J. Soil Sci. and Agric. Engineering, Mansoura Univ., Vol.1(11): 1101 - 1115, 2010

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 للنتروجين الجوي بالشكل الحر في التربة (1)

عبدالله خلف العيسى
قسم التربة واستصلاح الأراضي – كلية الزراعة – جامعة البعث – حمص – سورية

الملخص

هدف البحث إلى دراسة تأثير الإجهاد الملحي في حوض الفرات في الجمهورية العربية السورية، على بعض الأجناس البكتيرية المثبته للنتروجين الجوي بالشكل الحر، وعزل المتحمل منها للملوحة بغية استخدامه كلقاحات ميكروبية، من أجل ذلك تم أخذ عينات من الترب متزايدة في قيمة درجة التوصيل الكهربي (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 المثبته للنتروجين 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 و50.8، في حين كان هناك وجود *Azospirillum*. تأثرت أعداد *Paenibacillus polymyxa* سلباً ابتداءً من درجة ملوحة التربة 6.01 dS/m. تم تنقية عزلات من *Azotobacter* و*Azospirillum* من ترب متملحة من حوض الفرات، لقحت فيها حبوب القمح التي زرعت في تجربة أصص، رويت 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 *Azotobacter* و*Azospirillum* أدى إلى زيادة أعداد البكتيريا غير ذاتية التغذية، والأعداد الكلية للبكتيريا المثبته للنتروجين الجوي بصورة حرة بالمقارنة مع المعاملات غير الملقحة. زاد أعداد *Clostridium* في ترب المعاملات غير الملقحة.

أظهرت النتائج أن عزلات *Azotobacter* و*Azospirillum* 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 مبشرة 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، فثلث الأراضي الزراعية في الكرة الأرضية متأثرة بالملوحة (Qadir *et al*2000). وتعد ملوحة التربة من المحددات الرئيسة 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 a l*1998) واستقلاب النتروجين (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 المثبته 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 المثبته للنتروجين الجوي بشكل حر، وإلى انخفاض في نشاط النتروجينيز، على الرغم من أن بعض البكتيريا المثبته 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 السلبي لأعداد *Azotobacter* مع محتوى التربة من الصوديوم القابل للتبادل، وعمق التربة، والـ P^H، في ترب بعض المناطق شبه الجافة بالأرجنتين، ويرى (Rai 1990) أن تأثر البكتيريا المثبته 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 ثابته.

بالمقابل أشار (Matuguchi and Sakai 1995) إلى عدم تأثر 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 ملوحتها 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 brasiline* على تحمل درجة الملوحة العالية، وأن هذه البكتيريا استطاعت النمو في ريزوسفير النبات حتى في ظروف الإجهاد الملحي (Hartman 1988)، أدى تلقيح التربة بالـ *Azospirillum* و *Azotobacter* في الأراضي الملحية، إلى زيادة الأعداد الكلية لميكروبات التربة، وكذا أعداد البكتيريا المثبته للنتروجين الجوي بالشكل الحر. وتم توفير 25 – 33 % من كميات السماد الآزوتي (Ali *et al* 2002). كما عمل التلقيح بالـ *Azotobacter* و الـ *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 انتاجيتها، الأمر الذي يستدعي البحث عن إيجاد طرائق علمية مختلفة لإدارة هذه الأراضي، لذا فإن لدراسة سلوك بعض الأجناس البكتيرية المثبتة للنتروجين الجوي بالشكل الحر في ظروف الإجهاد الملحي يعد أمراً ملحاً، وذلك لمعرفة مدى تأثر هذه البكتيريا بظروف تلك التربة، ولإمكانية عزل المتحمل منها للإجهاد الملحي بصورة نقية، تمهيدا لاستخدامه كمخصبات حيوية.

هدف البحث:

دراسة تأثر بعض الأجناس البكتيرية المثبته للنتروجين الجوي بصورة حرة، بالإجهاد الملحي في حوض الفرات في الجمهورية العربية السورية، وعزل أجناس منها (آزوتوباكتر والآزوسبيريلليوم)، ثم تلقيح حبوب القمح فيها، من خلال تجربة أصص ، رويت بتراكيزات مختلفة من كلوريد الصوديوم. بغية معرفة تأثير التلقيح الميكروبي، في النشاط البيولوجي للتربة. وقدرة هذه الأجناس على التأقلم مع ظروف الري بمياه ذات درجات ملوحة مختلفة.

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 (مزروعة بالقطن) و 50.8 – 126.7 (غير مزروعة) جدول 1 و2.

جدول 1: بعض الخواص الفيزيائية للترب من حوض الفرات الأسفل

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

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
	ملغ/كغ			ميلى مكافئ / لتر							
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

بالاضافة إلى إجراء تجربة أصص زرعت بالقمح، ورويت بمياه متفاوتة الملوحة بمحاليل من كلوريد الصوديوم (dS/ m): 0.78 – 2.34 – 4.21 – 6.25 – 9.37 بالاضافةالي معاملة المقارنة والتي يقتصر فيها الري بالماء المذاب فيه كلوريد الصوديوم، من أجل معرفة تأثير الري بمياه متفاوتة الملوحة في الأجناس المثبته 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 المثبته للنتروجين الجوي بشكل حر التالية:

Azotobacter: نميت على البيئة السائلة Ashby (Abdel – Malek and Ishac 1968). تم حساب أعدادها بطريقة العدد الأرجح MPN technique

Azospirillium: نميت على البيئة نصف السائلة (Dobereiner *et al* 1976). تم حساب أعدادها بطريقة العدد الأرجح MPN technique.

Clostridium: نميت على البيئة السائلة المسماة بيئة Winogradsy. (Allen1961) حيث وضع في أنابيب الاختبار أنابيب دروهام للكشف عن انطلاق الغاز، وحدوث التخمر في الظروف اللاهوائية. تم حساب أعدادها بطريقة العدد الأرجح MPN technique.

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

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

تم حسابها باستخدام البيئة الغذائية الصلبة Watanabi (Allen1961) وتم حساب أعدادها بطريقة الأطباق المصبوبة.

إلى جانب البكتيريا المثبته للنتروجين الجوي بالشكل الحر في التربة آنفة 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 *Azospirillum* و *Azotobacter* .

أجريت تجربة الأصص على النحو التالي:

- ملء كل أصيص بـ 4 كغ من تربة رملية تحليلها بالجدول3 و4 (بعض خواص التربة المختلفة)

جدول 3: بعض الخواص الفيزيائية لتربة الأصص

رمل %	سلت %	طين %	القوام
72.15	9.70	18.15	رملى

جدول 4 : بعض الخواص الكيميائية لتربة الأصص

EC عجينة مشبعة	pH (2.5:1)	Mg^{++}	Na^{++}	K^{+}	OM %	$CaCO_3$	N	P	K	Cu	Zn	Mn	Fe
		ميلى مكافئ / لتر					مغذيات كبرى (mg/kg)			مغذيات صغرى (mg/kg)			
1.33	7.83	1.78	7.52	0.95	0.62	1.76	37	6.92	195	0.28	0.46	2.68	1.51

- تركت 6 معاملات رويت بالتراكيز الملحية (dS/ m): 0.78 – 2.34 – 4.21 – 6.25 – 9.37 بالاضافة لمعاملة المقارنة، دون أن تلقح بذورها بالملقح البكتيري المحضر.
- لقحت حبوب 6 معاملات أخرى بالملقح البكتيري قبيل الزراعة، ورويت بنفس التراكيز الملحية للمعاملات غير الملقحة.

وبهذا يكون عدد معاملات التجربة 12 معاملة

- خصص لكل معاملة3 مكررات (أصص)
- صممت التجربة بتصميم القطاعات العشوائية الكاملة.
- تم تلقيح حبوب القمح باللقاح الميكروبي قبيل الزراعة مباشرة.
- وضعت الأسمدة الكيميائية بشكل متساوي(من الاسمدة الفوسفاتية بعدل 15 وحدة (فو $_2$ا$_5$) والأ سمدة البوناسية بمعدل 24 وحدة بو $_2$أ/ فدان وخفضت الأسمدة النتروجينية الي 40% من المعدل 60 وحدة آزوت) لكل معاملات التجربة.
- خفضت كمية الأسمدة النتروجينية إلى 40% في المعاملات الملقحة بالأجناس البكتيرية المثبته للنتروجين الجوي.
- رويت الأصص 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 الديهيدروجينيز بطريقة(Thalmann 1968).

النتائج والمناقشة

تأثير الإجهاد الملحي في بعض الأجناس البكتيرية المثبته 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 ازدات درجة ملوحة التربة لتصل إلى 50.8dS/m و 126.7dS/m، فتدنت أعدادها إلى 2.64 و2.24 ألف/ 1غ 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 مضطرداً مع ازدياد درجة ملوحة التربة، لكن بشكل عام بقيت أعداد هذه المجموعة الميكروبية أقل في جميع الترب المدروسة مقارنة مع التربة ذات

درجة الملوحة المساوية3.34 dS/ m، ووفقاً لـ (Stark and Fireston1995) تتسبب الملوحة المرتفعة في زيادة جفاف التربة، وبالتالي نزع الرطوبة من الخلية البكتيرية، الأمر الذي يؤدي إلى 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 الملحى فى أعداد البكتريا متباينة التغذية (غير ذاتية التغذية)، والفطريات والأعداد الكلية للبكتريا المثبتة للنتروجين الجوى فى حوض الفرات - سورية (العدد بألف/ 1 غ تربة جافة تماما)

المعاملات EC dS/m	الاستخدام الزراعى (المحصول)	أعداد البكتريا متباينة التغذية	أعداد الفطريات	أعداد البكتريا الكلية المثبتة للنتروجين الجوى
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		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، ذوات درجة الملوحة50.8 و126.7، 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 مضطرداً دائماً بزيادة درجة ملوحة التربة، لكن في كل الأحوال انخفضت أعداد الفطريات ابتداء من الترب ذات درجة الملوحة 6.01 dS/m، وبهذا الصدد أكد (Saring *et al* 1993) بأن وجود تراكيز عالية من الأملاح الذائبة (وهذا في الواقع شأن التربة المدروسة) في الترب المتأثرة بالملوحة (5 dS/m أو أكثر) كاف لحدوث تراجع في نشاط الأحياء الدقيقة وخصوبة التربة. غير أن النتائج التي تم التوصل إليها بخصوص تأثير الملوحة في فطريات التربة، تناقض 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 الملحى فى أعداد *Azotobacter* و *Azospirillum*، *Clostridium* و *Paenibacillus Polymyxa* فى حوض الفرات (العدد بألف/ 1 غ تربة جافة تماما)

المعاملات EC dS/m	الاستخدام الزراعى (المحصول)	*Azotobacter*	*Azospirillum*	*Paenibacillus Polymyxa*	*Clostridium*
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		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 6.01dS/m، بيد أن أعدادها لم تنخفض بشكل مضطرد مع ازدياد درجة الملوحة. إلى أن وصلت درجة ملوحة التربة إلى 50.8 و126.7، عندها انخفضت الأعداد الكلية لمثبتات النتروجين بشكل حاد، ليصل هذا الانخفاض إلى 1.02، و 0.68 ألف/ 1غ تربة جافة على التوالي.

من الملفت للإنتباه وجود بكتيريا مثبته للنتروجين الجوي (على الرغم من قلة أعدادها) في ترب ذوات درجة ملوحة تصل إلى 50.8 و126.7، وهنا لابد أن نذكر ما أشار إليه (Galinskia 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 مثبته 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 أيضا (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 و126.7 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 علي 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 ذوت درجة الملوحة العالية، فإن أعداداً منها استطاعت أن تتحمل درجات الملوحة التي وصلت إلى 50.8 و126.7، بينما لم تتحمل الـ *Azotobacter* هكذا درجات ملوحة، في حين أبدت *Azospirillum* في هذه الترب على مايبدو تكيفاً وظيفياً. وقد بينت أبحاث عدة قدرة الـ *Azospirillum* على تحمل درجات الملوحة العالية منها، (Bashan et al, 1995) وهنا أيضاً لابد 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 لابد هنا من الإشارة إلى ما ذكره (Subbo Rao1999)، بأنه تم في الباكستان، التعرف على *Azospirillum halopraeferans* متأقلم مع الظروف القاسية المتعلقة بدرجة الحرارة (40 م^{o}) وتراكيز الملح العالية.

لوحظ عند دراسة تأثير درجة الملوحة في أعداد البكتيريا المثبته للنتروجين الجوي بشكل حر في التربة التابعة للجنس *Clostridium*،أن أعداد هذه البكتيريا لم تتأثر بدرجات الملوحة التي تراوحت بين 9.48 و15.31 بشكل كبير، لكن انخفضت أعداد *Clostridium* بصورة واضحة في التربة ذات درجة الملوحة 21.8، حيث سجل أدنى عدد لها (0.31 ألف/ 1غ تربة جافة تماماً).

ولم تظهر النتائج أي وجود للـ *Colstridium* في الترب ذوات درجة الملوحة، 50.8 و126.7. وبهذه النتيجة يكون قد تشابهت هذه المجموعة البكتيرية مع الـ*Azotobacter* في عدم تواجدها مع هذا الحيز من درجات الملوحة0

تجدر 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 علي أن هذه البكتيريا متبوغة (متجرثمة) وتعمل بصورة نشطة (إعاشية) في الظروف اللاهوائية.

عند دراسة تأثير الإجهاد الملحي علي أعداد *Paenibacillus polymyxa*، وجد أن أعدادها قد تأثرت سلباً بازدياد درجة ملوحة التربة، وقد بدأ التأثير السلبي عند درجة ملوحة 6.01dS/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 / 1غ تربة، نجدها 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 و126.7، فيلاحظ الانخفاض الشديد لأعداد هذه المجموعة البكتيرية المثبته للنتروجين الجوي بشكل حر، حيث تدنت أعدادها إلى 0.21 و 0.17 ألف/ 1غ 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 المثبته للنتروجين الجوي المدروسة، ويعود السبب إلى كون هذه البكتيريا تلجأ إلى التبوغ (التجرثم) في الظروف غير المناسبة (زيادة درجة الملوحة والجفاف)، مما يعطيها الفرصة للبقاء بأعداد أكثر من باقي المجاميع البكتيرية الأخرى المثبته 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 يخفض من امتصاص النبات لهذا الكاتيون، الأمر الذي يساعد النبات على العيش في بيئات ملحية (Davery and Tool 2000)

من خلال دراستنا لمدى تأثر بعض الأجناس البكتيرية المثبته للنتروجين الجوي بالشكل الحر في أعداد بعض البكتيريا المثبته للنتروجين بصورة حرة في التربة، يلاحظ قلة أعدادها بشكل عام - بصرف النظر عن تأثير درجة الملوحة - والسبب يمكن أن يعود إيضاً 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 المثبته للنتروجين الجوي بصورة حرة.

من اللافت للانتباه والاهتمام، وجود بعض الأجناس البكتيرية المثبته 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 علي تنظيم العمليات البيوكيميائية، وتشارك في دورة العناصر الغذائية، ويمكن أن تستخدم كمؤشر للنشاط الميكروبيولوجي بصورة عامة (Tabtabai 1981). ويعد نشاط انزيم الديهيدروجينيز مؤشراً لنظام الأكسدة والإرجاع البيولوجي في التربة Indicater of biological redox – systems، وهو مقياس لشدة العمليات الاستقلالية للكائنات الحية الدقيقة في التربة (Frankenberger and Bingham 1982). يلاحظ من الجدول(7) التأثر السلبي لنشاط انزيم الديهيدروجينيز أبتداء من درجة الملوحة 6.01 dS/m. وبلغ التأثر السلبي حده الأعظمي عندما ازدادت درجة ملوحة التربة إلي 126 dS/m وهذة النتيجة تتفق مع ما توصل إلية (Frankenberger and Bingham 1982) من أن ملوحة التربة تؤدي إلي تثبيط نشاط الأنزيمات بصورة عامة. وهذة 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 الى أكثر من 6.01 dS/m. وهنا لابد من الإشارة إلى ما توصل إليه (Bader and saber 1983) من أن الري بمياة 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 نشاطة بشكل معنوي عند درجة ملوحة التربة6.01 dS/m.

جدول 7: تأثير الإجهاد الملحي في نشاط أنزيم الديهيدروجنيز في بعض ترب حوض الفرات تبعا لدرجة ملوحتها. µ g TPF/ gr dry soil

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

وبهذا الصدد، لابد من التنوية إلي ما توصل إليه (Batra and Manna 1997) عند دراستهما لتر ب مختلفة الملوحة في الهند، حيث تبين لهما أن نشاط انزيم الديهيدروجين 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 الديهيدروجينيز لم يكن مرتبطاً فقط بقيم الناقلية الكهربائية للتربة، وإنما بالكربون العضوي، والإستخدام الزراعي (المحصول) أيضاً.

تأثير التلقيح بخليط من *Azospiriliuum* و*Azotobacter* في تجربة أصص مزروعة بالقمح، على بعض الأجناس البكتيرية المثبته للنتروجين الجوي بصورة حرة، عند الري بمياه مختلفة درجة الملوحة:

مع تفاقم مسألة العجز المائي في الوطن العربي، وبسبب تركز معظم الزراعات في المناطق الجافة وشبه الجافة، ونتيجة الطلب المتنامي على المياه لتلبية الاحتياجات المتزايدة من الغذاء، فقد بات من الأمور الملحة استخدام بدائل مناسبة للمياه العذبة، لذا كان من الضروري دراسة مدى تأثر المجاميع الميكروبية الهامة من الكائنات الحية الدقيقة في التربة، عند الري بمياه مالحة، ومعرفة دور بعض الأجناس البكتيرية المثبته للنتروجين الجوي بشكل حر، في ظروف الإجهاد الملحي .

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

عند دراسة تأثير الري بمياه مختلفة الملوحة، علي أعداد البكتيريا غيرذاتية 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 و9.37. 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 dS /m – 2.34 – 4.21 ، إلا أن أعدادها . ذادت 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 الترب الملقحة بالآزوتوباكتر، ذلك باعتبار أن الفائدة الناجمة عن التلقيح بالآزوتوباكتر والآزوسبيريليوم 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 المثبته للنتروجين الجوي بصورة حرة سلباً عند الري بمياه ذوات درجة ملوحة 6.25 dS /m و9.37، 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 dS/ m –2.34 – 4.21 (Bashan and Bashan, 2010).

جدول 8: تأثير الرى بمياة مختلفة الملوحة فى أعداد البكتريا غير ذاتية التغذية والأعداد الكلية للبكتيريا المثبته للنتروجين الجوى (العدد بالمليون/ 1 غ تربة جافة تماما)

المعاملات درجة الملوحة مياة الرىdS/m.	أعداد البكتريا غير ذاتية التغذية	الأعداد الكلية للبكتيريا المثبتة للنيتروجين الجوى
غير ملقحة		
معاملة المقارنة	1.26	0.860
0.78	1.33	0.938
2.34	1.09	0.963
4.21	0.838	0.932
6.25	0.621	0.312

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 ذوات 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 للـ *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 الآزوتوباكتر في الترب الملقحة مقارنة مع الترب غير الملقحة، وهذه النتائج تتوافق مع ماتوصل إليه Ali *et al*, 2002)،وظهرت هذه الزيادة في أعداد الآزوتوباكتر 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)

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

إن النتائج التي تم التوصل إليها من خلال دراسة تأثير التلقيح ببعض الأجناس البكتيرية المثبته للنتروجين الجوي بصورة حرة، تشير إلى أن العزلات المأخوذة من الترب 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 مبشرة، لكن يتطلب الأمر الاستمرار في تجريبها في مناطق بيومناخية مختلفة.

جدول 10: تأثير الرى بمياة مختلفة الملوحة فى أعداد *Paenibacillus polymyxa* و *Clostridium*

(العدد بالألف/ 1 غ تربة جافة تماما)

Clostridium	*Paenibacillus polymyxa*	المعاملات درجة الملوحة مياة الرىds/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 dS /m و9.37. إلا أن أعدادها في ترب المعاملات الملقحة، وعند الري بمياه ذات درجات ملوحة 0.78 dS /m – 2.34 – 4.21، كانت أعلى من أعدادها في ترب المعاملات غير الملقحة، أن التأثير الإيجابي للتلقح لم يظهر عند الري بمياه ذوات درجات ملوحة 6.25 dS /m و9.37 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 المثبته للنتروجين الجوي .

على عكس البكتيريا الأخرى المدروسة المثبته للنتروجين الجوي، لوحظ أن البكتيريا التابعة للجنس *Clostridium* في ترب المعاملات غير الملقحة، قد ازدادت أعدادها عند الري بمياه ذات درجات ملوحة 6.25 dS /m و9.37. ولم يؤثرالري 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 تأثر *Clostridium* بالري بمياه ذات درجات ملوحة متزايدة ناجم أيضاً عن كون هذه البكتيريا تلجأ إلى التبوغ (التجرثم) في ظروف الإجهادات المختلفة التي تتعرض لها التربة، ومن بينها الإجهاد الملحي.

تأثير الري بمياه مختلفة الملوحة في نشاط أنزيم الديهيدروجينيز بوجود التلقيح البكتيري وبدونه.

ازداد نشاط أنزيم االدهيدروجينيز 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 المحلله Hydrolases (البروتيئيز والفوسفاتيز) بينما لم تؤثر في أنزيمات الأكسدة والإرجاع Oxide reeducates (الديهيدروجينيزوالكتيليز)

جدول 11: تأثير الرى بمياة مختلفة الملوحة فى نشاط أنزيم الديهيدروجينلز بوجود التلقيح الميكروبى وعند عدمة (µg TPF/gr dry soil)

المتوسط	للمعاملات الملقحة (A)	للمعاملات غير الملقحة (B)	المعاملات درجة الملوحة مياة الرىds/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
(A) = 3.84. (B) = 6.65. (A x B) = 6.62.

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 ترب المعاملات الملقحة، فقد ازداد نشاط أنزيم الديهيدروجينيزفي 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 dissoliving 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 Sciense, 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 aird regions. Aird Land Research and management. 11. Issue 3. 295 – 303.

Cordovilla, M. P., Ligero, F., and LIuch, C. (1994). The Effect of salinity on N_2 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 *Cynododactylon* to prolonged water deficits under saline conditions. Plant and Soil. 148. 239 – 251

Döbereiner, J., Marriel, L. E., and Nery, M. (1976). Ecological distribution of *Spirillum lipoferum Beijernick*. *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 *Azospirillium* spp. In: klingmüller. W. (Ed). *Azospirillium* 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 *Azospirillium* on the yield of wheat *(Triticum aestivuml)* and barley (*Hordeum*

vulgarel) 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 fluoresceut *pseudomonas* in plant rhizosphere. Soil Sci. Plant Hutr: 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, l. 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. Kluwes Academic publishers, Dordrecht, Netherlands, 467 – 472.

Rai, R. (1990). Strain – specific salt tolerance and chemo taxis of *Azospirillum brasilense* and their Associative N_2 fixation with finger millet in saline calcareous soil 5^{th}. 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.

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 chich – pea (*Cicer arietinuml*) 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 Microbia*l* , 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

Thalmann, 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

أ.د / سامى عبد الحميد حماد — **كلية الزراعة – جامعة المنصورة**

أ.د / محمود محمد صبح حايس — **معهد الكفاية الانتاجية – جامعة الزقازيق**