

EFFECT OF SALT STRESS ON SOME FREE LIVING NITROGEN FIXING BACTERIA IN THE SOIL (1)

Al-Issa, A. Kh.

Soil and Soil Reclamation Department, Fac. of Agric., Al-Baath Univ., Homs, Syria.

تأثير الإجهاد الملحي على بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنيتروجين الجوي بالشكل الحر في التربة (1)

عبدالله خلف العيسى

قسم التربة واستصلاح الأراضي - كلية الزراعة - جامعة البعث - حمص - سورية

المخلص

هدف البحث إلى دراسة تأثير الإجهاد الملحي في حوض الفرات في الجمهورية العربية السورية، على بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنيتروجين الجوي بالشكل الحر، وعزل المتحمل منها للملوحة بغية استخدامه كلقاحات ميكروبية، من أجل ذلك تم أخذ عينات من الترب متزايدة في قيمة درجة التوصيل الكهربائي (الناقلية الكهربائية)، (dS/m) :

3.34 - 6.01 - 9.48 - 11.66 - 16.35 - 21.8 - 50.8 - 126.7. بينت النتائج:-

إنخفاض أعداد البكتيريا غير ذاتية التغذية، والفطريات، والأعداد الكلية المثبتة للنيتروجين الجوي ابتداءً من درجة الملوحة 6.01 dS/m. ولم تتأثر أعداد *Azotobacter* بازدياد درجة ملوحة التربة من 9.48 dS/m إلى 21.8 dS/m.

غير أنه لم يسجل وجود *Azotobacter* و *Clostridium* في الترب ذات درجة الملوحة dS/m 126.7 و 50.8، في حين كان هناك وجود *Azospirillum*. تأثرت أعداد *Paenibacillus polymyxa* سلباً ابتداءً من درجة ملوحة التربة 6.01 dS/m. تم تنقية عزلات من *Azospirillum* و *Azotobacter* من ترب متملحة من حوض الفرات، لقحت فيها حبوب القمح التي زرعت في تجربة أصص، وريت بمحاليل ملحية متزايدة من كلوريد الصوديوم (dS/m) : 0.00 - 0.78 - 2.34 - 4.21 - 6.25 - 9.37. لدراسة تأثير هذه العزلات في النشاط البيولوجي للتربة، ومعرفة مدى تأقلمها ونشاطها في ظروف الإجهاد الملحي، ومقارنة ذلك مع معاملات رويت بنفس التراكيزات لكنها غير ملقحة. بينت النتائج بأن التلقيح بـ *Azospirillum* و *Azotobacter* أدى إلى زيادة أعداد البكتيريا غير ذاتية التغذية، والأعداد الكلية للبكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوي بصورة حرة بالمقارنة مع المعاملات غير الملقحة. زاد أعداد *Clostridium* في ترب المعاملات غير الملقحة.

أظهرت النتائج أن عزلات *Azospirillum* و *Azotobacter* المأخوذة من ترب حوض الفرات في سورية لها القدرة على التأقلم مع ظروف ري التربة بمياه مالحة، ولها القدرة أيضاً على استعمار جذور نبات القمح بكثافة عددية كبيرة، وهي عزلات مباشرة وواعدة، يمكن استخدامها هذه المركبات كسماد حيوي في ظروف الإجهاد الملحي، ويتطلب الأمر مزيداً من الدراسة والتجريب التطبيقي تحت ظروف الحقل، وفي بيئات بيومناخية مختلفة.

المقدمة

تعاني كثير من مناطق العالم من مشكلة تملح التربة، فتلت الأراضي الزراعية في الكرة الأرضية متأثرة بالملوحة (Qadir et al/2000). وتعد ملوحة التربة من المحددات الرئيسية لإنتاجية المحاصيل الزراعية، فقد أكدت إحصاءات منظمة الـ FAO (1985- 1986) انخفاض مردودية بعض المحاصيل إلى 50% عندما وصلت درجة ملوحة التربة إلى 20 dS/m. ذلك لأن ملوحة التربة تؤثر بشكل كبير في عملية التمثيل الضوئي (Soussi et al/1998) واستقلاب النيتروجين (Cordovilla et al 1994) واستقلاب الكربون (Balibrea, et al. 2003). وتحدث خللاً في تغذية النبات، مما يقود إلى نقص في مغذيات عدة (Mengel and Kirkby 2001). وبشكل عام تؤثر ملوحة التربة في مجمل الخواص الفيزيائية والكيميائية

والبيولوجية للتربة، وتجعل الأخيرة وسطاً غير مناسب للعمليات الميكروبيولوجية ونمو المحاصيل (Rengsamy et al 2003, Tejada et al 2006). يمكن أن تعود التأثيرات الضارة للأملاح في النشاط الميكروبيولوجي للتربة إلى سمية أيونات معينة، وإلى ارتفاع الضغط الأسموزي، وزيادة القلوية، وإلى عدم إتاحة الماء، وانخفاض النفاذية الخلوية (Okur et al 2002).

تكتسب البكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي في التربة بالشكل الحر، أهمية في ظروف الإجهاد الملحي، وذلك لدورها الكبير ليس فقط في تثبيت النتروجين الجوي، بل وإفراز منشطات نمو تؤثر إيجاباً في إنبات البذور ونمو النبات. ولدورها في تحسين التغذية النباتية، وزيادة مقاومة النبات للعوامل الممرضة عن طريق قيامها بتصنيع المضادات الحيوية البكتيرية والفطرية (Bacilio et al 2004. Ravikumar et al 2004). تعد التربة بيئة متنوعة ومتباينة الخواص، يعيش فيها عدد هائل من الكائنات الحية الدقيقة، لكل منها ظروفه الخاصة في تحمل الملوحة (Ofek et al 2006). وحسب (Ragab 1993) يرتبط العدد الإجمالي للبكتيريا سلباً مع التركيزات الملحية الكلية في التربة. كما يؤدي ارتفاع درجة ملوحة التربة إلى تثبيط البكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي بشكل حر، وإلى انخفاض في نشاط النتروجينيز، على الرغم من أن بعض البكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي استطاعت تحمل تراكيز عالية من الأملاح (EL-Shinnawi and Frakenberger 1988).

لاحظ (Hassouna et al 1995) ارتباط الكثافة العددية للـ *Azotobacter* إيجاباً مع المادة العضوية وسلباً مع ملوحة التربة. أشار (Renee et al 1997) إلى الارتباط السلبى لأعداد *Azotobacter* مع محتوى التربة من الصوديوم القابل للتبادل، وعمق التربة، والـ pH ، في ترب بعض المناطق شبه الجافة بالأرجنتين، ويرى (Rai 1990) أن تأثير البكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي بالشكل الحر لا يتوقف على درجة ملوحة التربة فحسب، بل متعلق أيضاً بالنبات المزروع، فقد اختلف معدل تثبيت النتروجين الجوي تبعاً للمحصول في ظروف ملوحة ثابتة.

بالمقابل أشار (Matuguchi and Sakai 1995) إلى عدم تأثير البكتيريا سالبة الغرام سلباً بالملوحة. كما أبدت الكثير من المزارع البكتيرية مقاومة للإجهاد الملحي (He and Cramer 1992). بل إن أبحاث (Polonenko et al 1981) أشارت إلى زيادة أعداد الخلايا الميكروبية بزيادة ملوحة الوسط. إلى جانب ذلك تبين لـ (Sarig et al/1993) أن هناك زيادة في كربون ونتروجين الكتلة الحيوية الميكروبية Biomass في ظروف الملوحة.

وجد (Renee et al 1997) إنعدام نموبكتيريا الـ *Azotobacter* في ترب تصل درجة ملوحته إلى 216 dS / m ، في حين كان هناك تواجد وسيادة للأنواع التابعة للجنس *Bacillus*. وقد تمكن (Ravikumar et al 2004) من عزل *Azotobacter* من الترب المالحة الساحلية في الهند، والتي لها القدرة العالية على تثبيت النتروجين الجوي.

أثبت بعض الباحثين القدرة العالية التي يتمتع بها *Azospirillum brasilense* على تحمل درجة الملوحة العالية، وأن هذه البكتيريا استطاعت النمو في ريزوسفير النبات حتى في ظروف الإجهاد الملحي (Hartman 1988)، أدى تلقح التربة بالـ *Azospirillum* و *Azotobacter* في الأراضي الملحية، إلى زيادة الأعداد الكلية لميكروبات التربة، وكذا أعداد البكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي بالشكل الحر. وتم توفير 25 - 33 % من كميات السماد الأزوتي (Ali et al 2002). كما عمل التلقح بالـ *Azotobacter* و *Azospirillum* إلى زيادة معنوية في الإنتاجية وصلت إلى 11% لمحصول القمح وإلى 36% في محصول الشعير (Maianil and Anthofer 2007).

أهمية البحث

تعاني مناطق كثيرة في الجمهورية العربية السورية من مشكلة الملوحة الأولية والثانوية والتي تؤثر بالسلب في إنتاجيتها، الأمر الذي يستدعي البحث عن إيجاد طرائق علمية مختلفة لإدارة هذه الأراضي، لذا فإن دراسة سلوك بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي بالشكل الحر في ظروف الإجهاد الملحي يعد أمراً ملحاً، وذلك لمعرفة مدى تأثير هذه البكتيريا بظروف تلك التربة، وإمكانية عزل المتحمل منها للإجهاد الملحي بصورة نقيه، تمهيداً لاستخدامه كمخصبات حيوية 0

هدف البحث:

دراسة تأثير بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي بصورة حرة، بالإجهاد الملحي في حوض الفرات في الجمهورية العربية السورية، وعزل أجناس منها (أزوتوباكتر والأزوسبيريلليوم)، ثم تلقح حبوب القمح فيها، من خلال تجربة أصص، رويت بتراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم. بغية معرفة تأثير التلقح الميكروبي، في النشاط البيولوجي للتربة. وقدرة هذه الأجناس على التأقلم مع ظروف الري بمياه ذات درجات ملوحة مختلفة 0

مواد وطرائق البحث

أخذت ترب من حوض الفرات في الجمهورية العربية السورية متدرجة الملوحة، بعد قياس قيم الناقلية الكهربائية لها EC (dS/m): 3.34 - 6.01 - 9.48 - 11.66 - 16.35 - 21.8 (مزرعة بالقطن) و 50.8 - 126.7 (غير مزرعة) جدول 1 و 2.

جدول 1: بعض الخواص الفيزيائية للترب من حوض الفرات الأسفل

الكثافة الحقيقية	الكثافة الظاهرية	الطين %	السلت %	الرمل %	القوام
2.56	1.31	44.5	37	18.5	طيني

جدول 2: بعض الخواص الكيميائية للترب المأخوذة من حوض الفرات الأسفل

OM %	K	P	N	HCO ₂	Cl ⁻	K ⁺	Na ⁻	Mg ⁺⁺	Ca ⁺⁺	pH	EC عجينة مشبعة dS/m
0.78	336.5	9	7.2	1.2	8.36	0.5	10.6	9.4	16	7.15	3.34
0.75	393.5	6.5	6.4	2.4	15	0.7	43.3	13	19	7.69	6.01
0.50	323.5	5.5	6.04	2.2	36.1	0.42	77.6	13.6	22.4	7.8	9.48
0.20	223.5	3.3	5.0	2.4	49	0.74	93.2	20	30	7.72	11.66
0.42	22.3	4.9	4.35	2.2	140	0.7	97.2	42	65	7.55	16.35
0.22	274	4.88	2.5	1.5	195	0.7	130.3	58	77	7.22	21.8
0.31	288.5	5.2	2.5	2	510	0.92	384.8	184	57	7	50.8
0.21	331	3.5	3.01	9	1375	0.9	1039	500	30	7.77	126.7

بالإضافة إلى إجراء تجربة أصص زرعت بالقمح، وروبت بمياه متفاوتة الملوحة بمحاليل من كلوريد الصوديوم (dS/m): 0.78 - 2.34 - 4.21 - 6.25 - 9.37 بالإضافة إلى معاملة المقارنة والتي يقتصر فيها الري بالماء المذاب فيه كلوريد الصوديوم، من أجل معرفة تأثير الري بمياه متفاوتة الملوحة في الأجناس المثبتة للنتروجين الجوي بالشكل الحر. وكذلك من أجل دراسة سلوك ومدى تأقلم البكتيريا المعزولة من الترب السورية *Azospirillum* و *Azotobacter* من حوض الفرات، التي لقحت بها حبوب القمح في ظروف الري بمياه متفاوتة الملوحة.

تم معرفة أعداد البكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي بشكل حر التالية:

Azotobacter: نمت على البيئة السائلة Ashby (1968) (Abdel - Malek and Ishac). تم حساب أعدادها بطريقة العدد الأرجح MPN technique
Azospirillum: نمت على البيئة نصف السائلة (Dobereiner et al 1976). تم حساب أعدادها بطريقة العدد الأرجح MPN technique.

Clostridium: نمت على البيئة السائلة المسماة بيئة Winogradsky (Allen 1961) حيث وضع في أنابيب الاختبار أنابيب دروهم للكشف عن انطلاق الغاز، وحدث التخمر في الظروف اللاهوائية. تم حساب أعدادها بطريقة العدد الأرجح MPN technique.

Paenibacillus polymyxa: نمت على بيئة آجار (Hion and Wilson 1958). تم حساب أعدادها باستخدام طريقة الأطباق المصبوبة.

الأعداد الكلية للبكتيريا الحرة المثبتة للنتروجين الجوي Total N-fixer:

تم حسابها باستخدام البيئة الغذائية الصلبة (Allen 1961) Watanabi وتم حساب أعدادها بطريقة الأطباق المصبوبة.

إلى جانب البكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي بالشكل الحر في التربة أنفة الذكر، تم حساب بعض المجاميع الميكروبية الهامة في التربة، والتي لاغنى عن معرفتها عند إجراء الدراسات الميكروبيولوجية المختلفة، وهي:

- الأعداد الكلية للبكتيريا غير ذاتية التغذية (متباينة التغذية) وذلك على بيئة الآجار المغذي، تم حسابها بطريقة الأطباق المصبوبة.

- الفطريات: على بيئة Martin (Allen1961) المضاف إليها صبغة روز البنغال Ros –bengal والستربتومايسين (1g/ 100ml) لتثبيط نمو البكتيريا.
تم تحديد الخواص المجهرية والمزرعية والبيوكيميائية للبكتيريا المعزولة من ترب حوض الفرات الأسفل *Azospirillum* و *Azotobacter* وتم تحضير اللقاح البكتيري المكون من خليط من *Azotobacter* و *Azospirillum*.
أجريت تجربة الأخص على النحو التالي:

- ملء كل أصيص بـ 4 كغ من تربة رملية تحليلها بالجدول 3 و 4 (بعض خواص التربة المختلفة)
جدول 3: بعض الخواص الفيزيائية لتربة الأخص

القوام	طين %	سلت %	رمل %
رمل	18.15	9.70	72.15

جدول 4 : بعض الخواص الكيميائية لتربة الأخص

Fe	Mn	Zn	Cu	K	P	N	CaCO ₃	OM %	K ⁺	Na ⁺⁺	Mg ⁺⁺	pH (2.5:1)	EC عجيبة مشبعة
مغذيات صغرى (mg/kg)				مغذيات كبرى (mg/kg)					ملي مكافئ / لتر				
1.51	2.68	0.46	0.28	195	6.92	37	1.76	0.62	0.95	7.52	1.78	7.83	1.33

- تركت 6 معاملات رويت بالتراكيز الملحية (dS/ m): 9.37 – 6.25 – 4.21 – 2.34 – 0.78 بالإضافة لمعاملة المقارنة، دون أن تفتح بذورها بالملح البكتيري المحضر.
- لفتت حبوب 6 معاملات أخرى بالملح البكتيري قبيل الزراعة، ورويت بنفس التراكيز الملحية للمعاملات غير الملحة.
- وبهذا يكون عدد معاملات التجربة 12 معاملة
- خصص لكل معاملة 3 مكررات (أصص)
- صممت التجربة بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة.
- تم تلقيح حبوب القمح باللقاح الميكروبي قبيل الزراعة مباشرة.
- وضعت الأسمدة الكيميائية بشكل متساوي (من الأسمدة الفوسفاتية بعدل 15 وحدة (فوزا) والأسمدة البوناسية بعدل 24 وحدة بوزا/ فدان وخفضت الأسمدة النتروجينية الي 40% من المعدل 60 وحدة آزوت) لكل معاملات التجربة.
- خفضت كمية الأسمدة النتروجينية إلى 40% في المعاملات الملحة بالأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي.
- رويت الأخص بالمحاليل ذوات التركيزات الملحية المختلفة، حتى الوصول إلى سعة حقلية مقدارها 70%.
- أجريت للعزلات البكتيرية اختبار نشاط النتروجيناز بطريقة إرجاع الأستيلين على جهاز الكروموتوغرافيا الغازية طراز (GC DANI 100) حسب (Hardy et al 1973)
- قدر نشاط أنزيم الديهيدروجيناز بطريقة (Thalman 1968).

النتائج والمناقشة

تأثير الإجهاد الملحي في بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي بالشكل الحر في ترب مختارة من حوض الفرات الأسفل مزروعة بالقطن وغير المزروعة:
بينت النتائج (جدول 5) أن ازدياد درجة ملوحة التربة أدى إلى انخفاض في أعداد البكتيريا غير ذاتية التغذية، وقد بلغ التأثير السلبي أشده في الترب غير المزروعة عندما ازدادت درجة ملوحة التربة لتصل إلى 50.8dS/m و 126.7dS/m، فتدنت أعدادها إلى 2.64 و 2.24 ألف/ 1 غ تربة جافة تماماً على التوالي، في حين كانت أعدادها في التربة ذات 3.34 dS/m مساوية 574.75 ألف/ 1 غ تربة جافة تماماً. كما انخفضت أعداد البكتيريا غير ذاتية التغذية بشكل ملحوظ في الترب المزروعة بالقطن عند ارتفاع درجة ملوحة التربة إلى أعلى من 6.01dS/ m، إلا أن هذا الانخفاض لم يكن مضطرباً مع ازدياد درجة ملوحة التربة، لكن بشكل عام بقيت أعداد هذه المجموعة الميكروبية أقل في جميع الترب المدروسة مقارنة مع التربة ذات

درجة الملوحة المساوية 3.34 dS/ m, ووفقاً لـ (Stark and Fireston 1995) تتسبب الملوحة المرتفعة في زيادة جفاف التربة, وبالتالي نزع الرطوبة من الخلية البكتيرية, الأمر الذي يؤدي إلى قلة أعدادها. وبغض النظر عن تأثير الملوحة في أعداد هذه المجموعة البكتيرية, يلاحظ انخفاض أعدادها بشكل عام, وهذا عائد إلى قلة المادة العضوية (جدول 2-), التي تعمل هذه البكتيريا على استخدامها كمصدر للكربون والطاقة اللازمين لنموها.

جدول 5: تأثير الإجهاد الملحي في أعداد البكتيريا متباينة التغذية (غير ذاتية التغذية), والفطريات والأعداد الكلية للبكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي في حوض الفرات - سورية
(العدد بألف/ 1 غ تربة جافة تماماً)

المعاملات EC dS/m	الاستخدام الزراعي (المحصول)	أعداد البكتيريا متباينة التغذية	أعداد الفطريات	أعداد البكتيريا الكلية المثبتة للنتروجين الجوي
3.34	القطن	574.75	61.25	840.3
6.01		362.854	10.03	149.6
9.48		203.938	5.17	54.18
11.66		175.476	4.51	40.53
16.35		80.94	1.29	32.5
21.8		50.20	0.85	25.26
50.8	غير مزروعة	2.64	0.49	1.02
126.7	مزروعة	2.24	0.26	0.68

عندما ازدادت درجة الملوحة عن 3.34 dS/m, انخفضت أعداد الفطريات بصورة مشابهة لانخفاض البكتيريا غير ذاتية التغذية فيما يتعلق بمعاملتي التربة غير المزروعتين, نوات درجة الملوحة 50.8 و 126.7, وقد أثرت درجة الملوحة سلباً في أعداد الفطريات (جدول 5), وظهر هذا حيث بلغ التأثير السلبي لدرجة الملوحة حده الأقصى, فتدنت أعداد الفطريات إلى 0.49 و 0.26 ألف / 1 غ تربة جافة تماماً على التوالي. أما في الترب المزروعة بمحصول القطن, فقد انخفضت أعداد الفطريات في المعاملات التي ازدادت فيها درجة الملوحة عن 3.34 dS/ m. غير أن هذا الانخفاض لم يكن مضطرباً دائماً بزيادة درجة ملوحة التربة, لكن في كل الأحوال انخفضت أعداد الفطريات ابتداءً من الترب ذات درجة الملوحة 6.01 dS/m, وبهذا الصدد أكد (Saring et al 1993) بأن وجود تراكيز عالية من الأملاح الذاتية (وهذا في الواقع شأن التربية المدروسة) في الترب المتأثرة بالملوحة (5 dS/m أو أكثر) كاف لحدوث تراجع في نشاط الأحياء الدقيقة وخصوصية التربة. غير أن النتائج التي تم التوصل إليها بخصوص تأثير الملوحة في فطريات التربة, تتناقض بعض النتائج التي توصل إليها آخرون من أمثال (Tepsic et al 1997), الذي أشار, بأنه على الرغم من انخفاض محصول القمح مع زيادة درجة ملوحة التربة, فإن الفطريات أظهرت مقاومة مميزة للملوحة, وربما يعود السبب في تناقض هذه النتائج مع النتائج الأخرى, إلى الظروف التي أحاطت بالدراستين, وإلى نوع المحصول المزروع.

جدول 6: تأثير الإجهاد الملحي في أعداد *Azotobacter* و *Azospirillum*, *Clostridium* و *Paenibacillus Polymyxa* في حوض الفرات
(العدد بألف/ 1 غ تربة جافة تماماً)

المعاملات EC dS/m	الاستخدام الزراعي (المحصول)	<i>Azotobacter</i>	<i>Azospirillum</i>	<i>Paenibacillus Polymyxa</i>	<i>Clostridium</i>
3.34	القطن	0.901	9.40	216.19	2.16
6.01		0.735	2.00	42.79	1.65
9.48		0.694	1.62	14.91	0.912
11.66		0.536	1.33	6.66	0.810
16.35		0.148	1.04	5.12	0.731
21.8		0.145	0.367	3.57	0.310
50.8	غير مزروعة	لم يظهر	0.290	0.21	لم يظهر
126.7	مزروعة	لم يظهر	0.357	0.17	لم يظهر

عند دراسة تأثير الإجهاد الملحي في الأعداد الكلية لمثبتات النتروجين الجوي بالشكل الحر في التربة (جدول - 5) تبين أن أعدادها تأثرت سلباً بارتفاع درجة ملوحة التربة، فقد بدأ التأثير السلبي اعتباراً من درجة الملوحة 6.01 dS/m، بيد أن أعدادها لم تنخفض بشكل مضطرب مع ازدياد درجة الملوحة. إلى أن وصلت درجة ملوحة التربة إلى 50.8 و 126.7، عندها انخفضت الأعداد الكلية لمثبتات النتروجين بشكل حاد، ليصل هذا الانخفاض إلى 1.02، و 0.68 ألف/ 1 غ تربة جافة على التوالي.

من الملفت للانتباه وجود بكتيريا مثبتة للنتروجين الجوي (على الرغم من قلة أعدادها) في ترب ذوات درجة ملوحة تصل إلى 50.8 و 126.7، وهنا لا بد أن نذكر ما أشار إليه (Galinska and Truper 1994) من أن الأحياء الدقيقة في البيئات المالحة يمكن أن تكون ذات تنوع واسع، كما أن البيئات المالحة تأوي العديد من المجموعات البكتيرية التي تبدي تكيفاً وظيفياً في صفاتها تحت الظروف الملحية السائدة، وهذا مايفسر ظهور أعداد ولو كانت قليلة من البكتيريا مثبتة للنتروجين الجوي في الترب عالية الملوحة.

عند دراسة تأثير الإجهاد الملحي في إعداد الـ *Azotobacter* (جدول -6) تبين أن درجة الملوحة التي تراوحت بين 9.48 وحتى 21.8 لم تؤثر بشكل ملحوظ في أعداد الـ *Azotobacter*. إن وجود الـ *Azotobacter* في الترب الملحية وقدرة هذه البكتيريا على تحمل درجات الملوحة العالية، كان قد أشار إليه أيضاً (Ravikumar et al 2004) عند دراسته لترب ذات درجات ملوحة متزايدة في المناطق الساحلية في الهند، حيث تمكن من عزل بعض أنواع من الـ *Azotobacter*، استطاعت النمو في بيئات مالحة وقامت بتثبيت النتروجين الجوي بشكل جيد. لكن ما أن وصلت درجة الملوحة في الترب غير المزروعة في حوض الفرات الأسفل إلى 50.8 و 126.7 حتى اختفى وجود الـ *Azotobacter*. وهذه النتيجة تتفق مع ماتوصل إليه (Renee et al 1997) عند دراسته لتوزيع الـ *Azotobacter*، وغيرها من المجموعات الميكروبية في ترب متأثرة بالملوحة في بعض المناطق شبه الجافة بالأرجنتين، حيث لاحظ انعدام وجود *Azotobacter* في القشرة الملحية التي وصلت درجة ملوحتها إلى 216.

عند دراسة تأثير درجات الملوحة المختلفة على أعداد الـ *Azospirillum* لوحظ أنها سلكت مسلكاً مخالفاً للـ *Azotobacter*، فقد انخفضت أعدادها في الترب بشكل جلي ابتداء من درجة الملوحة 6.01 dS/m، وهذه النتيجة تتفق مع ماتوصل إليه (Bacilio et al 2004) الذي وجد انخفاضاً في الكثافة العددية للـ *Azospirillum* في النظام الجذري للنباتات المزروعة في الترب التي تعاني إجهاداً ملحياً. وعلى الرغم من انخفاض أعداد الـ *Azospirillum* في الترب ذات درجة الملوحة العالية، فإن أعداداً منها استطاعت أن تتحمل درجات الملوحة التي وصلت إلى 50.8 و 126.7، بينما لم تتحمل الـ *Azotobacter* هكذا درجات ملوحة، في حين أبدت *Azospirillum* في هذه الترب على ما يبدو تكيفاً وظيفياً. وقد بينت أبحاث عدة قدرة الـ *Azospirillum* على تحمل درجات الملوحة العالية منها، (Bashan et al, 1995) وهنا أيضاً لا بد من الإشارة إلى ما توصل إليه (Alamri and Mostafa, 2009) من أن الـ *Azospirillum* أظهرت تحملاً للري بمياه البحر المخلوطة بنسب محددة مع المياه العذبة.

على العموم، يعد تحمل أعداد ولو قليلة من الـ *Azospirillum* لدرجات الملوحة العالية أمراً مهماً، وله قيمة بيئية واقتصادية وتطبيقية. من وجهة نظرنا - إذ يمكن عزل هذه البكتيريا، ودراسة خواصها المختلفة، ومن ثم استخدامها كأسمدة حيوية في ظروف الإجهاد الملحي للتربة. وبهذا الصدد لا بد هنا من الإشارة إلى ما ذكره (Subbo Rao 1999)، بأنه تم في الباكستان، التعرف على *Azospirillum halopraeferans* متأقلم مع الظروف القاسية المتعلقة بدرجة الحرارة (40 م°) وتراكم الملح العالية.

لوحظ عند دراسة تأثير درجة الملوحة في أعداد البكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي بشكل حر في التربة التابعة للجنس *Clostridium*، أن أعداد هذه البكتيريا لم تتأثر بدرجات الملوحة التي تراوحت بين 9.48 و 15.31 بشكل كبير، لكن انخفضت أعداد *Clostridium* بصورة واضحة في التربة ذات درجة الملوحة 21.8، حيث سجل أدنى عدد لها (0.31 ألف/ 1 غ تربة جافة تماماً).

ولم تظهر النتائج أي وجود للـ *Colstridium* في الترب ذوات درجة الملوحة، 50.8 و 126.7. وبهذه النتيجة يكون قد تشابهت هذه المجموعة البكتيرية مع الـ *Azotobacter* في عدم تواجدها مع هذا الحيز من درجات الملوحة 0

تجدد الإشارة إلى أن هناك شح شديد في الدراسات المتعلقة بتأثير الملوحة في الـ *Colstridium*، الأمر الذي يمكن أن يعود إلى كون هذه البكتيريا تثبت النتروجين الجوي بكفاءة أدنى من باقي المجموعات البكتيرية التي تقوم بعملية تثبيت النتروجين الجوي بصورة حرة، علاوة على أن هذه البكتيريا متبوغة (متجرثمة) وتعمل بصورة نشطة (إعاشية) في الظروف اللاهوائية.

عند دراسة تأثير الإجهاد الملحي على أعداد *Paenibacillus polymyxa*، وجد أن أعدادها قد تأثرت سلباً بازدياد درجة ملوحة التربة، وقد بدأ التأثير السلبي عند درجة ملوحة 6.01 dS/m، فانخفضت

أعدادها بصورة معنوية، مقارنة مع أعدادها في التربة ذات درجة الملوحة 3.34 dS/m، وازداد الانخفاض في أعدادها شدة ابتداء من درجة الملوحة 9.48 dS/m، فبينما كانت أعدادها في التربة ذات درجة الملوحة 3.34 dS/m مساوية 216.19 ألف / 1 غ تربة، نجد أنها تنخفض في التربة ذات درجة الملوحة 6.01 dS/m إلى 42.79 ألف / 1 غ تربة جافة تماماً، لتزداد انخفاضاً بشكل غير مضطرد في الترب ذات درجات الملوحة (dS/m): 9.48 - 11.66 - 15.31 - 21.8، أما في الترب غير المزروعة ذات درجة الملوحة 50.8 و 126.7، فيلاحظ الانخفاض الشديد لأعداد هذه المجموعة البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي بشكل حر، حيث تدنت أعدادها إلى 0.21 و 0.17 ألف / 1 غ تربة جافة تماماً على التوالي، وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (Ranee et al 1997)، فقد بين أنه في الترب ذات الملوحة العالية جداً (216 dS/m) لم تظهر *Azotobacter* في حين كان هناك وجود للـ *Bacillus spp.*

يلاحظ من النتائج المتعلقة بالـ *Paenibacillus polymyxa* أن أعدادها تفوق أعداد باقي الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي المدروسة، ويعود السبب إلى كون هذه البكتيريا تلجأ إلى التبوغ (التجثم) في الظروف غير المناسبة (زيادة درجة الملوحة والجفاف)، مما يعطيها الفرصة للبقاء بأعداد أكثر من باقي المجاميع البكتيرية الأخرى المثبتة للنتروجين الجوي بصورة حرة غير المشكلة للأبواغ (الجراثيم). وجود أعداد ولو كانت قليلة من *Paenibacillus polymyxa* في الترب ذوات درجة الملوحة العالية، له أهمية تطبيقية ينبغي الاستفادة منها، ذلك باعتبار أن هذه البكتيريا ربما تلعب دوراً في زيادة تحمل النباتات للإجهاد الملحي، لأنها تقوم بإفراز السكريات المتعددة الخارجية Exopolysaccharid التي يعتقد أنها تعمل على ربط Na، مما يخفف من امتصاص النبات لهذا الكاتيون، الأمر الذي يساعد النبات على العيش في بيئات ملحية (Davery and Tool 2000)

من خلال دراستنا لمدى تأثير بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي بالشكل الحر في أعداد بعض البكتيريا المثبتة للنتروجين بصورة حرة في التربة، يلاحظ قلة أعدادها بشكل عام - بصرف النظر عن تأثير درجة الملوحة - والسبب يمكن أن يعود أيضاً إلى فقر التربة للمادة العضوية، (جدول - 2) وإلى الخلل الذي يمكن أن تسببه الملوحة ليس فقط في تغذية النبات، وإنما أيضاً في تغذية الكائنات الحية الدقيقة في التربة، ومن بينها تلك المثبتة للنتروجين الجوي بصورة حرة.

من اللافت للانتباه والاهتمام، وجود بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي ولو بأعداد قليلة في ترب ذات درجة ملوحة مرتفعة. إن لتواجد هذه الأجناس في مثل هكذا إجهاد، له - من وجهة نظرنا - أهمية بيئية وتطبيقية.

تأثير الإجهاد الملحي في نشاط انزيم الديهيدروجينيز في ترب من حوض الفرات المزروعة بالقطن، وغير المزروعة:

كما هو معروف تعمل الأنزيمات التي تُفرز من قبل الكائنات الحية الدقيقة في التربة على تنظيم العمليات البيوكيميائية، وتشارك في دورة العناصر الغذائية، ويمكن أن تستخدم كمؤشر للنشاط الميكروبيولوجي بصورة عامة (Tabtabai 1981). ويعد نشاط انزيم الديهيدروجينيز مؤشراً لنظام الأوكسدة والإرجاع البيولوجي في التربة Indicator of biological redox - systems، وهو مقياس لشدة العمليات الاستقلالية للكائنات الحية الدقيقة في التربة (Frankenberger and Bingham 1982). يلاحظ من الجدول (7) التأثير السلبي لنشاط انزيم الديهيدروجينيز ابتداء من درجة الملوحة 6.01 dS/m، وبلغ التأثير السلبي حده الأعظمي عندما ازدادت درجة ملوحة التربة إلى 126 dS/m وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل إليه (Frankenberger and Bingham 1982) من أن ملوحة التربة تؤدي إلى تثبيط نشاط الأنزيمات بصورة عامة. وهذه النتيجة أيضاً تؤكد النتائج التي حصلنا عليها في أثناء دراسة بعض المجاميع الكائنات الحية الدقيقة في ترب حوض الفرات الأسفل، فقد انخفضت أعداد معظم المجاميع الميكروبية: البكتريا غيرية التغذية، والفطريات، والأعداد الكلية لمثبتات النتروجين الجوي بشكل حر وأعداد *Azotobacter*، *Paenibacillus polymyxa* ابتداءً من درجة ملوحة التربة إلى أكثر من 6.01 dS/m. وهنا لا بد من الإشارة إلى ما توصل إليه (Bader and saber 1983) من أن الري بمياه مرتفعة درجة الملوحة لم تؤثر سلباً في نشاط انزيم الديهيدروجينيز، بينما خالف (Omer et al 1994) هذه النتيجة عندما سجل انخفاض الديهيدروجينيز تحت ظروف الإجهاد الملحي. أما النتائج التي تم التوصل إليها في هذه الدراسة فتشير إلى أن الديهيدروجينيز أنخفض نشاطه بشكل معنوي عند درجة ملوحة التربة 6.01 dS/m.

جدول 7: تأثير الإجهاد الملحي في نشاط أنزيم الديهيدروجينيز في بعض ترب حوض الفرات تبعاً لدرجة ملوحتها. $\mu\text{g TPF/gr dry soil}$

LSD 5%	126.7	50.8	21.8	16.35	11.66	9.48	6.01	3.34	درجة ملوحة التربة dS/m
3.86	189.66	209.75	200.52	207.59	200.15	217.22	206.00	223.4	µg TPF/ gr dry soil

وبهذا الصدد، لا بد من التنويه إلى ما توصل إليه (Batra and Manna 1997) عند دراستهما لتراب مختلفة الملوحة في الهند، حيث تبين لهما أن نشاط انزيم الديهيدروجيناز أنخفض 70 % عند درجة 28 dS/m وإلى 87 % عند درجة 40.8 dS/m بالمقارنة مع تربة درجتها 18.0 dS/m، أشارا أيضاً (Batra and Manna 1997) إلى أن نشاط انزيم الديهيدروجيناز لم يكن مرتبطاً فقط بقيم الناقلية الكهربائية للتربة، وإنما بالكربون العضوي، والإستخدام الزراعي (المحصول) أيضاً.

تأثير التلقيح بخليط من *Azotobacter* و *Azospirillum* في تجربة أصص مزروعة بالقمح، على بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي بصورة حرة، عند الري بمياه مختلفة درجة الملوحة، مع تفاقم مسألة العجز المائي في الوطن العربي، وبسبب تركيز معظم الزراعات في المناطق الجافة وشبه الجافة، ونتيجة الطلب المتنامي على المياه لتلبية الاحتياجات المتزايدة من الغذاء، فقد باتت من الأمور الملحة استخدام بدائل مناسبة للمياه العذبة، لذا كان من الضروري دراسة مدى تأثير المجاميع الميكروبية الهامة من الكائنات الحية الدقيقة في التربة، عند الري بمياه مالحة، ومعرفة دور بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي بشكل حر، في ظروف الإجهاد الملحي.

كما سبق ذكره في مواد وطرائق البحث، فقد تم عزل الخليط السابق من البكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي من تربة حوض الفرات، وتم معرفة خواصها المجهريّة والمزرعية والبيوكيميائية. ثم لقيت بذور القمح بها، بغية دراسة تأثير استخدامها في ظروف ري النبات بمحاليل ملحية من كلوريد الصوديوم مختلفة درجة الملوحة، ومقارنتها مع معاملات غير ملوحة رويت بنفس التركيزات الملحية.

عند دراسة تأثير الري بمياه مختلفة الملوحة، على أعداد البكتيريا غير ذاتية التغذية، في وجود التلقيح البكتيري وبدونه (جدول - 8)، تبين أن أعداد هذه المجموعة الميكروبية قد انخفضت في المعاملات الملقحة وغير الملقحة على حد سواء عند الري بمياه درجة ملوحتها 6.25 dS/m و 9.37. لأن الري بمياه مالحة يشكل ضغطاً على المجتمع الميكروبي في التربة، مما يؤدي إلى قلة أعدادها بسبب انخفاض قدرة الميكروبات على القيام بعمليات التحول الغذائي. لكن الأعداد الكلية للبكتيريا غير ذاتية التغذية لم تتأثر سلباً عند الري بمياه ذات درجة ملوحة 0.78 - 2.34 - 4.21 dS/m، إلا أن أعدادها. زادت في المعاملات الملقحة أكثر بصورة واضحة مقارنة مع أعدادها مع المعاملات غير الملقحة، وهذه النتائج تتفق مع النتائج التي توصل إليها (Ali et al, 2002)، حيث ارتفعت الأعداد الكلية للبكتيريا في التربة الملقحة بالأزوتوباكتر، ذلك باعتبار أن الفائدة الناجمة عن التلقيح بالأزوتوباكتر والأزوسبيريليوم يتعدى قدرة هذه الأجناس على تثبيت النتروجين الجوي، إلى كون هذه البكتيريا تفرز في الوسط منشطات نمو، مما يخلق بيئة مناسبة لنمو النبات وميكروبات التربة (Bashan et al, 1995) كما تأثرت الأعداد الكلية للبكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي بصورة حرة سلباً عند الري بمياه ذات درجة ملوحة 6.25 dS/m و 9.37، وذلك في المعاملات الملقحة وغير الملقحة على حد سواء، لكن كانت أعدادها في المعاملات الملقحة أكثر من أعدادها في المعاملات غير الملقحة. ولم تتأثر هذه البكتيريا سلباً عند الري بمياه ذات درجة ملوحة 0.78 - 2.34 - 4.21 dS/m (Bashan and Bashan, 2010).

جدول 8: تأثير الري بمياه مختلفة الملوحة في أعداد البكتيريا غير ذاتية التغذية والأعداد الكلية للبكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي (العدد بالمليون/ 1 غ تربة جافة تماماً)

المعاملات درجة الملوحة مياة الري dS/m	أعداد البكتيريا غير ذاتية التغذية	الأعداد الكلية للبكتيريا المثبتة للنتروجين الجوي
غير ملوحة		
معاملة المقارنة	1.26	0.860
0.78	1.33	0.938
2.34	1.09	0.963
4.21	0.838	0.932

0.312	0.621	6.25
0.303	0.453	9.37
ملقحة		
5.48	5.51	معاملة المقارنة
3.10	4.15	0.78
1.50	3.11	2.34
1.31	1.63	4.21
1.15	0.90	6.25
0.508	0.46	9.37

عند دراسة تأثير الري بمياه متفاوتة درجة ملوحتها في أعداد *Azospirillum* في المعاملات الملقحة وغير الملقحة (جدول 8-) تبين، أن التلقيح البكتيري أدى إلى زيادة أعداد هذه المجموعة الميكروبية بصورة واضحة مقارنة مع المعاملات غير الملقحة، وذلك عند الري بمياه ذات درجة ملوحة (dS/m): 0.0 - 0.78 - 2.34 - 4.21 - 6.25. وهذه النتيجة تتوافق مع ما توصل إليه Alamri and Mostafa (2009) من أن لك *Azospirillum* القدرة على تحمل ملوحة مياه الري، وذلك عند تلقيح التربة بهذه البكتيريا، ثم ريها بمياه البحر المخلوطة مع مياه عذبة بنسب مختلفة، كما ازدادت بشكل عام أعداد الأروتوباكتر في التربة الملقحة مقارنة مع التربة غير الملقحة، وهذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه (Ali et al, 2002)، وظهرت هذه الزيادة في أعداد الأروتوباكتر على وجه الخصوص عند المقارنة بين المعاملتين اللتين رويت بمياه عذبة (جدول - 9)

جدول 9: تأثير الري بمياه مختلفة الملوحة في أعداد كل من بكتيريا الـ *Azotobacter* و *Azospirillum*

(العدد بالألف/ 1 غ تربة جافة تماماً)

<i>Azospirillum</i>	<i>Azotobacter</i>	المعاملات درجة الملوحة مياة الري ds/m
غير ملقحة		
81.39	82.1	معاملة المقارنة
211	25.8	0.78
51.65	25.8	2.34
51.28	22.14	4.21
51.71	41.9	6.25
52.88	16.8	9.37
ملقحة		
340.9	208.6	معاملة المقارنة
337.8	140.5	0.78
345.6	140.6	2.34
390.9	80.1	4.21
164.3	65.1	6.25
150.8	32.3	9.37

إن النتائج التي تم التوصل إليها من خلال دراسة تأثير التلقيح ببعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي بصورة حرة، تشير إلى أن العزلات المأخوذة من التربة السورية في حوض الفرات وجد أن كل من فطري *Azospirillum* و *Azotobacter* لها القدرة على التأقلم مع ملوحة التربة، ولها قدرة أيضاً على الوصول إلى جذور النبات، وهذا يعني من حيث المبدأ، أن العزلات المستخدمة، هي عزلات مباشرة، لكن يتطلب الأمر الاستمرار في تجربتها في مناطق بيومناخية مختلفة.

جدول 10: تأثير الري بمياه مختلفة الملوحة في أعداد *Paenibacillus polymyxa* و *Clostridium*

(العدد بالآلف / 1 غ تربة جافة تماما)

<i>Clostridium</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	المعاملات درجة الملوحة مائة الري .ds/m
غير ملقحة		
2.20	348	معاملة المقارنة
5.86	304	0.78
1.72	231	2.34
2.21	227	4.21
5.82	241	6.25
6.23	204	9.37
ملقحة		
2.15	590	معاملة المقارنة
1.01	418	0.78
2.18	352	2.34
1.02	281	4.21
2.18	213	6.25
1.03	138	9.37

عند دراسة تأثير الري بمياه مختلفة الملوحة في أعداد *Paenibacillus polymyxa* (جدول 10) وجد أن أعدادها قد تأثرت سلباً بالري بمياه ذات درجات ملوحة 6.25 و 9.37 ds/m. إلا أن أعدادها في ترب المعاملات الملقحة، وعند الري بمياه ذات درجات ملوحة 0.78 - 2.34 - 4.21 ds/m، كانت أعلى من أعدادها في ترب المعاملات غير الملقحة، أن التأثير الإيجابي للتلفح لم يظهر عند الري بمياه ذوات درجات ملوحة 6.25 و 9.37 ds/m حيث تقاربت أعداد هذه المجموعة الميكروبية في المعاملات الملقحة مع تلك غير الملقحة. وبشكل عام لوحظ أن أعداد *Paenibacillus polymyxa* هي أعلى من أعداد البكتيريا الأخرى المدروسة المثبتة للنتروجين الجوي.

على عكس البكتيريا الأخرى المدروسة المثبتة للنتروجين الجوي، لوحظ أن البكتيريا التابعة للجنس *Clostridium* في ترب المعاملات غير الملقحة، قد ازدادت أعدادها عند الري بمياه ذات درجات ملوحة 6.25 و 9.37 ds/m. ولم يؤثر الري بمياه مختلفة الملوحة سلباً أيضاً في ترب المعاملات الملقحة. وربما يعود السبب إلى المنافسة التي يمكن أن تحصل بين الكائنات الحية الدقيقة المكونة للمجتمع الميكروبي. إن عدم تأثير *Clostridium* بالري بمياه ذات درجات ملوحة متزايدة ناجم أيضاً عن كون هذه البكتيريا تلجأ إلى التبوغ (التجثم) في ظروف الإجهادات المختلفة التي تتعرض لها التربة، ومن بينها الإجهاد الملحي.

تأثير الري بمياه مختلفة الملوحة في نشاط أنزيم الديهيدروجيناز بوجود التلقيح البكتيري وبدونه. ازداد نشاط أنزيم الديهيدروجيناز في المعاملات غير الملقحة بازدياد درجة ملوحة مياه الري (جدول - 11). وحسب النتائج التي توصل إليها (Garcia and Hernandez, 1996) فإن الري بمياه مالحة أثرت سلباً في أنزيمات المحللة Hydrolases (البروتيناز والفوسفاتاز) بينما لم تؤثر في أنزيمات الأكسدة والإرجاع Oxide reeducates (الديهيدروجيناز والكتيليز).

جدول 11: تأثير الري بمياه مختلفة الملوحة في نشاط أنزيم الديهيدروجيناز بوجود التلقيح الميكروبي وعند عدمه ($\mu\text{g TPF/gr dry soil}$)

المتوسط	للمعاملات الملقحة (A)	للمعاملات غير الملقحة (B)	المعاملات درجة الملوحة مائة الري .ds/m
197.85	202.50	193.20	معاملة المقارنة
195.75	205.35	186.16	0.78
215.91	219.71	212.10	2.34
213.01	211.42	214.60	4.21
213.52	217.25	209.80	6.25
210.45	206.20	214.70	9.37
	9.59	3.32	L.S.D. 5%

	210.41	205.09	المتوسط
			L.S.D. 5% : ملقحة أو غير ملقحة
			.6.62 = (A x B) .6.65 = (B) .3.84 = (A)

كما وجد (Bader and Saber, 1983) أن الري بمياه مالحة في تربة جيرية، لم تؤثر سلباً في النشاط البيولوجي في التربة متمثلاً في نشاط الديهيدروجينيز. أما في تربة المعاملات الملقحة، فقد ازداد نشاط أنزيم الديهيدروجينيز في المعاملات الملقحة - في معظم المعاملات - بالمقارنة مع نشاط هذا الأنزيم في المعاملات غير الملقحة. وهنا يمكن ربط ازدياد نشاط هذا الأنزيم في المعاملات الملقحة، مع ازدياد أعداد كثير من المجاميع الميكروبية في المعاملات الملقحة كما تم عرضه سابقاً

شكر وتقدير

أنتهز هذه الفرصة كي أعرب عن بالغ شكري وتقديري للمساعدة المشكورة التي قدمت إلي من معهد الأراضي والمياه والبيئة في القاهرة لإنجاز هذا البحث، وخصوصاً قسم الميكروبيولوجيا الزراعية .

المراجع

- Abdel Malek, and Ishac, Y. Z. (1968). Evaluation of methods used in counting *Azotobacter*. J. App.Bacterial.31:267—275
- Alamri, S. A., and Mostafa, Y. S. (2009). Effect of nitrogen supply and *Azospirillum brasilense* SP. 248 on response of wheat to seawater irrigation. Saudi Journal of Biological Sciences. 16. Issue 2, 101. 107.
- Ali, N. A. A., Darwish, S. D., and Mansour, S. M. (2002) Effect of *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* inoculation and anhydrous ammonia on root colonization, plant growth and yield of wheat plant under saline alkaline conditions. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 27 (8): 5575 – 5591
- Allen, O. N. (1961). Experiments on Soil Bacteriology. *Burgess publishing Co.*, Minnesota.
- Aly, M. M., El – sabbagh S.M., EL – Shouny W.A., and Ebrahim M. KH. (2003). Physiological Response of *zea mays* to NaCl stress with Respect of *Azotobacter chroococcum* and *Streptomyses niveus*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 24 , 2073 – 2080
- Bacilio, M., Rodriguez. H, Moreno M Hernandez J.P., and Bashan, Y. (2004) Mitigation of salt stress in wheat seeding by a *g f p* – tagged *Azospirillum lipoferum*. Biology and Fertility of soil. 40. 188 – 193.
- Badr, S. M. S., and Saber, M. SM. (1983) Effect of phosphate dissolving bacteria on p – uptake by barley plants grown in a salt affected calcareous soil. J. Plant Nutrition and soil science. 146 .Issue 5. 545 – 550
- Balibrea, Cuartero, Bolarin MC, and Peres Alfocea, F. (2003). Activities during fruit development of *Lycopersicon* genotypes differing in to tolerance salinity. *physiol plant* . 118: 38 – 46.
- Bashan , Y ., Holguin , G ., Rodriguez , N ., Puente , M . E. and Ferrera – cerrato, R. (1995). *Azospirillum brasilense*: root colonization of weeds and crop plants, inter – root movement and survival in soils and

- rhizosphere. In: 15th world Congress of Soil Science, Acapulco, Mexico, 10 – 16 July, cited from: Soil and Fert. Abt. 58 : 1721
- Bashan, Y. and Bashan, L. E. (2010). How the plant growth- promoting Bacterium *Azospirillum* promotes plant growth A critical assessment, *Advances in Agronomy*. 108. 77 – 136.
- Batra. L., and Manna, M. C. (1997). Dehydrogenase activity and microbial biomass carbon in salt – affected soils of semiarid and arid regions. *Arid Land Research and management*. 11. Issue 3. 295 – 303.
- Cordovilla, M. P., Ligeró, F., and Lluch, C. (1994). The Effect of salinity on N₂ fixation and assimilation in *Vicia faba*. *J Exp Bot*. 45: 1483 – 1488.
- Davery, M. E. and Tool, A. G. (2000). Microbial biofilms. From ecology to molecular genetics *Microbial. Mol. Biol. Rev.*, 64: 847 – 867
- Devitt, D. A., Bowman, D. C., and Schulte, P. I. (1993). Response of *Cynodactylon* to prolonged water deficits under saline conditions. *Plant and Soil*. 148. 239 – 251
- Döbereiner, J., Marriél, L. E., and Nery, M. (1976). Ecological distribution of *Spirillum lipoferum Beijerinck*. *Can. J. Microbiol.* 22: 1464 – 1473.
- El – sinewy, M. M., and Frankenberger, W.T. JR. (1988). Salt Inhibition of free – living diazotroph population density and nitrogenase activity in soil. *J. Soil Science*. 146 (3): 176 – 184.
- FAO (1995). Control of water pollution from agriculture, irrigation and drainage, paper 55.
- FAO (1996). Environmental assessment of irrigation and drainage projects paper 53.
- Frankenberger, W. T., and Bingham, F. T. (1982) .Influence of salinity on soil enzyme activities. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46 , 1173 – 1177
- Galinski, E. A., Trüper, H. G. (1994). Microbial behavior in salt stresses ecosystems, *FEMS Microbial Rev.* 15. 95 – 108.
- Garcia, C., and Hernandez (1996). Influence of salinity on the biological and Biochemical activity of a calciorthird soil. *Plant and Soil* 178 : 255 – 263
- Hardy, R. W. F., R.C.Burns and Holsten, R. D. (1973). Application of acetylene. Ethylene assay. for measurement of nitrogen fixation .*Soil Biol. Biochem.*, 5:47-87
- Hartmann A., (1988). Osmoregulatory properties of *Azospirillum* spp. In: klingmüller. W. (Ed). *Azospirillum* IV: Genetics, Physiology, Ecology. Springer – Verlag, Barlin. 122 – 130
- Hassouna, M. S., Madkour, M. A., Helmi, S. H. E, and Yacout, S.T. (1995). Distribution of diazotrophs in relation to soil salinity in Northern – West Coast of Egypt. *Alexandria J. Agri. Res.* 40(3) 365 – 388.
- He. T and Cramer G. R., (1992) Growth and Mineral nutrition of six rapid – cycling Brassica species in response to seawater salinity. *Plant and Soil* .139, 285 – 294.
- Hion. S.and P.W,Wilson (1958) . Nitrogen fixation by a facultative *Bacillus*. *J.Bacterial.* 4. 75, 80
- Lakhdar, A., Scelza, R., Scotti, R., Rao, M. A., Jedidi H., Gianfredal, and Abdelly, C. (2010). The effect of compost and sewage sludge on soil Biologic activities in salt affected soil. *R. C. Suelo Nutr. Veg. lo (1)* : 40 – 47 (2010)

- Maianil, P. M and Anthofer, J (2007). Effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* on the yield of wheat (*Triticum aestivum*) and barley (*Hordeum vulgare*) in Kermanshah and Lorestan. Iran. Proceeding of the international workshop on: Improving karkheh Water Productivity – Basin September 10. 11. 2007. Karaj. Iran.
- Matuguchi, t., and Sakai, m. (1995). Influence of soil salinity on populations and composition of fluorescent *pseudomonas* in plant rhizosphere. Soil Sci. Plant Nutr: 41: 497 – 504
- Mengel, K. and Kirkby, E. A. (2001). Principles of plant Nutrition. Kluwer Academic publishers, Dordrecht / Boston / London. 849.
- Munns, R., (2002). Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment. 25, Issue 2 239
- Ofek, M., Ruppe, I. S., and Waisel, Y. (2006). Effects of salinity on Rhizosphere bacterial communities associated with different root types of *Vicia faba* L. Biosaline. Agriculture and salinity Tolerance in plants. 1 – 13.
- Okur, N., Cengel, M., Gocmez, S., Aksoy, v. (ed.): Anac – D. (ed.), Anac. s (ed.), Beltrao, J (ed.), and Ben – Asher, J. (2002). Influence of salinity on microbial respiration and enzyme activity of soils, Acta – Horticulturae, 573, 189 – 194.
- Omar, S. A., Abdel – Sater. M. A., Khallil. A. M., and Abd – Alla, M. H. (1994). Growth and enzyme activities of fungi and bacteria in soil salinized with sodium chloride, Folia Microbiologia, 1, 23 – 28.
- Polonenko, D. R., Dumbroff. E. B., and Mayfield, C. I. (1981). Microbial responses to salt – induced osmotic stress, plant and soil, 3, 415 – 426.
- Qadir, M., Ghafoor, A. and Mustafa, G. (2000). Amelioration strategies for saline soils: a review land Degrad. Dev., 11 : 501 – 521
- Ragab, M (1993). Distribution pattern of soil microbial population in salt – affected soils. In: Lieth H., Al – Masoon A. A. (Eds). Towards the rational use of high salinity tolerant plants. 1, deliberations about high salinity tolerant plants and ecosystems. Kluwer Academic publishers, Dordrecht, Netherlands, 467 – 472.
- Rai, R. (1990). Strain – specific salt tolerance and chemo taxis of *Azospirillum brasilense* and their Associative N₂ fixation with finger millet in saline calcareous soil 5th. Inter. Symposium on nitrogen fixation with nonlegumes, Florence, Italy 244. 247.
- Ravikumar, S., Kathiresanab, A. K., Thadedus M. G. Babu, M. S., Selvamam, and Shanthya (2004) Nitrogen – fixing *Azotobacter* from mangrove habitat and their utility as marine bio fertilizers. J. Experimental Marine Biology and Ecology. 312. Issue 1. 5 – 17.
- Renee, S. A, Fernand, A. G. Marcelo A. S. Nlorman, p. and Adrian, A. (1997) .Bacteria related to nitrogen cycle in salt – affected soils of Argentina. J. Basic microbiology. 38. Issue 3. 159 – 171.

Al-Issa, A. Kh.

- Rengasamy, p., Chittleborough, D., and Halyard, K, (2003) .Root zone constraints and plant – based solutions for dry land salinity. *Plant Soil*, 257, 249 – 260.
- Saring, S., Roberson, E. B., and Firestone, M. K, (1993). Microbial activity – soil structure: response to saline water irrigation *Soil Biol. Biochem*, 5, 93 – 697.
- Soussi, M. Ocana, A. and Liuch, C. (1998). Effects salt stress on growth , photosynthesis and nitrogen fixation in chick – pea (*Cicer arietinum*l) *J. Exp. Bot.* 49 : 1329 – 1337
- Stark, J. M., and Firestone, M. K. (1995) Mechanisms for soil moisture effects on activity of nitrifying bacteria. *App Environ Microbiol* , 61 , 218 – 221
- Subbo Rao, N. S. (1999). Crop response to recent microbial inoculation In: Subba Rao, N.S (Ed.). *Advances in Biological Nitrogen Fixation*. Oxford and IBH Publishing Co. 406 – 420.
- Tabtabai, M. A. (1981). Soil enzymes. In: Al Page, RH Miller, DR Keeney (eds). *Methods of soil analysis*. Part 2. Is Soc. Agron., Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, 903 – 947?
- Tejada M., Garcia C., Gonzalez, J. L., and Hernandez, M. T., (2006). Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation. Influence on the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biol. Biochem.* 38. 1413 – 1421
- Tepsic, K., Gunde – Cimerman, N., and Frisvad, J. C., (1997). Growth and mycotoxin production by *Aspergillus fumigatus* strains isalated from a saltern. *FEMS Microbiology letters* 157, (1), 9 – 12
- Thalman, A. (1968). Zur methodic der Bestimmung der Dehydrogenase – Aktivitate in Boden mittles triphenytetrazolium – chloride (TTC). *landw. Forsch.* 21, 249. 258.

EFFECT OF SALT STRESS ON SOME FREE LIVING NITROGEN FIXING BACTERIA IN THE SOIL (1)

Al-Issa, A. Kh.

Soil and Soil Reclamation Department, Fac. of Agric., Al-Baath Univ., Homs, Syria.

ABSTRACT

The current investigation was carried out to evaluate the effect of salt stress in El- Forat Basin (Syria) on some free living nitrogen fixing bacteria in the soil. Soil samples were taken from different sites in saline soils: (3.34, 6.01, 9.48, 11.66, 15.31, 21.8, 50.8 and 126.7 dS/m).

The obtained result, showed reduction in number of Total bacterial count, Fungi and nitrogen fixing bacteria under saline soil conditions.

Started with 6.01 dS/ m. In addition, drastic effect on occurrence as number *Azotobacter* or clostridia in saline soils with 50.8 and 126.7 dS/m. However, pronounced persistence of *Azospirillum* was determined under the same condition.

Bacterial isolates belonging to genus *Azotobacter* and *Azospirillum* were used in pot experiment to study the effect of different salt concentrations (sodium chloride)

(0, 0.78, 2.3 4, 4.21, 6.25. and 9.37 dS/m) on the productivity of wheat plant inoculated with their isolates.

The result showed that inoculation by *Azotobacter* and *Azospirillum* increased the total bacterial count, total nitrogen fixing bacteria and dehydrogenase activity as compared with uninoculated treatment, but clostridia counts was increased in the uninoculated soils under high salt concentrations.

The isolates from Syrian soils showed adaptation in high salt concentrations and succeeded colonize the root plant. Therefore we could confirm successfully using of these isolates as Biofertilizers for saline soils to enhance plant productivity.

قام بتحكيم البحث

كلية الزراعة – جامعة المنصورة
معهد الكفاية الانتاجية – جامعة الزقازيق

أ.د / سامى عبد الحميد حماد
أ.د / محمود محمد صبح حاييس