الملخص العربي

تنتشر أفراد جنس بكتريا البسيدوموناس فيالتربة إنتشاراً واسعاً لما لها من قدرة على استخدام مجال واسع من المواد العضوية كمصدر للكربون أو النيتروجين. وهناك مجموعة هامة من أنواع البسيدوموناس تفرز صبغة فلورسنتية خضراء مصفرة على بعض البيئات وتعرف بالبسيدوموناس الفلورسنتية .

بسيدوموناس بيوتيدا ، واحداً من أنواع مجموعة البسيدوموناس الفلورسنتية الذى يلعب دوراً هاماً في التربة الزراعية حيث وجد أنه يزيد بدرجة معنوية نسبه إنبات البذور ويزيد معدل النمو والوزن الجاف لبعض النباتات كالخس والطماطم والقمح والذرة ، علاوة على أنه يزيد معدل امتصاص الفوسفات من التربة ، وبالإضافة إلى ذلك فقد ثبت أن لهدوراً هاماً في مجال مقاومة بعض فطريات منطقة الريزوسفير حيوياً .

تهاجم بكتريا بسيدوموناس بيوتيدا بالفيروسات البكتيرية (البكتريوفاجات أو الفاجات للاختصار) العنيفة التي تحطمها وتحولها إلى بقايا وأشلاء أو الهادئة التي تتخفى داخلها مندمجة في الكروموسوم وتتوارث مع الأجيال البكتيرية إلى أن يحدث لها تحفيزاً بأى محفز ويحولها إلى فاجات عنيفة وتكون النتيجة الحتمية هي التحلل البكتيري . وعلى ذلك فإن فيروسات البكتريا أو الفاجات المتخصصة في إصابة تلك البكتريا النافعة تعتبر عاملاً حيوياً يؤثر على أعداد ونشاط خلاياها ، ولذا فمن الضرورى العمل على القضاء على ذلك المؤثر الحيوي أو على الأقل تقليل خطورته ، ويتأتى ذلك بدراسة خواصه لمعرفة مواقع التدخل للتأثير عليه .

من هنا جاء هدف هذه الدراسة وهو الكشف عن تواجد فيروسات متخصصة في إصابة بكتريا البسيدوموناس بيوتيدا في التربة المصرية وعزل بعضها ودراسة بعض خواص الجزيئات أو كلها إن أمكن ، لاسيما وأن مثل هذه الدراسة قليلة لدرجة الندرة في مصر .

لتحقيق الهدف من الدراسة تم إجراء مايلى :

١ – الحصول على عينات من التربة الزراعية من بعض المناطق في مصر .
٢ – الكشف عن تواجد فيروسات البكتريا المتخصصة في إصابة بكتريا بسيدوموناس بيوتيدا باستخدام اختبار البقعة .
٣ – عزل فيروسين إعتماداً على الخواص المورفولوجية للبلاكات التي تكونها .
٤ – إكثار الفيروسات المعزولة بطريقة الإكثار في بيئة سائلة ثم تنقيتها وتركيزها باستخدام نظام الطبقتين السائلتين المتبوع بتناوب الطرد المركزى المنخفض السرعة والعالى السرعة .
٥ – تحديد المجاميع التي ينتمي إليها الفيروسين على أساس شكلهما الظاهرى عند الفحص بالميكروسكوب الإلكتروني .
٦ – دراسة خواص الفيروسات الإدمصاصية للأشعة الفوق بنفسجية في مجال من ٢٣٠–٣٠٠ نانوميتر .
٧ – دراسة المجال العوائلى للفيروسات على مستوى الأنواع والسلالات .
٨ – تحليل المحتوى البروتينى للفيروسات من حيث تقدير تركيزه وتحديد أعداد البروتينات التركيبية وأوزانها الجزيئية .
٩ – تقدير الوزن الجزيئى لجينوم كل فيروس .
١٠ – الحصول على السيرم المضاد لكل فيروس واختبار مدى القرابة السيرولوجية بينهما .

وقد أوضحت النتائج المتحصل عليها ما ياتى :

(١) تواجدت الفيروسات المتخصصة في إصابة بكتريا بسيدوموناس بيوتيدا في عينة تربة طمية طينية منزرعة بنباتات البطاطس تم الحصول عليها من مزرعة كلية الزراعة جامعة عين شمس بشبرا الخيمة بمحافظه القليوبيه ، وذلك من بين عشرين عينة تربة مختلفة القوام والنباتات القائمة بها من مناطق مختلفه بمصر .

(2) إعتماداً على خواص البلاكات ومن الأطباق الناتجة أثناء تقدير أعداد الفاجات تم عزل فيروسين (فاجين) يتميز الأول بتكوين بلاكات مستديرة صافية قطرها ٢ مم وسمى PP_1 ويتميز الثانى بتكوين بلاكات مستديرة قطرها ٧ مم مركزها صافى ومحاطة بهالة وسمى الفيروس PP_2 على أساس أن حرف P الأول هو الحرف الأول من اسم جنس العائل وحرف P الثانى هو الحرف الأول من اسم النوع للعائل والأرقام ١ ، ٢ للتفرقة بينهما .

(3) تم إكثار الفيروسات للحصول على كميات كبيرة منها وبتركيزات مرتفعة وصلت الى $١٠^{١٢}$ جزىء فيروسى لكل ملليلتر واحد .

(4) تم تنقية الفيروسات المكثرة للحصول على جزيئات فيروسية متماثلة ومركزة .

(5) فحصت الفيروسات النقية بالميكروسكوب الإلكترونى بعد صبغها بصبغة خلات اليورانيل (٤%) لتحديد شكلها المورفولوجى وأبعادها ، وأتضح أن الفيروسين مختلفين فى الشكل والأبعاد وعلى أساس ذلك يمكن وضع الفاج PP_1 ضمن أفراد عائلة Siphoviridae وفاج PP_2 ضمن أفراد عائلة Styloviridae .

(6) يختلف الفيروسان فى خواصهما الادمصاصية للأشعة الفوق بنفسجية إذا عرضا لها فى مجال من ٢٣٠ الى ٣٠٠ نانوميتر حيث جاءت نسبة الإمتصاص عند ٢٦٠ إلى نسبة الامتصاص عند ٢٨٠ نانوميتر لفاج PP_1 ١,٧٢ فى حين كانت ٢,١٥ لفاج PP_2 ويعنى ذلك أن الفيروسين يحتويان على نسبة عالية من البروتين إلا أن فاج PP_1 يحتوى على نسبة أعلى من فاج PP_2. كما أن النسبة بين أقصى امتصاص وأدناه (A_{max}/A_{min}) كانت ٠,٧٦ لفاج Pp_1 و ١,٠٧٥ لفاج PP_2 وهذا يعنى أن فاج PP_2 يحتوى على حامض نووى نسبة أعلى من فاج PP_1 .

(7) للفيروسين PP_1 و PP_2 مجال عوائلى ضيق ، فكليهما لا يصيب إلا سلالات النوع بيوتيدا من جنس بسيدوموناس . ومن بين سبعة سلالات تفاعل خارج

PP_1إيجابياً مسبباً التحلل البكتيرى مع ثلاثة سلالات ، فى حين تفاعل فاج PP_2 إيجابيا مسبباً التحلل لسلالتين إثنتين فقط .

(8) أوضحت نتائج تحليل البروتين أن فيروس PP_1 يحتوى على ستة عشر بروتيناً تركيباً معلوماً ومتوقعاً حسب برنامج الحاسب الآلى وتتفاوت أوزانها الجزيئية من ١,٧٣ إلى ١١٢,٤١ كيلو دالتون . ويحتوى فيروس PP_2 على ثلاثة عشر بروتيناً تركيباً قدرت أوزانها الجزيئية مقارنة ببروتينات معلومة وباستخدام الحاسب الآلى من ٣,٢٣ إلى ١١٧,٦٦ كيلو دالتون .

كما أوضحت النتائج أن فيروس PP_1 يحتوى على ٠,٠٨٠٣ ملجم/مل فيروس نقى في حين يحتوى فيروس PP_2 على ٠,٠٧٧ ملجم/مل فيروس نقى .

(9) قدر الوزن الجزيئى لجينوم فاج PP_1 بحوالى ألفين ومائتين ثلاثة وعشرين زوج قاعدة ، وبحوالى ألفين وخمسمائة وتسع وخمسين زوج قاعدة لفاج PP_2.

(10) أمكن الحصول على المصل المضاد لكل فيروس على حده بتحصين أرانب نيوزيلاندى بجزيئات نقية من الفيروسات وفقاً لبرنامج تحصين محدد . وقد أوضحت نتائج الاختبار السيرولوجى (أخترلونى أو الإنتشار المناعى في الآجار) أن المصل المضاد المتحصل عليه متخصص للفيروس الناتج عنه وأن الفيروسين PP_2 ,PP_1 بينهما قرابة سيرولوجية .

عموماً فإن الدراسة خلصت إلى أن الفاجات المتخصصة في إصابة بكتريا بسيدوموناس بيوتيدا تتواجد في بعض أنواع التربة المصرية ، وقد تم عزل وتنقية فيروسين أوضحت نتائج دراسة خواصهما المورفولوجية والكيميائية والسيرولوجية أنهما يختلفان عن بعضهما ، يتبع أحدهما عائلة سيفوفيرى ويتبع الآخر عائلة إستيلوفيرى .