The North African Journal of Scientific Publishing (NAJSP)
مجلة شمال إفريقيا للنشر العلمي (NAJSP)
E-ISSN: 2959-4820
Volume 3, Issue 3, 2025
Page No: 89-98
Website: https://najsp.com/index.php/home/index
SJIFactor 2024: 5.49 معامل التأثير العربي (AIF) 2024: 0.71 ISI 2024: 0.696

تأثير مركبات الحديد الثلاثية (Fe_2O_3 ،$FeCl_3$) على الريزوبيا المعزولة من نبات البرسيم الحجازي (*Medicago sativa* L.) النامي في تربة وادي الشاطئ

صالحة علي سلام بقي[1*]، خديجة عبدالله ابو عنيزة[2]، مسعودة عمر خليفة[2]، نجية زيدان برطاطة[2]، وليد طاهر سعد[3]
[1]قسم الأحياء، كلية التربية، تراغن، جامعة فزان، ليبيا
[2]قسم الأحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة سبها، ليبيا
[3]مكتب الزراعة والثروة الحيوانية، شحات، ليبيا

The effect of trivalent iron compounds ($FeCl_3$, FeO_3) on rhizobia isolated from alfalfa (*Medicago sativa* L.) growing in Wadi Al- Shati soil

Salhah A. S. Baqqi,[1*] Khadija A. Abu Anizah[2], Massoudah O. Khalifa[2], Najia Z. Bertata[2], Waleed T. Saad[3]
[1]Department of Biology, Faculty of Education, Taraghan, University of Fezzan, Libya
[2]Department of Microbiology, Faculty of Science, University of Sebah, Libya
[3]Office of Agriculture and Animal Resources, Shahat - Libya

*Corresponding author	sal.bagi@fezzanu.edu.ly	*المؤلف المراسل
تاريخ النشر: 2025-07-27 | تاريخ القبول: 2025-07-15 | تاريخ الاستلام: 2025-06-04

الملخص:
ثلاث عزلات ريزوبية من نبات البرسيم الحجازي *Medicago sativa* L.، جُمعت من إحدى المزارع بمنطقة تاروت بوادي الشاطئ، إضافة إلى السلالة المرجعية *Ensifer meliloti*. أختبرت العزلات إلى ستة تراكيز من مركبات الحديد الثلاثية $FeCl_3$ و$Fe2O_3$: 50، 100، 200، 300، 400، 500 مايكروجرام/ ملليتر. بينت النتائج أن كل العزلات لم تتفاعل مع صبغة أحمر الكونغو، وبالتالي أمكانية انتمائها إلى جنس *Ensifer* السريع النمو. قطر المستعمرات كبير الحجم > 1مم بعد 48 ساعة من التحضين. تباينت العزلات في استجابتها لتراكيز مركبات الحديد الثلاثية، حيث كانت معظمها حساسة للتركيز 400µg، وكلها لم تستطع النمو في التركيز 500µg، بينما كانت مقاومة للتركيز 50µg. التراكيز المنخفضة من مركبات $FeCl_3$ (50µg)، والتراكيز (50, 100, 200µg)، من $Fe2O_3$ كانت محفزة لنمو العزلات، وأعطت نموًا أفضل من الشاهد. التحليل الإحصائي لم يظهر فروق ذات دلالة احصائية بين العزلات في استجابتها للتراكيز المختلفة من مركبات الحديد. العزلات كانت متأقلمة ومتكيفة مع الظروف البيئية المعزولة منها واختلفت بذلك عن السلالة المرجعية خاصة في التراكيز المرتفعة من مركبات الحديد.

الكلمات المفتاحية: عزلة ريزوبية، سلالة المرجعية، صبغة أحمر الكونغو، حساسة.

Abstract:
Three rhizobia isolates from alfalfa (*Medicago sativa* L.) were collected from a farm in the Tarout area of Wadi al-Shati, in addition to the reference strain *Ensifer meliloti*. The isolates were tested at six concentrations of iron ($FeCl_3$ and $Fe2O_3$) compounds: 50, 100, 200, 300, 400, and 500µg/ml. The results showed that all isolates did not react with Congo red dye, thus proving their affinity to the fast-growing genus *Ensifer*. Large colonies >1 mm in diameter were formed after 48 hours of incubation. The isolates varied in their response to $FeCl_3$ and $Fe2O_3$ concentrations, with most being sensitive to

400µg, all unable to grow at 500µg, and others resistant to 50µg. Low concentrations of $FeCl_3$ (50µg) and concentrations of $Fe2O_3$ (50, 100, 200µg) stimulated the growth of the isolates and gave better growth than the control. Statistical analysis did not show any statistically significant differences between the isolates in their response to different concentrations of iron compounds. The isolates were acclimatized and adapted to the environmental conditions from which they were isolated and thus differed from the reference strain, especially at high concentrations of iron compounds.

Keywords: Rhizobia Isolate, Reference Strain, Congo Red Stain, Sensitivity.

Introduction المقدمة

تمتاز المحاصيل البقولية بقدرتها العالية على تثبيت نتروجين الهواء الجوي وتختلف في مقدار ما تثبته اعتمادا على نوع النبات البقولي، الصنف، نوع السلالة الريزوبية، الظروف البيئية، ومقدار ما يجهز للنبات من عناصر مغذية ضرورية (هذيلي وآخرون، 2007). نتروجين الهواء الجوي يعد المصدر الأساس للنتروجين في البروتينات والأحماض النووية والمكونات النيتروجينية الحيوية الأخرى في جميع الخلايا الحية. تمتلك بعض الكائنات الحية بدائية النواة prokaryoticالقدرة على تحويل غاز النتروجين إلى أمونيا، بعملية تعرف بالتثبيت الحيوي للنتروجين Biological Nitrogen Fixation، وأن 90% من النتروجين المضاف إلى التربة يأتي طبيعيًا عن طريق التثبيت الحيوي بواسطة أنواع معينة من الميكروبات تشمل البكتيريا، السيانوبكتيريا والفطريات. من البكتيريا المثبتة لنيتروجين الهواء الجوي بكتيريا العقد الجذرية Rhizobia، وهي بكتيريا متحركة بأسواط محيطية أو قطبية، عصوية الشكل، سالبة لصبغة جرام، غير مكونة للأبواغ، تستوطن التربة، وتتواجد بشكل مفرد أو بشكل أزواج، كما يمكن تنميتها في المختبر على أوساط غذائية اصطناعية (Ngakou et al., 2009; Setu et al.,2019).

تستخدم العديد من المركبات الكربوهيدراتية كمصدر للكربون، وبعضها يفضل المصادر النيتروجينية، وغالبًا تنتج حامض ولا تكون غاز، تنتمي إلى طائفتي alpha and beta proteobacteria، في الوقت الحاضر تم وصف أكثر من مائة وأربعة وعشرون نوعًا، تعود إلى خمسة عشر جنسًا، بعض هذه الأجناس انتهازيًا يسبب الأمراض وتلوث العديد من المحاليل (Tortora et al., 2004; Howieson and Dilworth, 2016). تدخل في علاقة تكافلية مع النباتات البقولية. نبات البرسيم الحجازي *Medicago sativa* L. يعد واحدًا من البقوليات ذات الأهمية الاقتصادية الأولى في ليبيا بصفة عامة ومنطقة وادي الشاطئ بصفة خاصة، يستخدم علفًا جيدًا للحيوانات، ويعمل على تحسين خواص التربة، كما أن تحلل جذوره مع بقايا النبات الأخرى يعيد إلى التربة كمية من المواد العضوية والمواد النيتروجينية المتواجدة في العقد الجذرية والتي تُعد عاملًا أساسيًا في المحافظة على خصوبة التربة؛ فيضيف كمية عالية من النيتروجين تتراوح من 100- 250 كجم نيتروجين للهكتار سنويًا (التكريتي وآخرون، 1981).

حبى الله ليبيا بالعديد من الموارد الطبيعية، الحديد واحدٍ منها، يتواجد في المنطقة الجنوبية خاصةً في الكفرة، جبل العوينات، ووادي الشاطئ (الأطلس التعليمي، 1985). وادي الشاطئ يمثل المصدر أو المخزون الرئيس للحديد في ليبيا، حيث بينت نتائج الدراسات الجيولوجية والتعدينية التي أجريت في سبعينيات القرن الماضي إلى وجود احتياطي مهم من خامات الحديد في هذه المنطقة وخاصة بموقعي أشكدة وجنوب تاروت المنطقة المستهدفة للدراسة (المؤتمر العربي للثروة المعدنية، 2010). مجهريات التربة حساسة جدًا للتراكيز المتوسطة والعالية للمعادن الثقيلة بما فيها الحديد، حيث أنها تؤثر وعلى حدٍ سواء على كلا المتكافلين النبات والريزوبيا (Giller et al., 1998).

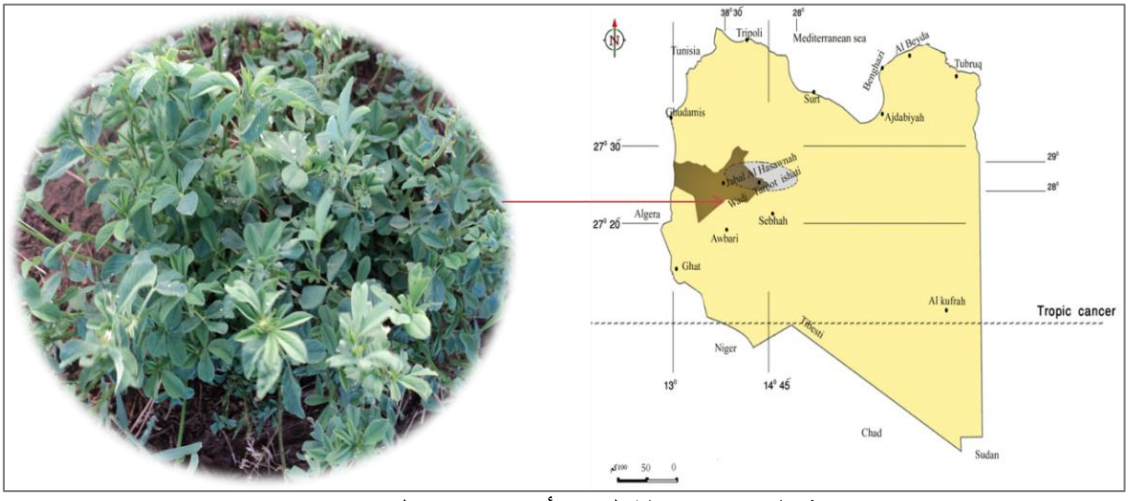
يعد الحديد أحد العناصر المغذية الصغرى وتحتاجه النباتات البقولية بكميات تفوق احتياجاتها من بقية العناصر لعملية التثبيت في النبات العائل من خلال مشاركته في العديد من المجموعة التكميلية للعديد من الأنزيمات والسايتوكرومات، وبعض البروتينات الأخرى، كذلك يساعد في تكوين اليخضور Chlorophyll، بالرغم من أنه لا يدخل في تركيبه (Hopkins, 1999). كذلك للحديد دور مهم في العلاقة التكافلية بين النبات البقولي والريزوبيا ويلعب أيضًا دورًا مهمًا في وظيفة العقد الجذرية فهو يدخل في تركيب أنزيم Nitrogenase بشقيه الكبير والصغير المسئول عن تثبيت نيتروجين الهواء الجوي، علاوة على ذلك فهو يدخل في تركيب الهيموجلوبين البقولي Leghemoglobin (Kim and Rees,

1992). عليه تهدف هذه الدراسة إلى عزل بكتيريا العقد الجذرية من نبات البرسيم الحجازي المزروع بصورة نقية واختبار قدرة هذه العزلات على تحمل مستويات مختلفة من مركبات الحديد الثلاثية $FeCl_3$، Fe_2O_3 ومقارنتها بسلالة مرجعية.

المواد وطرق العمل Materials and Methods

جمع العقد الجذرية Collection of root nodules:

جمعت العقد الجذرية لنبات البرسيم الحجازي *Medicago sativa* L. من إحدى مزارع منطقة تاروت بوادي الشاطئ (شكل 1)، الواقعة في الجنوب الليبي إلى الشمال من مدينة سبها بمسافة تقدر بحوالي 130 كم تقريبًا.



شكل 1: خريطة ليبيا (أماكن جمع العينات).

وسط النمو Medium growth:

استخدم لعزل الريزوبيا وحفظها آجار مستخلص الخميرة والمانيتول Yeast Extract Mannitol Agar (YEMA) (Vincent, 1970)، يحتوي على المركبات التالية (G/ L): سكر Mannitol (10)، Yeast extract (1)، NaCl (0.1)، $MgSo_4. 7H_2O$ (0.2)، $K_2HPO. 3H_2O$ (0.46)، K_2HPO (0.12)، pH7.2 و Agar (15). بعد التعقيم أضيف للوسط صبغة أحمر الكونغو المعقمة Congo Red (10 ml /L) (Howieson and Dilworth, 2016).

عزل البكتيريا من العقد الجذرية Isolation of bacteria from root nodules:

عُزلت البكتيريا من العقد الجذرية (Vincent, 1970)، حيث غُسلت العقد جيدًا بماء الحنفية لإزالة الأتربة والطين، ثم غُمرت في الكحول الإيثيلي (97%)، بعدها طُهرت بمحلول كلوريد الزئبق الحامضي $HgCl_2$ (0.1%) لمدة تتراوح من 3- 5 دقائق، ثم غُسلت بالماء المقطر والمعقم عدة مرات، ثم وضعت في أطباق بتري معقمة محتوية على 1 مل ماء مقطر ومعقم، ثم سُحقت بساق زجاجي معقم. بإبرة تلقيح معقمة أُخذ ملء عبوتها من عصير العقدة ووضعت في أطباق بتري معقمة ومُزجت بالوسط المغذي YEMA المنصهر والمبرد. تُركت الأطباق حتى تصلب الوسط، ثم حُضنت على درجة حرارة 2±28°م لمدة سبعة أيام، مع الفحص اليومي للأطباق. بعد مرور فترة التحضين فُحصت الأطباق واختيرت المستعمرات التي أعطت صفات الريزوبيا، والمتمثلة في والحواف المستقيمة للمستعمرة وانتاج الصمغ Gum، ثم خُططت على أطباق بتري حاوية على وسط (YEMA) المغذي ولعدة مرات بقصد الحصول على مزارع نقية Pure cultures.

المزارع وتأكيد هوية بكتيريا العقد الجذرية cultures and Authentication of Root-nodule Bacteria

ثلاث عزلات ريزوبية تم الحصول عليها من نبات البرسيم الحجازي *M. sativa*، إضافة إلى السلالة المرجعية *Ensifer meliloti* من مختبر الأحياء الدقيقة والبيولوجيا الجزيئية بكلية العلوم جامعة محمد الخامس بالمغرب استخدمت في الاختبارات كسلالة مرجعية للمقارنة. اختبرت العزلات على عائلها الأصلي بتطبيق فرضيات كوخ Koch's postulates؛ للتحقق من كونها ريزوبيا وقدرتها على التكافل وتكوين العقد (Howieson and Dilworth, 2016). عُقمت بذور البرسيم بكلوريد الزئبق $HgCl_2$ (0.2%)، بعدها تم إنبات البذور في الظلام على طبقة من الآجار الرطب Water agar (1%) على درجة حرارة 28±1°م، وبعد الإنبات وضعت البادرات في أنابيب اختبار محتوية على وسط جنسن Jensen المعقم (والذي يتكون من خليط من العناصر الكبرى والصغرى. العناصر الكبرى Macroelements: تتكون من "W/V g/L" KH_2PO_4 (10 مل)، $MgSO_4.7\ HO_2$ (10 مل)، NaCl (10 مل)، $CaHPO_4$ (20 مل)، و $FeCl_3.\ 6H_2O$ (10 مل). أما العناصر الصغرى Micro-elements (1 مل) فتتكون من خليط من المواد (mg/ L): $MnSO_4.7H_2O$ (120.4)، $MnSO_4.H_2O$ (19.1)، $CaCl_2.6H_2O$ (4.0)، $ZnSO_4.7H_2O$ (5.4)، $CuSO_4.5H_2O$ (2.0)، $NaMoO_4.2H_2O$ (1.2)، H_3BO_3 (35.6). يضبط pH عند 6.8، ثم يضاف Agar (20 جرام). وضعت جميع الأنابيب المحتوية على البادرات في درجة حرارة الغرفة لمدة سبعة أيام، حيث تم حقن كل عزلة ريزوبية في ثلاثة أنابيب (ثلاثة تكرارات لكل عزلة) وتركت ثلاث أنابيب أخرى محتوية على بادرات بدون تلقيح لاستخدامها كشاهد Control. وضعت الأنابيب في صناديق خشبية في غرفة الإنبات مع تقاسم فترات اليوم نصفها إضاءة والنصف الآخر ظلام ولمدة 4 أسابيع (Vincent, 1970).

اختبار المقاومة لمركبات الحديد الثلاثية $FeCl_3$ و Fe_2O_3:

أجري هذا الاختبار كما وصف من قبل (Bouzari et al., 2008). في أطباق بتري تحتوي على الوسط المغذي (YEMA)، والمضاف إليه تراكيز مختلفة من مركبات الحديد الثلاثية: كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$ وأكسيد الحديد الثلاثي Fe_2O_3 (µg/ ml) كلٌ على حدا، بحيث استخدم التراكيز 50، 100، 200، 300، 400، 500، إضافة إلى وسط مستخلص الخميرة والمانيتول الخالي من أي مصدر للحديد استخدم كشاهد للمقارنة. وضع في كل طبق حوالي 5 ميكروليتر (تحتوي تقريبًا على 10^6 خلية/مل) من العزلة الريزوبية نامية إلى الطور النشط وبواقع خمس تكرارات لكل عزلة، حُضنت الأطباق على درجة حرارة 28±2°م لمدة أربعة أيام، بعد مرور فترة التحضين قيس قطر (بالملليمتر) كل مستعمرة باستخدام المسطرة.

التحليل الاحصائي Statistical analyses:

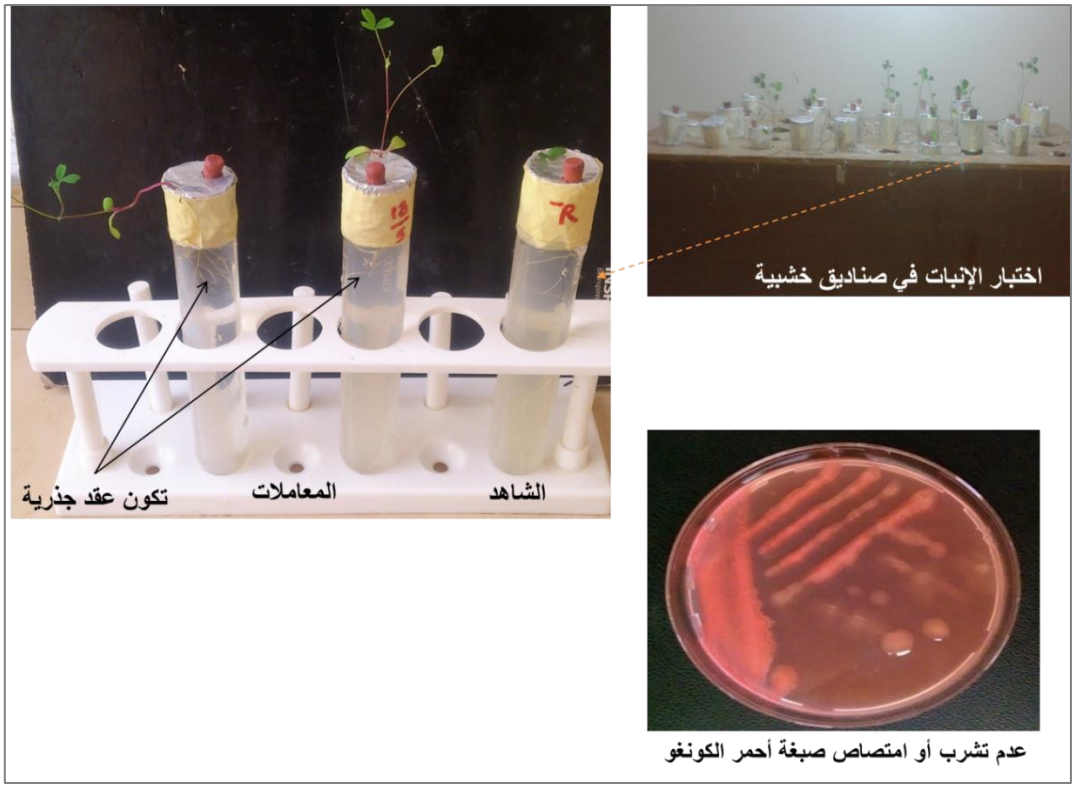
أجري التحليل الإحصائي للبيانات المتحصل عليها باستخدام تحليل التباين الأحادي ANOVA كما وصف من قبل (SPSS, 2003).

النتائج والمناقشة Results and Discussion

نتائج العزل والتنقية واختبار النبات وصفات العزلات الريزوبية:

نتائج الدراسة الميدانية بينت أن أغلب النباتات في الحقل كانت مكونة للعقد، وامتازت بلونها الأحمر الوردي وتواجدها على الجذر الأصلي للنبات، وأن أشكال هذه العقد كما هو الحال مع مجموعة البرسيم الحجازي Alfalfa group عصوية الشكل.

الشكل الظاهري للمستعمرات كانت كبيرة الحجم (> 1مم بعد 48 ساعة) تنتج صمغ كثيف Gum، ولم تمتص أو تتشرب صبغة أحمر الكونغو، واختبار النبات بين أن العزلات إضافة للسلالة المرجعية كونت في المختبر عقدًا فعالة مع نبات البرسيم الحجازي (شكل 2).



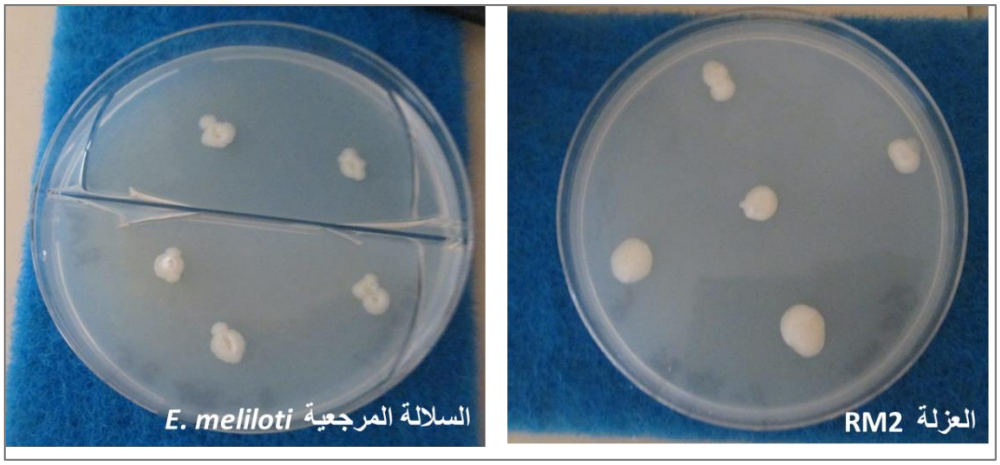
شكل 2: العزل واختبار الإنبات.

تلون العقد باللون الأحمر دلالة على فاعليتها في تثبيت نيتروجين الهواء الجوي؛ نتيجة لاحتوائها على صبغة الهيموجلوبين البقولي Leghemoglobin التي تعمل على حماية انزيم Nitrogenase من تأثير أكسجين الهواء الجوي (Woomer, 2010). لون العقد يعد من الطرق السريعة والبسيطة المستخدمة في تحديد فعالية الريزوبيا في تثبيت النيتروجين. تكون العقد على النبات في المختبر كانت مشابهة لعزلات ريزوبية من نفس المنطقة استطاعت تكوين عقد فعالة على عائلها الأصلي (Abu Anizah et al., 2025).

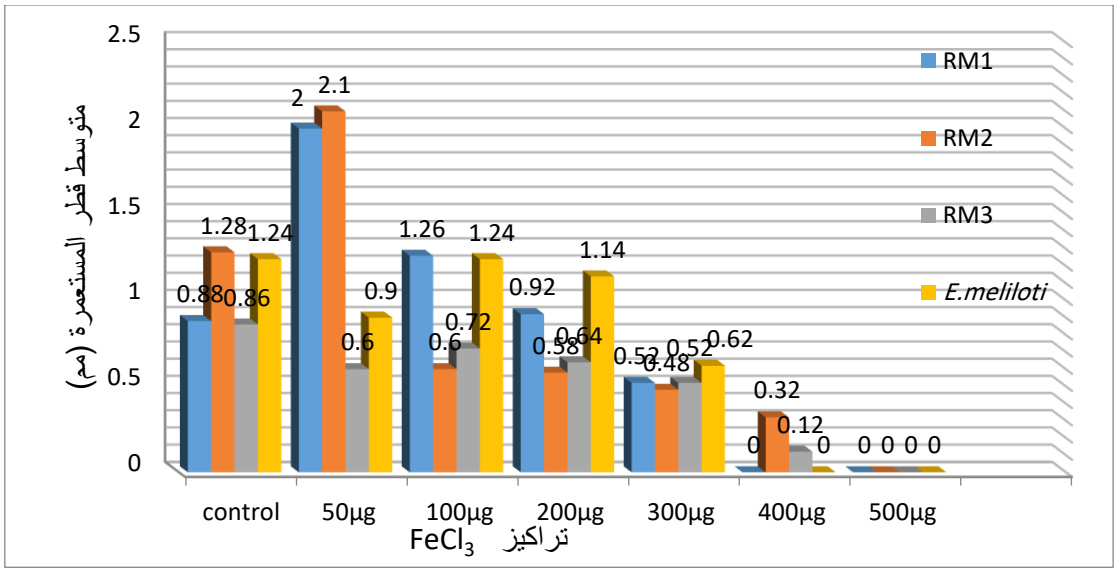
تشير الدراسات الى أن نبات البرسيم يتكافل مع أنـواع عائـدة إلـــى ثلاثة أجناس من الريزوبيا جنسين سريعي النمو هما *Rhizobium* و *Ensifer* والبطيء *Bradyrhizobium*، إذ يتكافل مـع *R. deajeonense*، *R. miluonense* (Quan et al., 2005; Gu et al., 2008). و *E. medicae* و *E. meliloti* (Dangeard, 1926; Rome et al., 1996)). و *Br. Yuanmingense* (Yao et al., 2002). ونظرًا لظهور المستعمرات على الوسط الصلب مستخلص الخميرة والمانيتول خلال فترة ثلاث أيام، وعدم مقدرة العزلات من تشرب صبغة أحمر الكونغو فإن من المرجح أن تكون العزلات عائدة لجنس *Ensifer* والذي من أهم مميزاته تفاعله مع هذه الصبغة (Howieson and Dilworth, 2016).

نتائج مقاومة العزلات لكلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$:

كانت النتائج متناسقة، بحيث قلت مقاومة العزلات الريزوبية للحديد بزيادة تركيزه وهذا كان واضح من خلال ملاحظة الشكل المورفولوجي للمستعمرات البكتيرية وقطر مستعمراتها (شكل 3). نتائج التحليل الاحصائي (شكل 4) بينت أنه لا توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية بين العزلات المختبرة؛ لكون القيمة الاحتمالية أكبر من مستوي الدلالة (P- Value= 0.427).



شكل 3: نمو العزلات في تركيز 50µg من كلوريد الحديد $FeCl_3$ بعد 72 ساعة من التحضين.

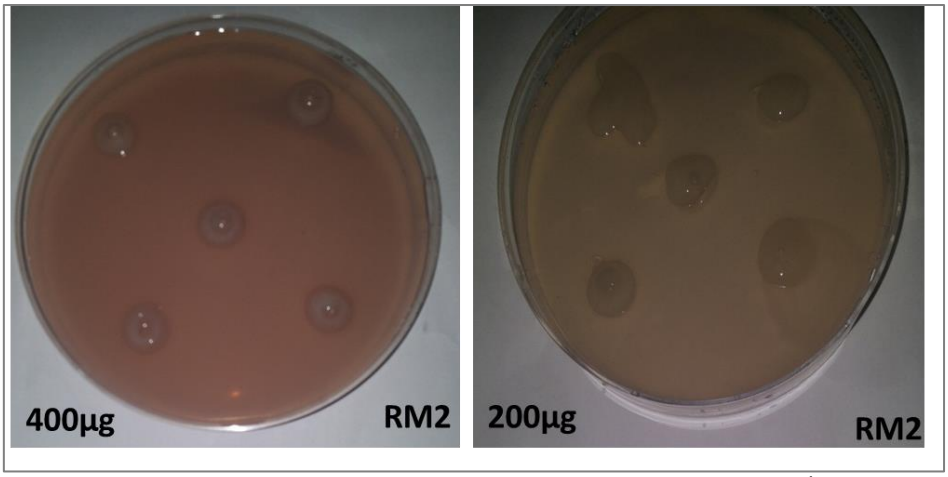


شكل 4: متوسط قطر المستعمرة بعد 72 ساعة من التحضين.

ما لوحظ من نتائج هذا الاختبار أن التركيزين 50 و 100 مايكروجرام من $FeCl_3$ كانت منشطة لنمو العزلات مقارنة بالشاهد، وهذا ما يُظهره متوسط قطر المستعمرة؛ وبالتالي تتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسات أخرى أفادت بأن الحديد يؤدي إلى زيادة أعداد الريزوبيا في وسط النمو في التراكيز المنخفضة (Tang, 1995). بينما تباينت تأثيرات التراكيز الأخرى على عزلات الاختبار. التركيز 500 مايكروجرام كان هو المؤثر الأكبر، حيث لم تستطيع أية عزلة من النمو على الوسط المحتوي عليه، يليه التركيز 400 مايكروجرام. السلالة المرجعية لم تختلف في استجابتها عن عزلات الاختبار حتى التركيز 300 مايكروجرام، وهذه تتفق مع نتائج دراسات Paudyal و آخرون 2007 والتي أفادت أن لسلالة *E. meliloti* قدرة عالية على تحمل عدد من المعادن الثقيلة، أيضًا من الملاحظة الهامة في هذا الاختبار أن العزلات كانت متكيفة مع ظروف البيئة المعزولة منها، بحيث كانت أكثر مقاومة من السلالة المرجعية وخاصةً العزلتان RM2 و RM3 واللتان استطاعتا النمو حتى في التركيز 400µg، وبالتالي يُعطي هذا فكرة على استخدام هذه العزلات كلقاح للنباتات البقولية المزروعة في هذه الترب.

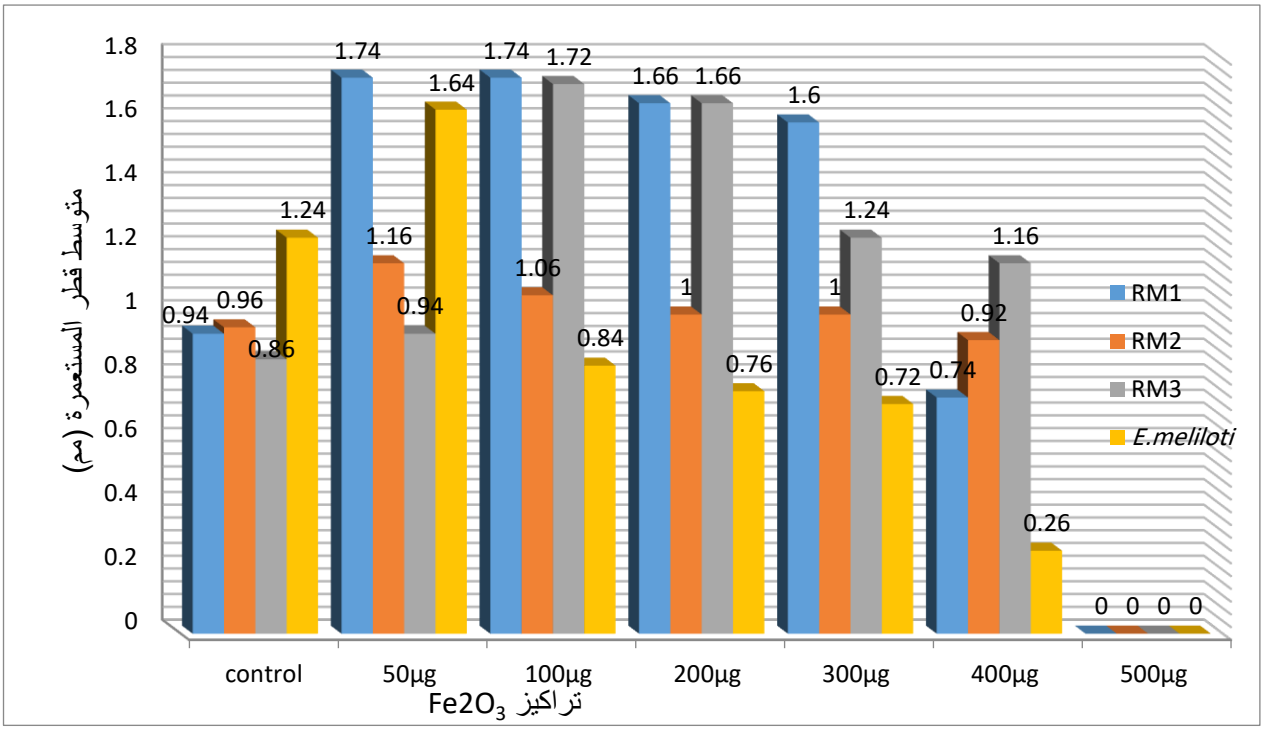
نتائج مقاومة العزلات لأوكسيد الحديد الثلاثي Fe_2O_3:

بينت أن العزلات كانت متكيفة مع الظروف البيئية السائدة في المنطقة، وخاصة لتواجد عنصر الحديد في التربة وكانت متميزة عن السلالة المرجعية، حيث تفاوتت عن بعضها وإن بدرجات طفيفة في متوسط قطر المستعمرة (شكل 5). التراكيز 50, 100, 200 and 300µg كانت محفزة لأغلب العزلات.



شكل 5: تأثير تراكيز من $Fe2O_3$ على العزلات بعد 72 ساعة من التحضين.

نتائج التحليل الاحصائي (الشكل 6)، بينت أيضًا أنه لا توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية بين عزلات الاختبار المختلفة عند القيمة الاحتمالية 0.05؛ لكون القيمة الاحتمالية أكبر من مستوي الدلالة (P-Value= 0.122).



شكل 6: متوسط قطر المستعمرة بعد 72 ساعة من التحضين.

عدم ظهور مثل هذه الفروقات يوحي بأن العزلات كما ذُكر سابقًا كانت متكيفة مع ظروف المنطقة المحتوية على الحديد، حيث أن منطقة الدراسة كما بينت الدراسات الجيولوجية احتواء تربتها على أكاسيد السيلكون، الفوسفور، الكالسيوم، الماغنيسيوم، إضافة إلى أكسيد الالومنيوم (المؤتمر العربي للثروة المعدنية، 2010)، والحديد بصورة Fe_2O_3 (Aboubakar et al., 2013). عنصر الحديد مثله مثل الألومنيوم يزداد تأثيره السام على كلا الشريكين في الترب عالية الحموضة (الكسندر، 1982). وبالتالي فهو سام على العديد من المحاصيل البقولية المزروعة في مثل هذه الترب (Edwards, 1991). عدم تأثر عزلات

الاختبار بالحديد عائد إلى أن تربة ليبيا خاصة في منطقة الدراسة قلوية في تفاعلها وبالتالي يقل تأثير هذا العنصر في مثل هذه الترب. تأثير المعادن الثقيلة على النباتات والميكروبات والبيئة من المواضيع التي حظيت ومازالت تحظى بالاهتمام؛ لما لهذا الموضوع من أهمية لكونه يؤثر على المكونات السالفة الذكر وغالبًا ما يكون هذا التأثير سلبي على مكونات البيئة بما فيها الريزوبيا والنبات البقولي المعزولة منه. عمومًا يكمن تأثير الحديد والمعادن الثقيلة الأخرى على الريزوبيا إلى تفاعلها مع البروتين الخلوي والأنزيمي، حيث يعمل على ترسيبه أو اتلافه ويكون ذلك إما بتخثيره (تحوله من الحالة السائلة إلى الصلبة)، أو بتغير في طبيعته، وأحيانًا تأثيره يحدث بتكوين املاح البروتين (بروتين المعدن)؛ نتيجة لاتحاد المعدن مع البروتوبلازم الخلوي فيتوقف بذلك نشاط البروتين الخلوي وبالنتيجة موت الريزوبيا (مبارك وآخرون، 2005).

بالرغم من أن الحديد من العناصر الصغرى إلا أن وجوده مهم لكلا العائلين النبات البقولي والبكتيريا المتكافلة معه، حيث أن له دور مهم في العلاقة التكافلية. لاحظ بعض الباحثين (Tang, 1995)، أن الحديد يؤدي إلى زيادة أعداد الريزوبيا في وسط النمو، وهذا ما تم ملاحظته في هذه الدراسة من أن قطر متوسط المستعمرات زاد عند التركيز 50µg، تلاه التركيز 100؛ نتيجة لزيادة تركيز الحديد في الوسط الزرعي. وهي بهذا تتفق مع نتائج بحوث أخرى على الريزوبيا المعزولة من بعض النباتات مثل نبات الفول السوداني *Arachis hypogea* L.، والتي أفادت بأن نقص الحديد أو محدودية كميته كانت لها تأثير سلبي على الريزوبيا المتكافلة معه وأدت إلى وقف انقسام خلايا الريزوبيا دون أن يُعيق أيضها وتكوين خلايا مشوهة ومتطاولة (O'Hara et al., 1988).

الخاتمة Conclusion

دراسة الريزوبيا المتكافلة مع نبات البرسيم الحجازي النامي في منطقة تاروت الشاطئ، أظهرت أن الريزوبيا المتكافلة معه موجودة في هذه البيئة أو المناخ، وأنها متكيفة مع ظروف هذه المنطقة. كان الهدف من انجاز هذه العمل تثمين الدور الذي من الممكن أن تلعبه هذه البكتيريا بيئيًا واقتصاديًا في هذه المنطقة وفي أماكن أخرى مشابهة ومتأثرة بسموم المعادن الثقيلة، وبالتالي من الممكن استخدامها في التحلل الحيوي Biodegradation والتخلص من تلك السموم في الأرض المتأثرة بها.

أولاً: النتائج Results:

1. بينت النتائج أن كل العزلات أعطت سمات الريزوبيا السريعة النمو، ومن الممكن أن تكون تتبع جنس *Ensifer* والذي من أهم مميزاته الزرعية عدم امتصاصه لصبغة الكونغو الحمراء.
2. كل العزلات كانت مستعمراتها كبيرة الحجم > 1مم بعد 48 ساعة من التحضين.
3. كل العزلات استطاعت أن تكوّن تكافلًا فعالًا مع عائلها نبات البرسيم الحجازي *Medicago sativa*.
4. تباينت العزلات في استجابتها لتراكيز كلوريد الحديد الثلاثي $FeCl_3$، حيث كانت معظمها حساسة للتركيز 400µg، وكلها لم تستطع النمو في التركيز 500µg، بينما كانت مقاومة للتركيز 50µg.
5. العزلات تباينت في استجابتها لتراكيز أوكسيد الحديد الثلاثي $Fe2O_3$، حيث كانت معظمها حساسة للتركيز 400µg ومقاومة للتركيز 50µg.
6. التراكيز المنخفضة من مركبات $FeCl_3$ (50µg)، والتراكيز (50, 100, 200µg)، من $Fe2O_3$ كانت محفزة لنمو العزلات، وأعطت نموًا أفضل من الشاهد.
7. التحليل الإحصائي لم يظهر فروق ذات دلالة احصائية بين العزلات في استجابتها للتراكيز المختلفة من مركبات الحديد.
8. العزلات كانت متأقلمة ومتكيفة مع الظروف البيئية السائدة في التربة التي عزلت منها، واختلفت بذلك عن السلالة المرجعية خاصة في التراكيز المرتفعة من مركبات الحديد.
9. النتائج في المختبر قد لا تكون مطابقة لما عليه في ظروف الحقل؛ لهذا اختبارها في بيئاتها مطلوب.

ثانيا: التوصيات Recommendations

توعية المزارعين وخاصة القاطنين في منطقة الدراسة بخطورة العناصر أو المعادن الثقيلة وبأهمية ميكروبات التربة بما فيها الريزوبيا بالدور البيئي الذي تلعبه في تحلل هذه العناصر.

References

[1] هذيلي، كاظم حســن؛ المختار، منذر محمد؛ الأنصـاري، عبد المهدي صالـح (2007). تأثير مستويات وطرق إضافة الحديد في كفاءة تثبيت النيتروجين الجوي في الجت، مجلة البصرة للعلوم، المجلد (25)، العدد (1)، 44- 58.

[2] Ngakou A., Megueni C., Ousseni H. and Massai A. (2009). Study on the isolation and characterization of rhizobia strains as biofertilizer tools for growth improvement of four-grain legumes in Ngaoundéré-Cameroon. *Int J Biol Chem Sci* 3(5), 1078–1089.

[3] Setu, L.J., Ahmed, B. and Kibria, K.Q. (2019): Identification and characterization of Rhizobium bacteria. Int. J. Res. Anal. Rev.,6(2), 519-527.

[4] Tortora, G. J., Funke, B. R. and Case, C. L. (2004). Microbiology an introduction 8th ed. Menlo Park, Calif. Benjmin/ Cummings, Publishing. pp. 305- 311.

[5] Howieson, J. G. and Dilworth, M. J. (2016). Working with rhizobia. Australian Centre for International Agricultural Research: Canberra.

[6] التكريتي، رمضان أحمد؛ رزق، توكل؛ الرومي، حكمت (1981). محاصيل العلف الأخضر، جامعة الموصل، ص 70- 80.

[7] الأطلس التعليمي (1985). اللجنة الشعبية العامة للتعليم، اسلتي ماب سيرفس / السويد.

[8] المؤتمر العربي العاشر للثروة المعدنية (2010). فرص استغلال خامات الحديد الليبية.

[9] Giller, K. W., Witter, E. and McGrath, S. P. (1998). Toxicity of heavy meta-ls to microorganisms and microbial process in agricultural soils: a review. *Soil Biol Biochem* 30, 1389- 1414.

[10] Hopkins, W.G. (1999). Introduction to Plant Physiology. John Wiley and Sons Inc.

[11] Kim, J. and Rees, D. C. (1992). Structural model for the metal centers in the nitrogenase molybdenum-iron protein. *Science* 257, 1677- 1682.

[12] Vincent, J. M. (1970). A manual for the practical study of the root-nodule bacteria, International Biological Program. *IBP Handbook*.

[13] Bouzari, M., Emtiazi, G. and Mehdipour-Moghaddam, M. J. (2008). The effects of heavy metals and chelating agents on phage development and enumeration of Rhizobium by phage counting in different soils. J Agri Environ Sci 3 (3), 420- 424.

[14] Spss Software (2003). Spss, 12.0.1 For Windows. Spss inc.,233 South Wacker drive, 11th Floor, Chicago, il 6606- 6412.

[15] Woomer, P. L. (2010). Biological Nitrogen Fixation and Grain legume Enterprise; Guidelines for N2Afica Master Farmers. Tropical Soil Biology and Fertility Institute of the International Centre for Tropical Agriculture. Nairobi. 17 pp.

[16] Abu Anizah, K.A., Khalifa, M.O., Bertata, N.Z., Saad, W. T., Kheelib, H.S. and Masoud, H.A. (2025). solation and Physiological, Biochemical Characterization of Rhizobia using API 20E System. North African Journal of Scientific Publishing, 3(2), 52-63.

[17] Quan, Z. X., Bae, H. S., Baek, J. H., Chen, W. F., Im, W. T. and Lee, E. E. (2005). Rhizobium daejeonense sp. nov., isolated from a cyanide treatment bioreactor. In J Syst Evol Microbiol 55, 2543- 2549.

[18] Gu, C. T., Wang, E. T., Tian, C. F., Han, T. X., Chen, W. F., Sui, X. H. and Chen, W. X. (2008). Rhizobium miluonense sp. nov., a symbiotic bacterium isolated from Lespedeza root nodules. Int J Syst Evol Microbiol 58, 1364- 1368.

[19] Dangeard, P. A. (1926). Recherches sur les tubercles radicaux des legumineuses. Le Botaniste 13, 1- 275.

[20] Rome, S., Fernandez, M. P., Brunnel, B., Normand, P. and Cleyet- Marel, J. C. (1996). Sinorhizobium medicae, sp. nov., isolated from annual Medicago spp. Int J Syst Bacteriol 46, 927- 980.

[21] Yao, Z. Y., Kan, F. L., Wang, E. T. and Chen, W. X. (2002). Characteriza-tion of rhizobia that nodulate legume species within the guns Lespedeza and description of Bradyrhizobium yuanmingense sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 52, 2219- 2230.

[22] Tang, C. (1995). Iron in symbiotic nitrogen fixation in legumes. In: Advance in iron nutrition research. Hemantaranjan, A. (ed). Pp 145- 175. Scientific Publishers, Jodhpur.
[23] Paudyal, S. P., Aryal, R. R., Chauhan, S. V. S. and Maheshwari, D. K. (2007). Effect of heavy metals on growth of Rhizobium strains and symbiotic efficiency of two species of tropical legumes. Sci World 5, 27- 32.
[24] O'Hara, G. W., Dilworth, M. J., Boonkerd, N. and Parkpian, P. (1988). Iron deficiency specifically limits nodule development in peanut inoculated with *Bradyrhizobium* sp.*New Phytologist* 108, 51- 57.
[25] Aboubakar, M. A., Ganjian, E., Pouya, H., Akash, A. M. and Abdussalam, H. M. (2013). Influence of Treatment Tarot Kaolin by Thermal Method on Hard and Fresh Properties of Cement MorTar. Int J Engine Advan Technol 2, 2249- 8958.
[26] الكسندر، مارتن الكسندر (1982). مقدمة في ميكربيولوجيا التربة (مترجم)، دار جون وايلي وأولاده نيويورك/ أمريكا. ط2.
[27] Edwards, A. C. (1991). Soil acidity and its interaction with phosphorous availability for a range of different crop types. In R J wright, V. C. Baligar and R. P. Murrman. (E-ds.). Plant- Soil Interactions at Low pH. Pp 299- 305. Kluwer Academic Publisher
[28] مبارك، محمد الصاوي محمد؛ عبد الحافظ، عبد الوهاب محمد؛ جمال، راوية فتحي (2005). عالم البكتيريا، مكتبة أوزوريس- القاهرة/مصر. ط1.