تأثير ماء الجفت في كثافة بعض الكائنات الحية الدقيقة لتربة مزروعة بالحمص (*Cicer arietimum* L.)

Effects of Olive Mill Wastewater (OMW) on Microbial Density of Soil Cultivated by Chickpea (*Cicer arietinum* L.)

Received 03 January 2010 / Accepted 10 November 2010

أ.د.حياة طوشان [1]، أ.د.حسان كور [1]، أ.د. محمد زين الدين نعمة [1]، و م. قمر شراباتي [2]

(1): قسم المحاصيل - جامعة حلب - سورية.

(2): طالبة ماجستير- قسم المحاصيل - جامعة حلب - سورية.

المُلخَّص

نُفذت التجربة في الدفيئة الزجاجية التابعة لكلية الزراعة - جامعة حلب ضمن أصص بلاستيكية لدراسة تأثير استخدام عدة تراكيز من ماء الجفت وهي: (10، 30، 50، 70، 100 % من السعة الحقلية) في كثافة وتعداد الفطريات والبكتريا في التربة المزروعة بنبات الحمص غاب3. اُستخدم في البحث أربعة أنواع من الترب: تربة غير معقمة ملقحة، وتربة غيرمعقمة غير ملقحة، وتربة معقمة ملقحة، وتربة معقمة غير ملقحة، وقد اعتمد لتحليل النتائج إحصائياً التصميم العشوائي الكامل.

لوحظ وجود فروقات معنوية في كثافة الكائنات الحية الدقيقة البكتيرية والفطرية في التربة غير المعقمة وغير الملقحة بعد معاملتها بماء الجفت، حيث تفوقت المعاملة الثالثة T3 (50 %) على المعاملات كافة عند مستوى معنوية 1 %، كما تفوقت على الشاهد بنسبة 66.6 % للبكتيريا، و 65.08 % للفطريات. يُعد التركيزان 70 و100 % من ماء الجفت (المعاملتين T5،T4) تركيزين مثبطين لنمو الميكروبات بالمقارنة مع المعاملة T3. وعلى العكس تناقصت أعداد الكائنات الحية بنوعيها في التركيزين T1(10 %)، T2 (30 %) عن المعاملات كافة وبفروقات معنوية عند مستوى 1 %.

كان تأثير ماء الجفت أكبر في أعداد الفطريات والبكتريا في الترب المُعقمة غير الملقحة، حيث ازدادت أعداد الكائنات الحية المضافة نتيجة الري بماء الجفت وبلغت (15.33× 10 ^{4} خلية /1غ) و (62.67 × 10 ^{5} خلية /1غ) في الفطريات والبكتريا على التوالي من المعاملة T3. وُيلاحظ أنّ التركيز المتوسط (50 %) أدى دوراً منشطاً لتطور الكائنات الحية.

الكلمات المفتاحية: ماء الجفت، حمص (صنف غاب 3)، البكتريا، الفطريات.

Abstract

A pot experiment was conducted in the greenhouse at Aleppo University, Faculty of Agriculture to study the impact of various concentrations of Olive Mill Wastewater (10, 30, 50, 70, 100% Field Capacity) on the number and density of fungi and bacteria in a soil cultivated with chickpea seeds of (variety Ghab3).

©2012 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved.

Four types of soil were used: sterilized soil (inoculated, non –inoculated) and non sterilized soil (inoculated, non –inoculated). Experiment was laid in, Completely Randomized Design. Significant differences occurred in bacteria and fungi density in the non-sterilized non-inoculated soil treated with O.M.W were observed, basically the third treatment (T3) had the greatest differences at (1%) level of significance compared with (66.6, 65.08%) at control treatment in bacteria and fungi, respectively.

Both Concentrations of O.M.W (70,100%) (T4,T5) inhibited the microbial growth. Consequently, they were considered the threshold concentration of inhibition comparing with T3, on the contrary and among all treatments the number of both organisms was significantly ($P \leq 0.01$) declined at (T1,T2) with differences at (1%) level of significance.

The impact of O.M.W was greater in sterilized non-inoculated soil on microbial density , increasing number of organisms reached (15.33×10^4 cell / 1g and 62.67×10^5 cell / 1g) were noted at (T3) in fungi and bacteria, respectively. The third concentration(T3) played a stimulating role for the development of both organisms (bacteria and fungi).

Keywords: Olive Mill Wastewater (O.M.W), Chickpea (variety Ghab3), Bacteria, Fungi.

المقدمة

تتصف ترب المناطق الجافة وشبه الجافة بضعف محتواها من المواد العضوية والعناصر الغذائية المتاحة وقلة نشاط الكائنات الحية الدقيقة الموجودة فيها (Garcıa وزملاؤه، 1994)، وحسب Paredes وزملاؤه (1999) وRinaldi وزملاؤه (2003)، يُعد ماء الجفت مصدراً غنياً بالمواد العضوية، ومنبعاً للعناصر الغذائية، كما أنّ إضافة ماء الجفت للتربة يمكن أن يؤدي إلى تنشيط الكائنات الحية الدقيقة فيها لكون نشاطها مرتبط بخصوبة التربة، كما تقوم الكائنات الحية الدقيقة بمعدنة العناصر العضوية مثل (C، N، P، S) (Frankenbergerو Dick، 1983). بينت تجارب Paredes وزملاؤه (1999) أنّ ماء الجفت يُغني التربة بالمواد العضوية وغير العضوية، التي تُسهم في نمو النبات. لاحظ كل من Piotrowska وزملاؤه،(2005) و Cabrera وزملاؤه، (1996) زيادةً في كل من درجة حموضة التربة والمركبات الفينولية والملوحة إثر إضافة ماء الجفت. كما أكد Saviozzi وزملاؤه (1991) الأثر السلبي لماء الجفت في خواص التربة حيث يُقلل من الآزوت المتاح ويحد من قدرته على الحركة.

كما بين Paixao وزملاؤه (1990) أن ماء الجفت يُثبط نشاط كلٍ من البكتيريا، وإنبات البذور وحسب Mechri وزملاؤه (2007). يرتبط التركيب الكيميائي لماء الجفت بشكل وثيق بصنف الزيتون من جهة، ونضج الثمار أثناء القطاف من جهة أخرى، بطريقة العصر. ولدى فحص أعداد كل من *Penicillium cyclopium*، *Cladosporium cladosporioides* في التربة المروية بتراكيز متفاوتة من ماء الجفت لوحظ أنّ كلاً من *S. brevicaulis* و *C. cladosporioides* لا ينموان أبدا عندما تبلغ تراكيز ماء الجفت فوق 50 % وينخفض نشاطهما في التراكيز الأقل من 50 %، في حين كانت *P. cyclopium* قادرة على النمو في جميع التراكيز المستخدمة، ما يؤكد الدور الكبير لماء الجفت في تغيير نشاط الكائنات الحية في التربة.

بينت أبحاث De la Rubia وزملاؤه (2007) أنّ ماء الجفت المضاف للتربة الزراعية يزيد من نمو الفطريات. واستطاع Aguilera وزملاؤه (2008) عزل العديد من السلالات البكتيرية (10 أنواع) من حقول الذرة الصفراء المروية بماء الجفت، وكان أكثرها انتشاراً *Paenibacillus jamilae* وكانت جميع الكائنات المعزولة قادرةً على إنتاج Exo-polysaccharides (EPS)، وميز الباحث النوع الأكثر قدرة على إنتاج هذا المركب عند محاولة فحص نشاطها المضاد للأكسدة Putative detoxifying activity والقادر على تخفيض الأثر السمي لماء الجفت للنصف، ونُصح باستعمال هذا النوع من الكائنات الحية الدقيقة في معالجة ماء الجفت قبل إضافته لوسط الزراعة للتخفيف من أثره السمي. وقد أكدت تجارب Taccari وزملاؤه (2009) أنّ إضافة *Phanerochaete chrysosporium* إلى الكومبوست المخلوط بماء الجفت يُعَدّل ويُخَفف من تركيز المركبات الفينولية فيه، ويُقلل من فترة وصول الكومبوست للنضج، ويُحَسّن من معدل الإنبات الذي وصل إلى 100 % بعد مرور 36 يوماً على استعماله.

ونظراً لعدم وجود دراسات حول تأثير الري بماء الجفت في نشاط الكائنات الحية الدقيقة (الفطرية والبكتيرية) وتعدادها للتربة المروية بماء الجفت

في سورية كان لا بد من محاولة دراسة ذلك، لما لهذه الدراسة من أهمية بالغة في تحديد الدور الايجابي أو السلبي لهذا المركب في نشاط هذه الكائنات وانتشارها.

هدف البحث إلى:

- حصر كثافة الكائنات البكتيرية والفطرية الموجودة في ماء الجفت المستعمل في التجربة.
- حصر كثافة الكائنات البكتيرية والفطرية الموجودة في تربة التجربة قبل الزراعة وقبل إضافة ماء الجفت.
- حصر كثافة الكائنات البكتيرية والفطرية الموجودة في التربة بعد معاملتها بمستويات وتراكيز مختلفة من ماء الجفت بعد الحصاد وفق مخطط التجربة.
- تحديد أهم الأجناس الفطرية والبكتيرية في الترب المروية بماء الجفت.

مواد البحث وطرائقه

1 - مواد البحث:

- أُجري هذا البحث على نبات الحمص (*Cicer arietimum* L.) صنف غاب 3 الذي تمّ الحصول عليه من المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (إيكاردا).
- ملقح بكتيري سلالة (LE -735) خاص بالحمص (على شكل بودرة سوداء اللون)، تمّ الحصول عليه من إيكاردا أيضاً.
- ماء جفت أُحضر حديثاً من إحدى المعاصر الحديثة المنتشرة في منطقة جنديرس (محافظة حلب).
- سماد معدني ذواب متوازن (20 % N.P.K).
- تربة أُحضرت من منطقة جنديرس والغاية من ذلك محاكاة ما هو واقع في منطقة إنتاج ماء الجفت.

2 - طرائق البحث:

نُفذ البحث في الدفيئة الزجاجية التابعة لكلية الزراعة في جامعة حلب في ظروف مُتَحكم بها (درجة الحرارة الدنيا 15 مْ والعظمى 20-22 مْ والرطوبة النسبية 70 %) خلال موسمين زراعيين (2008/2007 و 2009/2008) ضمن أصص بلاستيكية بقطر (40)سم وأبعاد (40x40 سم)، وذلك لمعرفة تأثير استعمال تراكيز مختلفة من ماء الجفت (10 ،30، 50، 70، 100 % من السعة الحقلية) في كثافة وتعداد الكائنات الحية الفطرية والبكتيرية للترب المزروعة بنبات الحمص (صنف غاب3). قُسمت التربة المراد زراعتها إلى قسمين: عُقم الجزء الأول بوساطة الأوتوغلاف (في مخبر ميكروبيولوجيا التربة في كلية الزراعة) على درجة حرارة 120 مْ لمدة /30/ دقيقة لكل دفعة ورُمز للتربة المعقمة بـ S1، وتُرك الجزء الثاني من التربة بدون تعقيم ورمز له بـ S0.

- تمت تعبئة الأصص بالترب حسب معاملات البحث المذكورة سابقاً بمعدل /15/كغ تربة للأصيص.

- تمت إضافة ماء الجفت إلى الأصص قبل الزراعة بشهر (لمحاكاة ما يقوم به المزارع) بتراكيز حُسبت تبعاً للسعة الحقلية لتربة الأصص ورُمز للمعاملات بـT وهي كالتالي:

المعاملة (1): أضيف ماء الجفت بنسبة 10 % (أي 288 غ ماء جفت) وأُكمل بـ 90 % ماء، ورُمز لها بـ T1.

المعاملة (2): أضيف ماء الجفت بنسبة 30 % (أي 864 غ ماء جفت)، وأُكمل 70 % ماء، ورُمز لها بـ T2 .

المعاملة (3): أضيف ماء الجفت بنسبة 50 % (أي 1440 غ ماء جفت) وأُكمل 50 % ماء، ورُمز لها بـ T3.

المعاملة (4): أضيف ماء الجفت بنسبة 70 % (أي 2016 غ ماء جفت) وأُكمل 30 % ماء، ورُمز لها بـ T4.

المعاملة (5): أُضيف ماء الجفت بنسبة 100 % (أي 2880 غ ماء جفت) ورُمز لها بـ T5.

المعاملة (6) الشاهد: دون أية إضافة من ماء الجفت وكانت السقاية بـ (2880غ) من الماء ورُمز لها بـ T6.

- رُويت جميع الأصص بالماء العادي خلال فترة التجربة، وسُمدت جميع المعاملات بالسماد الذواب المتوازن (20 % N.P.K) حيث أُضيف لكل أصيص (0.5 غ) عند الزراعة و(0.5 غ) بعد مرحلة أوج الإزهار، بناءً على تحليل التربة المرفق بما يتوافق ومتطلبات هذا المحصول.

- تمت إضافة الملقح البكتيري الذي يحتوي على بكتريا الرايزوبيوم (*Rhizobium leguminosarum*) في 3.6 ليتر من الماء في منأى عن أشعة الشمس، ثم حُرك المزيج بشكل جيد للتجانس وأُخذ من هذا السائل (100 مل) تماماً وأُضيفت هذه الكمية لكل أصيص من أصص التجربة حيث حُسب من مقنن ماء الري وذلك بعد الإنبات مباشرة لتجنب التأثير الضار لماء الجفت في حيوية بكتريا الرايزوبيا ورُمز لمعاملة التلقح البكتيري بـ (I1) ولعدم التلقيح بـ (I0)، وبذلك يُصبح لدينا المعاملات التالية للتربة: تربة غير معقمة غير ملقحة رُمز لها بـ (S0I0) - تربة غير معقمة ملقحة (S0I1)، تربة معقمة غير ملقحة (S1I0)- تربة معقمة ملقحة (S1I1). وبذلك يصبح عدد الأصص المستخدمة في هذه التجربة كالتالي:

(6 تراكيز ماء الجفت) X (معاملتان للتربة) X (معاملتان للتلقيح البكتيري) X(6 مكررات) = 144 اصيصاً .

أُجريت التجربة لموسمين زراعيين متتالين، وفي نهاية التجربة أُخذت عينات التربة من كل أصيص على حدة، ونُقلت مباشرة إلى مخبر الأحياء الدقيقة والتسميد الحيوي في كلية الزراعة وحُفظت في البراد ليتم تحليلها ميكروبيولوجياً باستعمال طريقة الأطباق المصبوبة والتخفيف وصولا إلى 10^{-5} للبكتيريا و10^{-4} للفطريات، ومن أجل تحديد أعداد كل من البكتيريا والفطريات تمت زراعة (3) أطباق بتري (مكررات) على بيئة الآجار المغذي Nutrient Agar (بيئة بكتيرية عامة جاهزة، مصدرها شركة Sharlau Chenie. S. A. European Union) أو على بيئة Potato-dextrose Agar(بيئة فطرية متخصصة مصدرها شركة Biolief Italiana S. R. I)، إذ تمت إضافة (1مل) من مستخلص تربة بالتخفيف 10^{-5} للزراعة البكتيرية و10^{-4} للفطريات، ثم صُبت البيئة الغذائية فوقها وحُركت رحوياً حتى تتصلب، وحُضنت الأطباق على درجة حرارة تراوحت بين 33-37 م° لأطباق الآجار المغذي البكتيرية و 25 م° لأطباق الفطريات. حسب طريقة Tepper وزملاؤه (1987).

حُددت أجناس الفطريات عن طريق الفحص المجهري لأبواغها المتشكلة أثناء نموها، أما البكتريا فمن خلال فحص أشكالها ونظام تجمعها تحت المجهر ونتيجة صبغها بغرام وكذلك دراسة الخواص المزرعية لمستعمراتها المتشكلة في الأطباق، ثم التأكد منها من خلال زراعتها على بيئات تخصصية لكائنات Staphylococcus (Mannitol salt Agar) مصدرها شركة Sharlau Chenie. S.A. European Union وبيئة Pseudomonas (Pseudomonas selective Agar) مصدرها شركة Biolief Italiana S. R. I.

- حُسبت أعداد البكتيريا والفطريات من خلال عَدّ المستعمرات النامية في الأطباق وتطبيق المعادلة التالية:

عدد الكائنات في 1 غ تربة جافة = عدد المستعمرات X مقلوب التخفيف.

- تم تنفيذ التجربة بطريقة القطاعات المنشقة – المنشقة واُعتمد لتحليل النتائج إحصائياً التصميم العشوائي الكامل (Randomized Design Completely) وحُسبت الدلالة الإحصائية واختبار L.S.D (أقل فرق معنوي) عند مستوى 0.01 و 0.05 وحساب معامل الاختلاف CV% باستخدام البرنامج الإحصائي Genstat 7 (ANOVA).

- تم إجراء التحليل الكيميائي والميكانيكي للتربة قبل الزراعة بمخابر مركز البحوث الزراعية بحلب (الجدول 1).والذي أظهر أن التربة طينية غير مالحة وغير كلسية، تميل إلى القلوية، وتصلح لزراعة محصول الحمص.

الجدول 1. نتائج تحليل بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية والميكانيكية لتربة التجربة قبل الزراعة.

التحليل الكيميائي	التحليل الميكانيكي والفيزيائي للتربة
pH = 7.42	نسبة الطين 62 %
الكلس الفعال= 1.82(غ/100غ تربة)	نسبة السلت 18 %
مادة عضوية = 0.7 %	نسبة الرمل 20 %
فوسفور متبادل = ppm16.29	القوام: طينية
بوتاسيوم متبادل = ppm 470	الوزن الحجمي= 1.31 (غ.سم$^{-3}$)
EC_e (الناقلية) = 1.55 $dS.m^{-1}$	-

النتائج والمناقشة

1: التحليل الميكروبيولوجي للتربة قبل الزراعة:

أُخذت عينة من تربة البحث، وتم تحليلها لتقدير أعداد وكثافة البكتريا والفطريات (الجدول 2).

الجدول 2. نتائج التحليل الميكروبيولوجي لتربة التجربة قبل الزراعة وقبل إضافة ماء الجفت.

التعداد البكتيري العام (خلية .غ$^{-1}$ تربة جافة)	تعداد الفطريات (خلية .غ$^{-1}$ تربة جافة)
23.67×10^5	1.67×10^4

تُظهر نتائج الجدول 2 أنَّ متوسط أعداد الكائنات البكتيرية والفطرية لستة مكررات للتربة بلغت 23.67×10^5 و 1.67×10^4 (خلية /1غ تربة جافة) للبكتيريا والفطريات على التوالي، أي أنّ التربة المستعملة في البحث ذات حيوية عالية ونشطة بيولوجياً.

2: التحليل الكيميائي والميكروبيولوجي لماء الجفت قبل استخدامه في معاملات التجربة

تم تحليل عينة من ماء الجفت فور إحضاره من المعصرة لمعرفة كل من تركيبه الكيميائي (الجدول 3) وتعداد الكائنات البكتيرية والفطرية في 1مل منها (الجدول 4).

الجدول 3. نتائج التحليل الكيميائي لماء الجفت المستخدم في التجربة.

التحليل الكيميائي	الكمية
الأوكسجين الكيميائي المستهلك (COD) (ملغ/ ل)	60570
الأوكسجين الحيوي المستهلك (BOD) (ملغ/ ل)	72300
درجة الحموضة	6.22
المادة الجافة (%)	5.84
نسبة الزيت (%)	0.05
السكريات المختزلة (%)	0.88
الفينولات العديدة الكلية (ملغ/كغ)	12.7
الرماد (%)	0.98
الكالسيوم (ملغ/ ل)	310
المغنيزيوم (ملغ/ كغ)	121
الفوسفور(ملغ/ كغ)	1.21
الكوبالت (ملغ/ كغ)	0.12

الجدول 4. نتائج التحليل الميكروبيولوجي لماء الجفت قبل إضافته.

متوسط أعداد البكتيريا (خلية بكتيرية/1مل)	متوسط أعدادا الفطريات (خلية فطرية/1مل)
2.33×10^5	2×10^4

تُشير نتائج الجدول 4 إلى غنى ماء الجفت بالمواد الغذائية والعضوية، والتي أسهمت في نمو الميكروبات وتكاثرها. وبالتالي زيادة نشاطها الحيوي.

3: دراسة تأثير المعاملة بماء الجفت في تغيرات نشاط الكائنات الحية الدقيقة في التربة بعد الزراعة:

- **التغيرات العددية البكتيرية والفطرية لمعاملات التربة غير المعقمة غير الملقحة (S0I0) :**

يبين الجدول 5 الاختلافات الواضحة في كثافة الكائنات الحية الدقيقة البكتيرية والفطرية في التربة غير المعقمة وغير الملقحة بعد معاملتها بتراكيز مختلفة من ماء الجفت وفق ما هو متبع في التجربة، و عبرت النتائج عن متوسط موسمي الدراسة2007/ 2008 و2008/ 2009. يُلاحظ وجود اختلاف عددي للكائنات البكتيرية والفطرية في التربة، وفق معاملات التجربة، حيث تفاوتت أعدادها بين (11.5×10^5 - 73.7×10^5) خلية بكتيرية/1 غ تربة، وبين (4.39×10^4 - 25.4×10^4) خلية فطرية / 1 غ تربة وبتفوق معنوي عند مستوى 1 % - 5 %.

تبين النتائج أنَّ المعاملة T3 (50 % ماء جفت) تفوقت معنوياً على المعاملات كافةً، وذلك في أعداد الكائنات البكتيرية والفطرية على حدٍ سواء، حيث بلغت أعداد البكتريا فيها (73.7×10^5 /1 غ تربة) وأعداد الفطريات (25.4×10^4 /1 غ تربة) بزيادة معنوية عند مستوى 1 % عن معاملة الشاهد (24.6×10^5 خلية بكتيرية/1 غ تربة) و (8.87×10^4 كائن فطري/1 غ تربة) وبلغت هذه الزيادة 66.6 % للبكتيريا و 65.08 % للفطريات وهذا يتوافق مع نتائج De la Rubia وزملاؤه (2007). التي أظهرت أنَّ ماء الجفت المضاف للتربة الزراعية يزيد من نمو الفطريات.

الجدول 5. متوسط أعداد الكائنات البكتيرية والفطرية في عينات التربة غير الملقحة وغير المعقمة والمعاملة بماء الجفت بتراكيز مختلفة للموسمين الزراعيين (2007/2008 و2008/2009).

تربة غير معقمة غير ملقحة (S0I0)		
المعاملات	خلية بكتيرية (10^5. غ$^{-1}$ تربة)	خلية فطرية (10^4. غ$^{-1}$ تربة)
T1	11.5	4.39
T2	19.8	19.87
T3	73.7	25.4
T4	50.8	17.4
T5	38.7	13.7
الشاهد	24.6	8.87
F	236.27**	47.86**
CV%	7.08	12.75
$LSD_{(0.01)}$	6.45	4.75
$LSD_{(0.05)}$	4.6	3.39

كما أشار كل من Paredes وزملاؤه (1999) و Rinaldi وزملاؤه (2003) إلى تفاوت نشاط الكائنات الحية الدقيقة في التربة باختلاف تراكيز ماء الجفت المستعمل، مؤكدين أن إضافة ماء الجفت للتربة يُمكن أن يؤدي إلى تنشيط الكائنات الحية الدقيقة في التربة. أشارت النتائج إلى أنه كلما زاد تركيز ماء الجفت المضاف إلى التربة زادت كثافة الكائنات الحية الدقيقة فيها، واُعتبر التركيزان 70 % و100 % أي المعاملتين T4، T5 تركيزين مثبطين لنمو الميكروبات بالمقارنة مع المعاملة T3 ، حيث بلغت أعداد الكائنات على التوالي (17.4×10^4 كائن فطري/1 غ تربة) و (50.8×10^5 خلية بكتيرية /1غ) في المعاملة T4 مقابل (13.7×10^4 كائن فطري/1 غ تربة) و (38.7×10^5 كائن بكتيري /1 غ تربة) في المعاملة T5، أي أن استعمال ماء الجفت دون تخفيف أدى إلى انخفاض ملحوظ في أعداد الكائنات وذلك عند مقارنةً نتائج المعاملة T5 بالمعاملة T4، حيث انخفضت عنها

بنسبة (31.2 %) للبكتيريا و(27 %) للكائنات الفطرية، ولم تظهر أية فروقات معنوية بين التركيزين المرتفعين أي أنهما كانا متشابهين في قوة التأثير المثبط في أعداد الميكروبات. ويُمكن أن يُعزى ذلك إلى ارتفاع تراكيز المركبات الفينولية والأحماض المثبطة لنمو الكائنات الحية والمقاومة للمعالجة الحيوية والتحلل البيولوجي، كما بين ذلك العديد من الباحثين في تجاربهم على ماء الجفت (Gonzalez وزملاؤه 1999؛ Azbar وزملاؤه، 2004؛ Obeid وزملاؤه، 2005) والذين أكدوا التأثير السلبي لماء الجفت في خواص التربة كقلة الآزوت المتاح وعدم قدرته على الحركة (Saviozzi وزملاؤه،1991). ولدى مقارنة نتائج المعاملتين T1 وT2 مع المعاملات الأخرى المروية بماء الجفت، لوحظ انخفاضٌ في أعداد البكتيريا والفطريات فيها عن المعاملات كافة وبفروقات معنوية عند مستوى ($p \leq 0.01$) نتيجة لانخفاض تركيز ماء الجفت المستعمل في ريها وبالتالي قلة المواد الغذائية وضعف محتواها من المواد العضوية (Garcia وزملاؤه ، 1994)، ولعل انخفاض أعداد الكائنات الحية الدقيقة سواء كانت بكتيرية أو فطرية في التراكيز المنخفضة يعود غالباً لحدوث صدمة أولية وعدم توازن لهذه الكائنات نتيجة الري بماء الجفت لحين عودة النشاط المتزايد للكائنات بالتركيز الأعلى أي 50 % الذي بلغ أوجه فيها، لأنه من أهم صفات الميكروبات تطوير أجيال مقاومة للعوامل الفيزيائية والكيميائية المعرضة لها قادرة على تحمل هذا النوع من الإجهادات (Yang وزملاؤه، 2009).

• **التغيرات العددية للكائنات البكتيرية والفطرية لمعاملات التربة غير المعقمة والملقحة بكتيريا (S0I1):**

تُشير نتائج الجدول 6 إلى أن الفروقات كانت معنويةً على مستوى المعاملات T1، T2، T3 سواء كانت للفطريات أو للبكتريا. ويُلاحظ ازدياد أعداد البكتريا والفطريات بزيادة تركيز ماء الجفت في المعاملات أي السلوكية نفسها التي سلكتها الكائنات الحية الدقيقة في التربة غير المعقمة وغير الملقحة، إذ تفوقت المعاملة الثالثة (T3) على المعاملات كافةً، و بلغت أعداد الفطريات في الشاهد (6.34×10^4) مقابل (23×10^4) في المعاملة T3، وأعداد البكتريا في الشاهد (20.33×10^5) مقابل (68×10^5) في المعاملة T3، في حين تناقص عدد الكائنات الحية الدقيقة في المعاملتين (T4،T5) وهذا يُشير إلى أن لزيادة تركيز ماء الجفت أثراً مثبطاً في النشاط الميكروبي في التربة، كما وجد أيضاً لدى مقارنة نتائج التحليل للمعاملتين (T4،T5) عدم ظهور فروقات معنوية فيما بينهما لنوعي الكائنات الحية على حد سواء بالمستويين 1 % و 5 %. ولدى مقارنة نتائج الشاهد في التربة غير المعقمة وغير الملقحة مع نتائج الشاهد في التربة غير المعقمة والملقحة ظهر انخفاضٌ في تعداد البكتريا والفطريات، وقد يُعزى ذلك إلى زيادة نشاط البروتوزوا والريزوبيوفاج المفترسة لكائنات الريزوبيوم، ما أدى إلى تناقص التعداد العام البكتيري والفطري بين المعاملتين.

الجدول 6. متوسط أعداد الكائنات البكتيرية والفطرية لعينات التربة غير المعقمة والملقحة بكتيرياً والمضاف إليها ماء الجفت بتراكيز مختلفة للموسمين الزراعيين (2007/2008 و2008/2009).

تربة غير معقمة ملقحة(S0I1)		
المعاملات	خلية بكتيرية (10^5. غ$^{-1}$ تربة)	خلية فطرية (10^4. غ$^{-1}$ تربة)
T1	9.33	3.43
T2	16.00	18.33
T3	68.00	23.00
T4	43.33	14.10
T5	38.30	11.20
الشاهد	20.33	6.34
F	189.83**	24.45**
CV%	9.65	22.2
$LSD_{(0.01)}$	7.84	7.41
$LSD_{(0.05)}$	5.52	5.21

• **التغيرات العددية للكائنات البكتيرية والفطرية لمعاملات التربة المعقمة و غير الملقحة بكتيريا (S1I0).**

يُلاحظ من نتائج الجدول 7 تشابه نتائج المعاملات في هذه التربة في سلوكها العام مع نتائج معاملات الترب السابقة، حيث تفوقت المعاملة (T3) على بقية المعاملات، إذ بلغت نسبة الزيادة فيها عن الشاهد بحدود (84.57 %) للبكتيريا و(49.97 %) للفطريات، كما أشارت نتائج التحليل إلى تشابه أعداد البكتيريا في المعاملة T1 مع الشاهد نتيجة تماثل قيم pH التربة مع ماء الجفت، إذ كانت معتدلة في ماء الجفت ومائلة قليلاً إلى القلوية في الشاهد، وهي القيم التي تفضلها البكتيريا لنموها، في حين بلغت أعدادها في المعاملة (T2) (23.3×10^5 كائن /غ تربة) بزيادة معنوية على الشاهد مقدارها (58.5 %)، أما الفطريات فقد انخفضت أعدادها في المعاملة T1 عن الشاهد بفروقات معنوية واضحة لقيمة L.S.D عند المستويين (1 % و 5 %) بنسبة 52 %. ويُعزى ذلك إلى عدم توافر وسط حامضي لنمو مثالي للفطريات، في حين زادت أعدادها عند المعاملة (T2) بنسبة (30.27 %) مقارنةً مع الشاهد متفوقة عليه عند مستوى معنوية 1 %، وهذا يتوافق مع نتائج (Mechri وزملاؤه، 2008) التي أظهرت اضطراباً في نشاط

الميكوريزا الناجم عن إضافة تراكيز عالية من ماء الجفت في الزراعة.

الجدول 7 . متوسط أعداد الكائنات البكتيرية والفطرية لعينات التربة المعقمة وغير الملقحة بكتيرياً المضاف إليها ماء الجفت بتراكيز مختلفة للموسمين الزراعيين (2008/2007 و2009/2008) .

تربة معقمة غير ملقحة (S1I0)		
المعاملات	خلية بكتيرية (10^5. غ$^{-1}$ تربة)	خلية فطرية (10^4. غ$^{-1}$ تربة)
T1	9.1	3.67
T2	23.3	11
T3	62.67	15.33
T4	34.33	10.33
T5	29.46	9.62
الشاهد	9.67	7.67
F	237.54**	33.84**
CV%	8.97	13.44
$LSD_{(0.01)}$	6.44	2.35
$LSD_{(0.05)}$	4.53	3.34

- **التغيرات العددية للكائنات البكتيرية والفطرية لمعاملات التربة المعقمة والملقحة بكتيريا (S0I1):**

سلكت نتائج التحليل الميكروبيولوجي للترب المعقمة والملقحة بكتيرياً سلوكاً يُشابه ما سلكته نتائج الترب السابقة، فقد تفوقت المعاملة (T3) على بقية المعاملات عند مستوى معنوية 1 %، إذ بلغ عدد الكائنات البكتيرية فيها (35.33 × 10^5 خلية/1غ) مقابل (27.67 × 10^4 خلية/1غ) في الفطريات أي بزيادة على معاملة الشاهد مقدارها 70.67 % للبكتيريا و91.58 % للفطريات، وانخفضت أعداد الميكروبات عند عتبة 50 % (T3) التي توصلنا إليها في النتائج السابقة للمعاملتين (T5،T4)، إذ بلغت أعداد الخلايا البكتيرية فيهما على التوالي (13.67 × 10^5 و 11.85 × 10^5 خلية/1غ) أما الفطريات فكانت (17.6×10^4 و 14.7 ×10^4 خلية/1غ)، ولم تُشر نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود فروقات معنوية بين المعاملتين (T5،T4) في أعداد الخلايا الميكروبية، أما فيما يتعلق بالمعاملتين T1و T2، فيشير الجدول 8 إلى انخفاض أعداد الكائنات البكتيرية عن الشاهد والمعاملات الأخرى بفروق معنوية واضحة، أما لدى الفطريات فقد تشابهت نتائج المعاملة T1 مع الشاهد إحصائياً في حين تفوقت T2على الشاهد بنسبة 82.07 %، وبذلك وُجد أن التلقيح لم يؤدِ إلى تنشيط الكائنات الحية بل لعب ماء الجفت دورا مهماً في هذا النشاط على الرغم من تعقيم التربة بدليل ارتفاع أعداد الكائنات الحية سواء الفطريات أو البكتيريا بزيادة تراكيز ماء الجفت، وكان تأثيره في الفطريات أكبر من البكتيريا، وهذا يتوافق مع نتائج De la Rubia وزملاؤه (2007) التي أظهرت أنَّ ماء الجفت المضاف للتربة الزراعية يزيد من نمو الفطريات. كما إن التثبيط الملاحظ في التراكيز العالية من ماء الجفت عائدٌ إلى التأثير السلبي لماء الجفت في خواص التربة كقلة الآزوت المتاح وعدم قدرته على الحركة (Saviozzi وزملاؤه،1991).

الجدول 8 . متوسط أعداد الكائنات البكتيرية والفطرية لعينات التربة المعقمة و الملقحة بكتيرياً المضاف إليها ماء الجفت بتراكيز مختلفة للموسمين الزراعيين (2008/2007 و 2009/2008).

تربة معقمة ملقحة بكتيريا(S1I1)		
المعاملات	خلية بكتيرية (10^5. غ$^{-1}$ تربة)	خلية فطرية (10^4. غ$^{-1}$ تربة)
T1	5.67	4.33
T2	7.81	13
T3	35.33	27.67
T4	13.67	17.6
T5	11.85	14.7
الشاهد	10.33	2.33
F	158.28**	252.1**
CV%	11.37	8.65
$LSD_{(0.01)}$	4.28	2.91
$LSD_{(0.05)}$	3	2.05

4: تحديد أجناس الفطريات والبكتيريا في الترب المروية بماء الجفت:

إن من أكثر مستعمرات الفطريات انتشاراً في جميع أنواع الترب المستخدمة هي *Penicillium* ssp، إذ انخفضت نسبه بازدياد تراكيز ماء الجفت، ولكن نشاط هذا الفطر كان واضحاً لدى ري ماء الجفت للترب المعقمة والملقحة وزادت عن الشاهد في هذا النوع من الترب وخاصةً عند التركيز 50 % من ماء الجفت، يليه *Aspergillus* ssp الذي تزايدت أعداده في التراكيز الدنيا في التربة غير المعقمة وغير الملقحة وكانت أعلى من الشاهد. أما بقية المستعمرات: *Verticillium* ssp و*Fusarium* ssp و *Cladosporium* ssp فهي مستعمرات وُجدت بكمياتٍ قليلة ومتذبذبة.

بينت الدراسات أن الفطريات بمختلف أنواعها لا تنمو في تراكيز ماء الجفت أعلى من 50 % لاحتواء ماء الجفت على مكونات عديدة كالمركبات

الفينولية والسكريات والدهون والبروتين، بالإضافة لبعض المركبات العطرية التي أدت إلى تثبيط نمو هذه الكائنات الحية. وتُعد المركبات الفينولية حسب D'Anibale وزملاؤه (2004) من أكثر المضادات الفطرية المتواجدة في بقايا ماء الجفت وهذا يتوافق مع نتائج Aissam وزملاؤه (2007) الذين نصحوا باستعمال أنواع من الفطريات والخمائر في التخفيف من تركيز المواد الفينولية ذات التأثير المضاد للفطريات، و ما سلكته الفطريات سلكته البكتيريا، حيث أدّت إضافة ماء الجفت إلى تثبيط نشاطها. وهذا يتفق مع نتائج Di Serio وزملاؤه (2008)، الذين أوضحوا أنَّ الري بماء الجفت أدى إلى التقليل من نشاط بكتيريا النترجة، أي تنخفض بذلك القدرة على تثبيت الآزوت الجوي. وهذا يتوافق مع نتائجنا فيما لو حُللت عينات التربة بعد إضافة ماء الجفت بفترة وجيزة على عكس ما حصل في هذا البحث إذ حُللت عينات التربة في نهاية الموسم وبعد الحصاد، ولعل هذه الفترة سمحت بنمو وتكاثر أعداد الكائنات الحية من جديد، ما أدى لزيادة أعدادها ومردُّ ذلك على الغالب لزيادة الفترة الزمنية بين التأثير الآني لإضافة ماء الجفت وسميته.

إن من أهم البكتيريا التي وُجدت في ماء الجفت هو الجنس *Pseudomonas* ssp علماً أن Aresta وزملاؤه (2009) وجدوا أن هناك العديد من أنواع البكتيريا القادرة على التخفيف من سمية ماء الجفت وخاصة المركبات الفينولية، لأن هذه البكتريا تستخدم هذه المركبات الفينولية كمصدر وحيد للكربون لنشاطها. كما وجدت كائنات الـ *Staphylococcus* ssp. و *Sarcisa* ssp و *Bacillus* ssp. بنسب متفاوتة وفق درجة تركيز ماء الجفت المستخدمة في التجربة، وقد وجد Abid و Sayadi (2006) أن الري بماء الجفت للأراضي المزروعة بالذرة الصفراء أدى إلى تثبيط نشاط البكتريا المحبة للحرارة (Thermophilic bacteria و Thermophilic eumycete).

الاستنتاجات:

- تُعد إضافة ماء الجفت للتربة بتركيز 50 % هي الحد الأعلى لنشاط الكائنات البكتيرية والفطريات، في حين أثرت إضافة التركيزين (70 و100 %) لماء الجفت سلباً في تعداد ونشاط كل من البكتيريا والفطريات في التربة بالمقارنة مع المعاملة 50 %.

- لا يؤثر أي تركيز مستعمل من ماء الجفت في التوزيع المتجانس للأجناس الميكروبية في العينة العشوائية المزروعة على البيئات المغذية ضمن الأطباق.

المقترحات:

- الإقلال ما أمكن من استعمال ماء الجفت، وإن كان لا بد من إضافته ، فليكن بعد أن يُمدد بالماء العذب حتى 50 % وما دون، كون استعمال التراكيز العالية من ماء الجفت في ري المحاصيل سيؤدي حكماً إلى تثبيط نمو وتطور النباتات والكائنات الحية الدقيقة في التربة.

المراجع

Abid, N., S. Sayadi. 2006. Detrimental effects of olive mill wastewater on the composting process of agricultural wastes. Waste Manag.26 (10):1099 -1107.

Aissam, H., M . J. Penninckx., Benlemlih. 2007. Reduction of phenolics content and COD in olive oil mill wastewaters by indigenous yeasts and fung. World Journal of Microbiology and V G Biotechnology. M A 23:1203-1208.

Aguilera, M., M. T. Quesada., del Águila, Morillo., J A. Rivadeneyra, Ramos-Cormenzana, A., Monteoliva-M Sánche. 2008. Characterisation of *Paenibacillus jamilae* strains that produce exopolysaccharide during growth on and detoxification of olive mill wastewaters. Bioresource Technoloy.99: 5640-5644

Aresta, M., M. I. Acquaviva., F. Baruzzi., R. M. Lo Noce ., A. Matarante ., M. Narracci., L. Stabili., R. A. Cavallo. 2009. Isolation and characterization of polyphenols -degrading bacteria from olive-mill wastewaters polluted soil World Journal of Microbiology and Biotechnology,10.

Azbar, N., A . Bayram., A. Filibeli., A. Muezzinoglu., F. Sengul., A . Ozer. 2004. A review of waste management options in olive oil production. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol, 34(3) :209 -247.

Cabrera, F., R. Lopez., A. Martinez-Bordiu ., E. Dupuy de Lome., J.M. Murillo. 1996. Land treatment of olive oil mill wastewater International Biodeterioration and Biodegradation 38: 215-225.

D'Anibale , A., R.Casa., F.R. Pieruccetti., M. R, Marabottini. 2004. Lantinula edodus removes phenol from Olive Mill Waste water: impact on durum wheat (*Triticum durum* Dofs.) germinability .Chemosphere

53(4): 823–837.

Paixao, S. M., E. Mendoca., A. Picado., A. M. Anselmo. 1990. Acute toxicity evaluation of olive mill wastewater: A comparative study of three aquatic organisms Environ. Toxicol, 14: 263 - 269.

Paredes, C., J. Cegara., A. Roig., M. A. Sanchez-Monedero., M. P. Bernal. 1999. Characterization of olive mill wastewater (alpechin) and its sludge for agricultural purposes. Bioresource Technology, 67: 111 -115.

Piotrowska, A., G. Iamarino., M. R. Antonietta., L. Gianfreda. 2005. Short-term effects of olive mill waste water (OMW) on chemical and biochemical properties of a semiarid Mediterranean soil. Soil Biology& Biochemistry, 38: 600–610

Rinaldi, M., G. Rana., M. Introna. 2003. Olive-mill wastewater spreading in southern Italy: effects on a durum wheat crop. Field Crops Research, 84:319-326.

Saviozzi, A., R. Levi - Minizi., R. Riffaldi., A. Lupetti. 1991. Effettidello spandimento di acque di vegetazione sul terreno agrario Agronomica, 35: 135-148.

Taccari, M. M., F. Stringini., Comitini. 2009. Effect of *Phanerochaete chrysosporium* inoculation during maturation of co-composted agricultural wastes mixed with olive mill wastewater. [Journal Article, Research Support, Non-U.S. Gov't] Waste Manag, 29 (5):1615 -1621.

Tepper, E. Z., V. K. Shilnikova., G. I. Pereverzev. 1987. Practical of microbiology. 3 rd edn. Kolas.Moskow, 239 p. (In Russian).

Yang, J., J. W. Kloeppe., C. M. Ryu. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate *abiotic stress*. Plant Science Conference, Plant a biotic stress conference 19-21 Vienna, Austria.

54:887-894.

De la Rubia, T., M. J. Lucas., Martínez. 2008. Controversial role of fungal laccases in decreasing the antibacterial effect of olive mill wastewater-waters. Bioresour Techno, 99: 1018-1025.

Di Serio , M. G., B. M. Lanza., M.R. Russi., F. Iannucci., E. P. Marfisi., A. Madeo. 2008. Effects of olive mill wastewater spreading .on the physico-chemical and microbiological characteristics of soil. International Biodeterioration & Biodegradation, 62(4): 403-407.

Frankenberger, W.T.Jr., W.A.Dick. 1983.Relationship between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. Soil. Sci Soc. Am. J,47: 945-951

Garcia, C., T. Hernandez., F. Costa. 1994. Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions. Soil Biology & Biochemistry, 26: 457-466.

Gonzalez-Reyes, A., N. Urquia., W.J. Gehring., G. Struhl., G. Morata. 1990. Are cross-regulatory interactions between homoeotic genes functionally significant. Nature, 344: 78 - 80

Mechri, B ., F. Attia., M. Braham., S. Ben Elhaji., M. Hammami. 2007. Agronomie application of olive mill wastewater with phosphate rock in a semi-arid Mediterranean soil modifies the soil proprieties and decreases the extractable soil phosphorus. Journal of Environmental Management, 85: 1088 -1093.

Mechri, B., F. Ben Mariem., S. Baham., M. Ben Elhadj., M. Hammami. 2008. Change in soil properties and the soil microbial community following land spreading of olive mill wastewater affects olive trees key physiological parameters and the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biology & Biochemistry, 40(1) :152 -161

Obied, H. K., M. S. Allen., D. R. Bedgood., P. D. Prenzler., K. Robards., R .Stockmann. 2005. Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry,