

## تثبيت الآزوت الجوي بواسطة الطحلب *Calothrix* sp

ومدى تأثيره ببعض الأملاح الصوديومية والمركبات الآزوتية

للكفء أمين النوازي      الدكتور أحمد نبيل ابراهيم      والمهندس الزراعي محمد أبو الفضل محمد

### مقدمة

تشير بحوث عديدة إلى أهمية عملية تثبيت أزوت الهواء الجوي في حقول الأرز بواسطة أنواع معينة من الطحالب الخضراء المزرقة (Watanabe وآخرون 1951 ، Watanabe 1962 ، Allen 1956 ، النواوي وآخرون 1958 ، أبو الفضل وآخرون 1965) . وقد بينت دراسات حديثة بالجمهورية العربية المتحدة فائدة تلقيح الأراضي بالطحلب *Tolypothrix tenuis* المستقدم من اليابان ، وقد صحبها محاولات لعزل بعض السلالات المحلية ، وذلك في سبيل تعريفها ودراسة خواصها الفسيولوجية ثم تحديد قدرتها على تثبيت الآزوت الجوي ، وقد انتهت هذه المحاولات بعزل أربع سلالات عن طريق الاستعانة ببعض المركبات الكيميائية ( النواوي وآخرون 1962 ) ، وقد استخدمت إحداها في البحث الحالي ، حيث وجد من بعض النتائج الأولية أنها أقدر من السلالات الثلاثة الأخرى على تثبيت الآزوت الجوي كأحد أنواع الجنس *Calothrix* .

ويهدف هذا البحث إلى معرفة العوامل التي قد تؤثر في نشاط ذلك النوع متى أدخل إلى التربة بالتلقيح ، كدرجة التركيز العالية من كلوريد الصوديوم ، وتواجد أملاح الكبريتورات ، وكذلك تواجد المركبات النتروجينية .

- الدكتور أمين النواوي : مدير قسم بحوث ميكروبيولوجيا المتخلفات الزراعية ، بوزارة الزراعة .
  - الدكتور نبيل ابراهيم : مدرس البكتريولوجيا : بكلية الزراعة ، جامعة الأزهر .
  - المهندس الزراعي محمد أبو الفضل محمد : مدير عام مراقبة بحوث الميكروبيولوجيا الزراعية ، بوزارة الزراعة .
- \* نشر هذا البحث باللغة الانجليزية عام 1968 في المجلد الرابع عشر من Acta Agronomica .

## مواد البحث والطرق المستخدمة

أولاً - مواد البحث :

(١) «الملقح» : حضر «الملقح» ، بنمية الطحالب *Calothrix sp.* في دورق مخروطى سعة ١٥٠ سم<sup>٣</sup> يحتوى على ٣٠ سم<sup>٣</sup> من بيئة معقمة خالية من الأزوت (Watanabe ١٩٥٤) .

(ب) محلول كلوريد الصوديوم وكبريتيد الصوديوم : حضر محلول من الملح الأول ، وآخر من الملح الثانى وذلك بإذابة ٢٥,٤ جم و ٢٤ جم على الترتيب فى لتر ماء .

(ج) المركبات الأزوتية : حضرت كميات من سلفات النشادر و نترات البوتاسيوم والاسبراجين ك مركبات ذات نسبة معروفة من الأزوت .

ثانياً - الطرق المستخدمة :

أجريت التجارب فى دوارق مخروطية سعة ٢٥٠ سم<sup>٣</sup> تحتوى على ٣٠ سم<sup>٣</sup> من بيئة (Watanabe ١٩٥١) الخالية من الأزوت ، وعملت كما يلى :

(١) فى تجربة كلوريد الصوديوم : أضيفت كميات معينة من المحلول الاصلى إلى الدوارق للوصول إلى درجات التركيز : صفر - ٤٢٤,٢ - ٨٧٣,٨ - ١٧٤٧,٥ - ٣٣٩٣,٥ - ٤١٩١,٥ جزء ملح فى المليون ، ثم عقمت .

(ب) فى تجربة كبريتيد الصوديوم : عقم المحلول الاصلى بمرشح سيتز ، ثم أضيفت كميات معينة منه إلى الدوارق المعقمة للوصول إلى درجات التركيز ، صفر - ٧٩٥ - ١٥٩٠ - ٣١٨٠ - ٦٧٢٠ - ٨٣١٠ جزء ملح فى المليون .

(ج) فى تجربة المركبات الأزوتية : أضيفت كميات من المركبات الأزوتية إلى الدوارق للوصول فى حالة كل منها إلى درجتى التركيز : ٢١ ، و ١٠٥ جزء نيتروجين فى المليون ، ثم عقمت الدوارق .

وقد لقحت ثلاثة دوارق تمثل معاملة واحدة من المعاملات بمقدار ما يعلق

بإبرة ذات عقدة من ملقح الـ *Calothrix sp.* ، ثم حفظت الدوارق جميعها في المعمل معرضة لضوء الشمس المباشر وغير المباشر على درجة ٢٥-٣٥ م° ، وبعد ثمانية أسابيع جمعت نموات الطحلب بالترشيح ، ثم وزنت وأجرى تقدير محتواها من الأزوت السكلى بطريقة السكداهل العادية ، كما أجرى تقدير الأزوت الذائب في الراشح ( جاكسون ١٩٥٨ ) .

### النتائج

بوضح الجدولان (١ و ٢) الوزن الجاف للطحلب ومحتواه من الأزوت السكلى ، وكذلك محتوى الراشح من الأزوت الذائب ، ثم مجموعها كأزوت مثبت من الجو مع استبعاد ما يكون قد أضيف من أزوت ، وذلك كله في لتر من البيئة .

وتبين نتائج تأثير كلوريد الصوديوم في نمو الطحلب *Calothrix sp.* وقدرته على تثبيت الأزوت الجوى (جدول ١) أن نمو الطحلب يتأثر عندما تصل درجة تركيز كلوريد الصوديوم إلى ٨،٨٧٣ جزء في المليون ، بينما قدرته على تثبيت الأزوت تضعف عندما تصل درجة التركيز إلى ٥،٣٣٩٣ جزء في المليون ، فقد بلغت نسبة الأزوت السكلى في خلايا الطحلب أقصاها (١٠٢ مجم) عند درجة تركيز ٨،٨٧٣ جزء في المليون رغمًا عن حدوث نقص في وزن الخلايا . وفي حالات التركيزات العالية (٥،٣٣٩٣ و ١٠،٤١٩١ جزء في المليون) هبطت نسبة الأزوت المثبت هبوطا كبيرا ، بينما كان مثل هذا الهبوط في حالة التركيز الأوسط (٥،١٧٤٧ جزء في المليون) غير ذى شأن .

وبين جدول (١) كذلك تأثير كبريتيد الصوديوم على نمو الطحلب *Calothrix sp.* وقدرته على تثبيت الأزوت الجوى . وتوضح النتائج أن أعلى مستوى من تركيز ملح كبريتيد الصوديوم سمح بنمو الطحلب هو ١٥٩٠ جزء في المليون ، حيث لم تسمح المستويات الأخرى بأى نمو ، وعند المستوى المذكور لم يفقد الطحلب قدرته على النمو لحسب بل ضعفت قدرته على تثبيت الأزوت ، حيث بلغت كمية الأزوت المثبت في غياب كبريتيد الصوديوم ١١١ مجم في اللتر من البيئة ، بينما بلغت في وجوده ٤٥ مجم فقط .

ومن جدول (٢) يتبين تأثير الأزوت المتحد في نمو الطحلب *Calothrix sp.* وقدرته على تثبيت الأزوت الجوي، وتبين النتائج أن عملية تثبيت الأزوت الجوي تتأثر عموماً بوجود الأزوت المتحد على أية صورة من الصور في البيئة ، غير أن التأثير يبلغ حداً كبيراً في حالة وجود درجة تركيز عالية من الأزوت النوشادري أو الأزوت العضوي (الاسبراجين) ، ولو أن هذه الحقيقة بالحقيقة بالنسبة إلى الأزوت العضوي قد لا تكون صحيحة على إطلاقها نظراً لاحتمال احتواء الراشح على بقايا من الأزوت العضوي التي لم تقدر كيميائياً .

### مناقشة النتائج

يزرع الأرز في الجمهورية العربية المتحدة في مساحات واسعة بالدلتا ، حيث تحتوي أراضيها على نسبة من الأملاح الذائبة السكائية تتراوح بين ٣٠٠٠ و ٦٠٠٠ جزء في المليون ، ومن بينها نسبة تتراوح بين ١٨٠٠ و ٢٤٠٠ من كلوريد الصوديوم .

وإن نتائج هذا البحث تبين أن قدرة الطحلب *Calothrix sp.* على تثبيت أزوت الهواء الجوي تتأثر قليلاً عند درجة تركيز ١٧٤٧,٥ جزء في المليون ، بينما تتأثر هذه القدرة كثيراً عند درجة تركيز ٣٣٩٣,٥ ، وذلك رغماً عن أن كفاءته على النمو لا تتأثر مالم تصل درجة تركيز هذا الملح إلى ٤١٩١,٥ جزءاً في المليون . *Anabaena* ، وهذا يتفق مع ما أشارت إليه Allen (١٩٥٦) من أن الطحلب *cylindrica* يتحمل الأملاح ، حيث إنه ينمو بحالة عادية في البيئة المحتوية على نسبة من كلوريد الصوديوم تبلغ ١٥٠٠٠ جزء في المليون ، وإذا ما وصلت هذه النسبة إلى ٢٠٠٠٠ فإن نموه يأخذ طريقه بعد دور تمهيدى طويل .

ويقضى الأرز - كما هو معروف - معظم حياته تحت ظروف غمر الأرض بالمياه ، وهو ما قد يسبب في حالات خاصة بتسكوين كبريتور الأيدروجين وأملاح الكبريتورات بفعل بكتيريا اختزال الكبريتات في غياب أكسجين الهواء الجوي (Sturgis ١٩٥٧) . وقد وجد عبد الملك ورزق (١٩٦٣) ، من تجارب معملية أن نسبة كبريتيد الصوديوم تصل إلى ٧٨٠ جزء في المليون بالترتبة الطيفية المضافة.

جدول ( ١ ) : تأثير كلوريد الصوديوم وكبريتيد الصوديوم في نمو الطحلب *Calothrix sp.* وقدرته على تثبيت الأزوت الجوي

الأزوت المثبت		الأزوت التائب		الأزوت السكلي في الطحلب		الوزن الجاف للطحلب		المعاملة	
الأرقام القياسية	مجم في اللتر	مجم في اللتر	مجم في اللتر	مجم	%	مجم في اللتر	مجم في اللتر	كلوريد الصوديوم	جزء من كل في المليون
١٠٠	١١١	١٤	٩٧	٢,٨٢	٢,٨٢	٣,٤٣٢	٤٢٤,٢	صفر (المقارنة)	
٩٨	١٠٩	١٠	٩٩	٢,٨٢	٢,٨٢	٣,٤٩٨	٨٧٣,٨		
١٠١	١١٢	١٠	١٠٢	٣,٣٠	٣,٣٠	٣,١٠٢	١٧٤٧,٥		
٩٦	١٠٧	٧	١٠٠	٣,٠٨	٣,٠٨	٣,١٣٤	٣٣٩٣,٥		
٦٣	٧٥	١٠	٦٠	٢,٠٨	٢,٠٨	٢,٨٧١	٤١٩١,٠		
٦١	٦٨	١٠	٥٨	١,٩٠	١,٩٠	٣,٠٦٩		كبريتيد الصوديوم	
١٠٠	١١١	١٤	٩٧	٢,٣٨	٢,٣٨	٣,٤٣٢	٧٩٥	صفر (المقارنة)	
٧٣	٨١	١١	٧٠	٢,١٠	٢,١٠	٣,٣٣٠	٥٩٠		
٤١	٤٥	٧	٣٨	١,٥٢	١,٥٢	٢,٤٧٥			
—	—	—	—	—	—	لم يحدد نمو			٨٣١٠-٦٧٢٠-٣١٨٠

\* المقارنة = ١٠٠

جدول (٢): تأثير الأزوت المتحد في نمو الطحلب *Calothrix sp.* وقدرته على تثبيت الأزوت الجوى

الأزوت المتثبت		الأزوت الدائب في الراشح		الأزوت السكلى في الطحلب		الوزن الجاف للطحلب	المركبات الأزوتية		
الأرقام القياسية المقارنة = ١٠٠	مجم في المتر	مجم في المتر	مجم	%	مجم في المتر	مجم في المتر	مجم في المتر	مجم في المتر	المركب
٥٢	٥٣	٦	٦٨	٢,٧٧٢	٢,٥	٢١	٠,١٢	٢١	سلفات نشادر
٢	٢	٥٥	٥٢	٢,٦٠	٢,٥	١٠٥	١,١	١٠٥	نترات اليوتاسيوم
٧٠	٧١	١١	٨١	٢,٨٠	٢,٩	٢١	٠,١٣	٢١	اسبراجين
٥٩	٦٠	٨٧	٧٨	٢,٨٠	٢,٨	١٠٥	١,٥	١٠٥	
٦٥	٦٦	٩	٧٨	٢,٧٠	٢,٩	٢١	٠,١٢	٢١	
٢٠	٢٠	٤١	٨٤	٢,٨٠	٣,٥	١٠٥	١,٥	١٠٥	
١٠٠	١٠٢	١٠	٩٣	٢,٩٠	٣,٢	—	—	—	المقارنة

إليها كميات من المادة العضوية وكبريتات الصوديوم ، وذلك تحت ظروف النمر التام بالمياه . وقد أوضحت نتائج هذا البحث أن تواجد ٣١٨٠ جزء في المليون من كبريتيد الصوديوم في البيئة المستخدمة له تأثير بادي الطحلب ، بينما كان لوجود تركيز ٧٩٥ - ١٥٩٠ جزء في المليون تأثير ضار بنمو الطحلب ومقدرته على تثبيت الأزوت الجوي .

هذا وبناء على ما ذكر يمكن القول إن الطحلب *Calothrix sp.* لا يحتمل أن يخضع تحت ظروف الحقل العادية إلى أية تأثيرات سيئة ترجع إلى كلوريد أو كبريتيد الصوديوم ، لا سيما وأنه ينمو بطبيعته على سطح التربة أو المياه .

ويعتبر سماد سلفات النشادر أنسب الاسمدة لتسميد الأرز ، وقد أوضحت نتائج هذا البحث أن قدرة الطحلب *Calothrix sp.* على تثبيت الأزوت الجوي تتأثر بنحو ٥٠٪ في وجود ٢١ مليجرام أزوت نشادري في اللتر من البيئة ، بينما تتأثر إلى حد العدم في وجود خمسة أضعاف هذه الكمية ، وهذا ما يتفق مع ما أشارت إليه Allen (١٩٥٦) ، من أن الطحلب *Anabaena cylindrica* لا يثبت إلا قليلا من الأزوت الجوي أو لا يثبت على الإطلاق في وجود اليوريا أو الأمونيا ، كما يتفق هذا أيضا مع ما وجدته طه (١٩٦٤) باستخدام الطحلب *Calothrix Elenkinii* . هذا وقد وجد أبو الفضل وآخرون (١٩٦٣) أن إضافة سلفات النشادر بمعدل يتحوى على ١٠ أو ٢٠ كيلوجرام أزوت تضر بعملية تثبيت الأزوت الجوي ، وذلك في تجارب أصص أجريت لدراسة أثر تلقيح التربة بالطحلب *Tolypothrix Tenuis* في محصول الأرز . ومن المعروف أن الأرز يسمد عادة بسماد سلفات النشادر بمعدل يتحوى على ٢٠ كيلوجراما من الأزوت للفدان ، وذلك بعد ثلاثة إلى أربعة أسابيع من تاريخ الشتل ، ويمكن تلافى التأثير السوى للأزوت النشادري بأن يكون التلقيح بالطحلب المراد إدخاله إلى التربة إبان الشتل ، وأن يكون التسميد بسلفات النشادر على دفعتين .

أما عن تأثير الأزوت العضوى في قدرة الطحلب *Calothrix sp.* على تثبيت الأزوت الجوي فإن طبيعة انحلال الأزوت العضوى في السبخ البلدى وهو الشائع الاستخدام في تسميد الأرز قد تختلف عن طبيعة انحلال الاسباراجين في

البيئة العملية مما يستبعد معه حدوث أى تأثير الأسمدة العضوية فى سلوك هذا الطحلب، خاصة وأن أفراد الأمونيا منها عادة ما يتأخر نتيجة للظروف اللاهوائية السائدة فى أراضى الأرز .

### المراجع

- (1) Abd-el-Malek, Y., and S. G. Rizk (1963) Jour. Appl. Bact., 26: 140.
- (2) Aboul-Fadl, M., Amin S. El-Nawawy, M. El-mofty, M. El-Nadi, and F. A. Farag (1964) Jour. Soil Sci., U.A.R., 4: 91.
- (3) Aboul-Fadl, M., M. T. Eid, M. R. Hamissa, Amin S. El-Nawawy, and A. Shoukry (1965) J. Microbiol. U.A.R. 2 (2): 137.
- (4) Allen, M. B. (1956) Sci. Month., 83: 2.
- (5) El-Nawawy, Ahmed S., Amin S. El-Nawawy, M. Aboul-Fadl, and M. Nada (1958) Jour. Soil Sci., 2: 3.
- (6) El-Nawawy, Amin S., M. Lotfy, and M. Fahmy (1958) Agric. Res. Rev., Minis. of Agric., Cairo, 36: 308.
- (7) Jackson, M. L. (1958) Soil Chemical Analysis. London : Constable and Co.
- (8) Sturgis, M. B. (1957) Year Book of Agriculture, U.S. Dept. of Agric.
- (9) Taha, M. S. (1964) Microbiologia, U.S.S.R., 30: 397.
- (10) Watanabe, A., S. Nishigaki, and C. Konishi (1951) Nature, 168: 748.