، وكانت طريقة نقع التربة هي الأكثر فاعلية حيث أنتجت أطول سيقان (12.21 سم). أظهرت العلاجات الأخرى تحسنًا معتدلًا مقارنة بالنباتات المصابة بالمرض.

4. اتبع طول الجذور نفس الاتجاه، حيث أظهرت طريقة نقع التربة أطول جذور (9.37 سم)، في حين أن تغطية البذور والنقع المسبق حسنا أيضًا من نمو الجذور.

5. الوزن الطازج والجاف لمجموعة نقع التربة زاد بشكل ملحوظ بنسبة 21.6% و23.4% على التوالي. بينما كانت الزيادة 45.1% و33.7% لمجموعة نقع البذور. وأيضًا 51.3% و47.87% لمجموعة تغطية البذور.

6.نشاط الكاتلاز كان أعلى بشكل ملحوظ في نقع البذور، بينما نشاط السوبر أكسيد ديسموتاز أظهر زيادة ملحوظة في علاج تغطية البذور.

7.نشاط الجلوتاثيون ردكتاز كان أعلى بشكل ملحوظ في علاج تغطية البذور مع ***B. halotolerans* C3**

8.نشاط الأسكوربات بيروكسيداز كان الأعلى في علاج تغطية البذور مع ***B. halotolerans* C3**، مما يساهم في تحسين تحمل الإجهاد التأكسدي مقارنة بالتحكم.

9.محتوى الجلوتاثيون كان أعلى بشكل ملحوظ في العلاجات المروية بالتربة مع ***B. halotolerans* C3** بينما كان محتوى حمض الأسكوربيك في أعلى مستوى في علاج تغطية البذور مع ***B. halotolerans* C3**

10.محتوى الفينولات الكلية كان أعلى بشكل ملحوظ في علاج نقع البذور مع ***B. halotolerans* C3**

في الدراسة الحالية باستخدام تقنية **GC-MS**، تم تحديد بعض المركبات الأيضية في إفرازات البكتيريا TV2 المعروفة باسم ***Mammaliicoccus lentus*** من بين هذه المركبات : **حمض البنتانويك، 4-ميثيل-، 1,3-ديميثيل سيكلوهكسان ثنائي إيثيل الفثالات ،-2,4ثنائي ترت-بيوتيل فينول** ، و**بيرولو-1,2-] [aبيرازين-1,4-ديون، هيدرو-3-(2-ميثيلبروبيل)**، والتي قد تلعب دورًا في تعزيز صحة النباتات وتحمل الملوحه. ايضا،بكتريا **C3** المغروفه باسم ل ***Bacillus halotolerans*** تم التعرف على مركبات مثل **ثنائي إيثيل الفثالات ،-2,4ثنائي ترت-بيوتيل فينول** ، و**سيكلوهكسا سيلوكسين، دوديكاميثيل،** و**-1 هيبتاديكين،** والتي يحتمل أن تسهم في تعديل بنية جدار الخلية للفطريات. كما تم اكتشاف مركب **الثيمول، مشتق TBDMS** المعروف بخصائصه المضادة للميكروبات، وخصوصًا فعاليته ضد الفطريات.

تشير النتائج إلى الدور الهام الذي تلعبه البكتيريا المذيبة للفوسفات والمضادة للفطريات في تعزيز تحمل النباتات للملوحة والإجهادات الأخرى، مما يدعم استخدامها كعوامل حيوية صديقة للبيئة في تحسين نمو وإنتاجية المحاصيل.