P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2011 ,(5), (2) :19-25

التلوث البكتيري للترب المروية بمياه الصرف الصحي وتأثيره في بكتريا الازوتوبكتر *Azotobacter* spp.

هتاف عبد الملك احمد

جامعة بغداد - كلية العلوم

معلومات البحث:
تاريخ التسليم: 2010/11/2
تاريخ القبول: 2011/4/5
تاريخ النشر: / / 2022
DOI: 10.37652/juaps.2011.44097

الكلمات المفتاحية:
التلوث البكتيري،
الترب المروية بمياه الصرف الصحي،
Azotobacter spp.

الخلاصة:

جمعت عينات التربة من حقل مقسم الى خمسة الواح ومزروع بنبات القطن وتم ريه بمياه ري مختلفة شملت مياه ري اعتيادية (W0) ومياه بئر (W1) ومياه صرف صحي خام أي غير معالجة (W2) ومياه صرف صحي معالجة بطريقتين (W3وW4). تم التحري في هذه الترب عن وجود بكتريا Escherichia coli والسالمونيلا Salmonella spp. والشيكلا Shigella spp. والازوتوبكتر Azotobacter spp. فضلاً عن حساب العدد الكلي للبكتريا في التربة . وجد ان هناك تلوثاً بكتيرياً في التربة W2 بكتريا E.coli و Salmonella spp.و Shigella spp. وفي التربتين W3وW4 بكتريا E.coli و Salmonella spp. . وان تلوث التربة W2 لم يؤثر في وجود بكتريا Azotobacter spp. بشكل كبير في حين اثر تلوث

لمقدمة

تعد معالجة مياه الصرف الصحي واعادة استعمالها لاغراض الري من الخيارات المغرية ولاسيما في المناطق الجافة وشبه الجافة، لان هذه المياه تمثل مصدراً اضافياً ومتجدداً في امدادات المياه من جهة ومن الاسمدة من جهة اخرى .ان الزيادة في شحة المياه في العالم بصورة عامة والعراق خاصة دفع العديد من الباحثين والمزارعين الى استعمال مياه الصرف الصحي كمصادر بديلة لمياه الري، وان استعمالها خاصة بشكلها الخام (غير المعالجة بايولوجيا) قد يسبب حدوث تلوثاً بكتيرياً للتربة لاحتوائها على انواع واعداد كبيرة من البكتريا والفطريات الممرضة فضلاًعن الفايروسات والطفيليات والتي يمكن ان تقاوم في التربة لفترة طويلة، فقد ذكر (1) ان بكتريا *E.coli* و *Salmonella typhi* و *Vibrio cholera* و *Shigella spp.* تصمد في مياه الفضلات وعلى المحاصيل لمدة 3 و 2.5 و 1.5 و 1.5 شهراً على التوالي . ان هذه الاحياء قد تؤثرفي وجود بعض البكتريا المفيدة في التربة، اذ هناك انواع عديدة من هذه البكتريا تعيش بصورة حرة وقادرة على تثبيت النتروجين الجوي، وتساهم بتثبيت 0- 60 كغم /هكتار/ سنة (2). تعد بكتريا الازوتوبكتر *Azotobacter spp.* احد هذه الاحياء المثبتة للنتروجين الجوي بصورة حرة (لاتعايشية)، وتمتاز بان خلاياها عصوية اوبيضوية الشكل كبيرة الحجم (ذات قطر 1.5-2 مايكرون) ولها القابلية على تكوين الحويصلات، كما انها سالبة لصبغة كرام وموجبة للكاتليز وهي هوائية وتستطيع النمو تحت ظروف نقص الاوكسجين (3) . توجد الازوتوبكتر طبيعياً في التربة والماء وعلى جذور واوراق النباتات وان انتشارها في التربة يعتمد على صفات التربة والعوامل البيئية مثل محتوى التربة من

* Corresponding author at: Baghdad University - College of Science , Baghdad, Iraq;
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5859-6212 .Mobil:
E-mail address: scianb@yahoo.com

المادة العضوية والرطوبة ونسبة الكربون الى النتروجين (C:N ratio) و pH التربة، فضلاً عن العمليات الزراعية المختلفة وبصورة رئيسة السيطرة على الادغال التي تتم اما بالحراثة او باضافة المبيدات (4) . استعملت لقاحات بكتريا الازوتوبكتر من قبل العديد من الباحثين بوصفها سماداً حيوياً، وذلك باضافتها الى التربة أو رشاً على الاوراق (5)، بشكل منفرد أو مخلوط مع احياء مفيدة اخرى (6)، ووجد لها تأثيرات معنوية في النمو والحاصل لنباتات مختلفة (5،6).

المواد وطرائق العمل

جمع عينات التربة: جمعت عينات التربة من العمق 10–20 سم بعد نهاية تجربة نفذت في حقل مزروع بمحصول القطن ومروي (لمدة ستة أشهر) تحت نظام الري بالتنقيط باستعمال خمسة انواع من مياه الري هي :1. مياه الري الاعتيادية (W0). 2. مياه البئر(W1). 3. مياه صرف صحي خام أي غير معالجة (W2). 4. مياه صرف صحي معالجة بالطريقة الاولى[1] (W3). 5. مياه صرف صحي معالجة بالطريقة الثانية[2] (W4). حفظت عينات التربة بأكياس بلاستيكية وبدرجة حرارة الثلاجة (4 °م) لغرض اجراء الاختبارات البايولوجية الاتية:

1. استعملت أحواض معالجة بعمق 1.5م (لاهوائية) ومن ثم أحواض ضحلة (هوائية).
2. استعملت أحواض معالجة بعمق 2م (لاهوائية) ومن ثم أحواض ضحلة (هوائية).

حساب عدد الكلي للبكتريا(TBC): صب وسط الاكار المغذي(Nutrient agar) في اطباق تحوي على 1مل من تخافيف التربة وحضنت في 28 °م لمدة 72 ساعة.

التحري عن بكتريا الـ *E.coli*: صب وسط ماكونكي (MacConkey agar) في اطباق تحوي على 1 مل من تخافيف التربة وحضنت في درجة 37 °م لمدة 48 ساعة.

التحري عن بكتريا الـ*Salmonella spp.* و الـ *Shigella spp.*: نقلت 1 مل من تخافيف التربة الى اطباق بتري وصب عليها وسط السالمونيلا–شيكلا اكار (SSA) ثم حضنت في درجة 37 °م لمدة 48 ساعة.

التحري عن بكتريا الـ *Azotobacter spp.*: وزع الوسط السائل الخاص بعزل الازوتوبكتر (7) بحجم 100 مل في فلاسكات واضيف اليه 1 غم من عينة التربة، رجت القناني ثم حضنت في درجة 28 °م لمدة 4 – 7 يوم . عد تكون غشاء رقيق على سطح الوسط دليل على وجود بكتريا الازوتوبكتر.

التشخيص: اجريت عدة اختبارات وفحوصات مجهرية ومظهرية وكيموحيوية لتشخيص العزلات المستحصلة من التحريات السابقة واعتماداً على مصنف بيرجيز (Bergey's manual) (3).

– الفحص المزرعي: سجلت اشكال والوان المستعمرات النامية على الاوساط الزرعية .

– الفحص المجهري: فحصت البكتريا المصبغة بصبغة كرام بالمجهرالضوئي ولوحظت أشكالها وتجمعاتها وأستجابتها للصبغة.

– اختبار أنزيم الاوكسيديز: وضعت قطرة من المحلول الكاشف Cytochrome oxidase على ورقة ترشيح ثم نقلت اليها المستعمرة البكتيرية بوساطة عود خشبي (stick) وان ظهور اللون البنفسجي دليل على ايجابية الاختبار.

- اختبار أنزيم الكاتليز: أضيفت قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) 3% الى المستعمرة البكتيرية ولوحظ تحررالفقاعات الذي يعد نتيجة موجبة.
- اختبارالحركة : لقح وسط أختبار الحركة شبه الصلب (8) بالبكتريا وان ظهورمنطقة ضبابية نتيجة موجبة.
- اختباراليوريز: لقح وسط اكار اليوريا (Urea agar) بالبكتريا وحضن بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة، ويعد تغير لون الوسط من اصفر الى وردي نتيجة موجبة.
- اختبار أحمر المثيل : لقحت الانابيب الحاوية على وسط المثيل-فوكس بروسكاور (MR-VP medium) (9) بالعزلات البكتيرية وحضنت الانابيب بدرجات حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة، ان تغير لون الوسط الى الاحمر دليل على أيجابية الاختبار.

النتائج والمناقشة

أعداد بكتريا (TBC): أثرت نوعية المياه المستعملة بالري في اعداد البكتريا الموجودة في التربة (شكل1)، اذ ازدادت اعدادها في الترب المروية بمياه الصرف الصحي عموماً (W2 و W3 و W4) مقارنة بالترب المروية بمياه الري الاعتيادية ومياه البئر (W0 وW1) . ان اكبرعدد للبكتريا كان في التربة المروية بمياه الصرف الصحي غير المعالجة (W2)، اذ بلغ 321×10^6 وحدة تكوين مستعمرة (CFU).غم$^{-1}$ تربة جافة وان السبب في ذلك قد يعود الى وجود اعداد كبيرة من الاحياء المجهرية في هذه المياه الغنية بالمواد العضوية (10)، كما ان المواد العضوية المضافة الى التربة مع هذه المياه تشجع الزيادة في نمو وتكاثر الاحياء المحللة لها .

التحري عن بكتريا الـ *E.coli*: بينت النتائج الموضحة في الجدول (1) عائدية بعض العزلات التي تم الحصول عليها من الترب المروية بمياه الصرف الصحي الخام (W2) والمعالجة (W3 و W4) الى جنس الـ *Escherichia*، اذ كانت مستعمراتها النامية على وسط ماكونكي بنفس لون الوسط اي وردية اللون واتصفت خلاياها بانها عصوية الشكل سالبة لصبغة كرام ولاختبار الاوكسيديز واليورييز في حين اظهرت نتيجة موجبة لاختبار الكاتليز والحركة والنمو في وسط احمر المثيل (3) . اما الترب المروية بمياه الري الاعتيادية (W0) ومياه البئر (W1) فقد خلت من وجود بكتريا *E.coli* .

ان اعلى عدد لبكتريا *E.coli* وجد في التربة المروية بمياه الصرف الصحي غير المعالجة (W2) اذ بلغ 11.6×10^5 CFU. غم$^{-1}$ تربة جافة، اما في الترب المروية بمياه الصرف الصحي المعالجة فقد كانت اعداد هذه البكتريا اعلى في التربة المروية بالمياه W3 (4.5×10^5 CFU . غم$^{-1}$ تربة جافة) من التربة المروية بالمياه W4 (2.2×10^5 CFU. غم$^{-1}$ تربة جافة) (شكل 2) . وتبين هذه النتائج ان معالجة مياه الصرف الصحي قللت اعداد بكتريا *E.coli* في تلك المياه وانعكس ذلك بشكل واضح على وجودها في التربة . ولقد ذكر(1) ان بقاء بكتريا *E.coli* في مياه الفضلات وعلى التربة والمحاصيل الزراعية قد تصل الى مدة تزيد عن ثلاثة اشهر .

التحري عن بكتريا الـ*Salmonella spp.* و الـ *Shigella spp.*: وجدت بكتريا السالمونيلا في الترب المروية بمياه الصرف الصحي الخام والمعالجة (W2 و W3 و W4) وخلت الترب المروية بمياه الري الاعتيادية (W0) ومياه البئر (W1) من هذه البكتريا، اما بكتريا الشيكلا فقد وجدت في التربة المروية بمياه الصرف الصحي الخام (W2) ولم يتم

ايجادها في الترب المروية بمياه الري الاخرى . اذ تميزت بكتريا السالمونيلا و الشيكلا بوصفها سالبة لصبغة كرام ولاختبار انزيم الاوكسيديز وموجبة لاختبار انزيم الكاتليز وذات خلايا عصوية الشكل، وتميزت بكتريا السالمونيلا عن بكتريا الشيكلا بان الاولى نمت بمستعمرات بيضاء اللون على وسط الـ SSA وكانت متحركة مقارنة مع الثانية التي نمت بمستعمرات ذات مركز أسود على الوسط نفسه ولم تكن متحركة (جدول 2) .

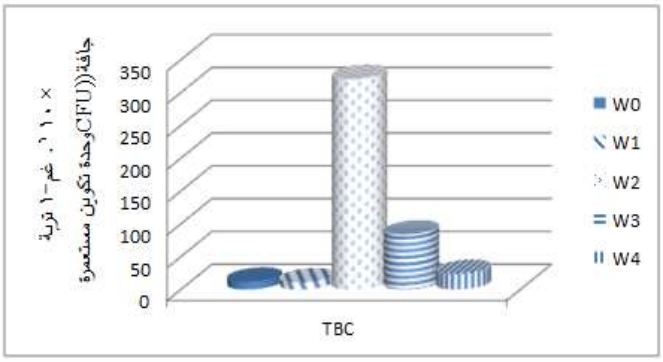
تباينت اعداد بكتريا السالمونيلا في الترب المروية بمياه الصرف الصحي وكانت الاعلى في التربة المروية بمياه الصرف الصحي الخام (W2) اذ بلغت 158.4×10^5 CFU. غم$^{-1}$ تربة جافة، تلتها التربة المروية بمياه الصرف الصحي المعالجة بالطريقة الاولى (W3) ثم الثانية (W4) اذ بلغتا 9.6×10^5 و 6.6× 10^5 CFU. غم$^{-1}$ تربة جافة على التوالي . وقد وجدت بكتريا الشيكلا باعداد اقل بكثير من بكتريا السالمونيلا في التربة المروية بمياه الصرف الصحي الخام (W2) اذ كانت 4.7× 10^5 CFU. غم$^{-1}$ تربة جافة (شكل 3) . لقد أسهمت معالجة مياه الصرف الصحي في تقليل أعداد بكتريا السالمونيلا (*Salmonella spp.*) بشكل كبير في هذه المياه مما قلل أعدادها الموجودة بتلك المياه، في حين أدت معالجة مياه الصرف الصحي الى القضاء كلياً على وجود بكتريا الشكيلا (*Shigella spp.*) . وقد اشار (1) الى صمود بكتريا السالمونيلا و الشيكلا بانواعهما في مياه الفضلات وعلى المحاصيل الزراعية لمدة تتراوح من 2.5 – 3 شهر ومن 1.5 – 2 شهر على التوالي.

التحري عن بكتريا الـ *Azotobacter spp.* وجدت بكتريا الازوتوبكتر في التربة المروية بمياه الري الاعتيادية (W0) والتربة المروية بمياه البئر (W1) التربة المروية بمياه الصرف الصحي الخام (W2) ولم يتم ايجادها في التربتين المرويتين بمياه الصرف الصحي المعالجة (W3 و W4)، وقد تميزت عزلات هذه البكتريا بانها سالبة لصبغة كرام وعصوية او بيضوية الشكل مكونة للحويصلات وموجبة لاختبارانزيمي الاوكسيديز والكاتليز ولاختبار الحركة (جدول 3) . يبين الشكل (4) ان اعلى عدد لبكتريا الازوتوبكتر كان في التربة المروية بمياه الري الاعتيادية (W0) اذ بلغ 10×10^3 CFU . غم$^{-1}$ تربة جافة في حين بلغت اعداد هذه البكتريا 5.8×10^{3}CFU . غم$^{-1}$ تربة جافة في التربة المروية بمياه الصرف الصحي الخام (W2) وبلغت 3.7×10^3 CFU . غم$^{-1}$ تربة جافة في التربة المروية بمياه البئر (W1). ان انخفاض أعداد هذه البكتريا في التربة المروية بمياه المجاري قد يعود الى احتواء مياه الصرف الصحي على اعداد كبيرة وانواع متعددة من الاحياء المجهرية التي قد تشكل منافساً او تكون مواد مضادة لهذه البكتريا . اما انخفاض اعدادها في التربة المروية بمياه البئر (W1) فقد يكون بسبب وجود بعض العناصر المعدنية الثقيلة أو نسبة من الاملاح في مياه البئر اعلى من تلك الموجودة في مياه الري الاعتيادية الامر الذي حدد من وجود هذه البكتريا . ان تعريض مياه الصرف الصحي باحواض المعالجة بنوعيها (W3 و W4) يرافقه نمو وتكاثر لاحياء اخرى مثل الطحالب وغيرها من الكائنات القادرة على تحليل المواد العضوية الموجودة في تلك المياه و قد يؤثر في نوعية تلك المياه ومن ثم في صفات التربة الكيميائية والحيوية المروية بها مما ينعكس سلباً في وجود بعض الاحياء التي تعد من فلورا التربة الطبيعية، ومنها بكتريا الازوتوبكتر وهي من الاحياء المثبتة للنتروجين المهمة للنبات والتربة خاصة في الترب العراقية الفقيرة بهذا العنصر. و يحتاج هذا الموضوع الى المزيد من البحث لدراسة تأثير هذه المياه في وجود بكتريا الازوتوبكتر وعلى فترات خلال موسم النمو.

8 – Atlas, R.M.; L.C. Parks, and A.E. Brown, (1995). Laboratory manual of experimental microbiology. Mosby-Year Book, USA.

9 – MacFaddin, F.J.(2000). Biochemical tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Printed in The United State of America.

10 – بنات، ابراهيم، كازمير بوشكاش و اسماعيل اسن . (1989). تنقية مياه الصرف الصحي باستخدام نظام الاحواض البكتيرية الطحلبية . مجلة العلم والتكنولوجيا . العدد 17 - 18 تموز:95 - 99.



شكل (1) معدلات اعداد البكتريا في الترب المروية بمياه ري مختلفة .

جدول (1) نتائج التحري عن بكتريا الـ E.coli والاختبارات المظهرية والمجهرية والكيموحيوية لها.

معاملات مياه الري / العزلات / الاختبارات	W0	W1	W2	W3	W4
	--	--	M4W2	M5W3	M8W4
النمو على وسط ماكونكي الصلب	--	مستعمرات وردية اللون (بلون الوسط)			
شكل الخلايا	--	عصوية			
التفاعل مع صبغة كرام	--	_			
اختبار انزيم الاوكسيديز	--	_			
اختبار انزيم الكاتليز	--	+			
اختبار الحركة	--	+			
النمو على وسط أحمر المثيل	--	+			
اختبار اليورييز	--	_			

المصادر

1 – Feachem. R., D. Bradley, H. Garelick, and D. Mara (1983). Health aspect of excreta and sullage managment. Appropriate Technology for water and supply and sanitation series, vol.3. Washington, D.C.: The World Bank (1).

2 – Bürgmann H, Manuel Pesaro, Franco Widmer and Josef Zeyer.(2003). Strategy for optimizing quality and quantity of DNA extracted from soil. Bacteriological Reviews. vol.36, 2:295-341.

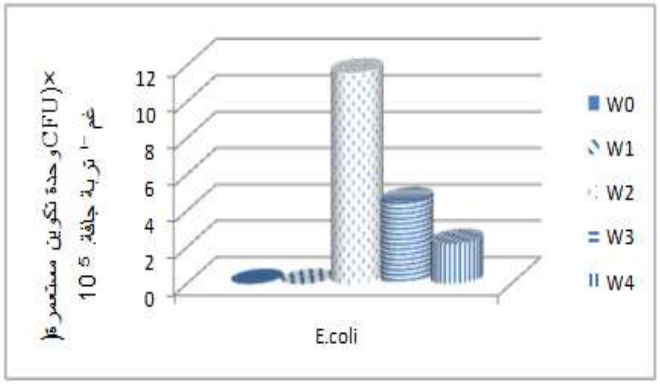
3 – Tchan, y.T., and P.B. New. (1984). Bergey's Manual of Determinative bacteriology. 9th ed. USA. Vol 1.P: 220- 229.

4 – Sharma, S. D., P. Kumar, H. Raj, and S.K Bhardwaj. (2009). Isolation of arbuscular mycorrhizal fungi and Azotobacter chroococcum from local litchi orchards and evaluation of their activity in the air-layers system. J.Scientia. 123: 117-123.

5 – Sudhakar, P., G. N. Chattopadhyay, S. K. Gangwar, and J. K. Ghosh. (2000). Effect of foliar application of Azotobacter, Azospirillum and Beijerinckia on leaf yield and quality of mulberry (Morus alba). The Journal of Agriculture Science. 134: 2:227-234.

6 – Rodelas, B., J. González-López, C. Pozo, V. Salmerón and M. V. Martínez-Toledo. (1999). Response of Faba bean (Vicia faba L.) to combined inoculation with Azotobacter and Rhizobium leguminosarum bv. Viceae. Applied Soil Ecology. 12 : 51-59.

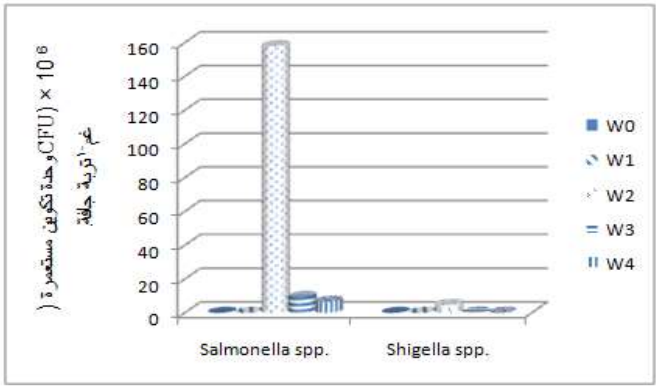
7 – Harold, J., Benson, WCB, Mc Graw Hill. (1998). Microbiological Application Laboratory manual in general microbiology. Seventh Edition.



شكل (2) معدلات اعداد بكتريا E.coli في الترب المروية بمياه ري مختلفة .

جدول (2) نتائج التحري عن بكتريا الـ Salmonella spp. والـ Shigella spp. والاختبارت المظهرية والمجهرية والكيموحيوية لها.

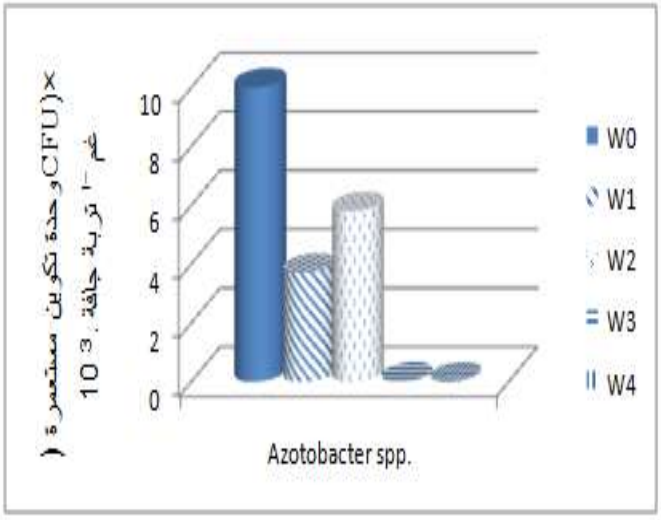
معاملات مياه الري / العزلات / الاختبارات	W0	W1	W2	W2	W3	W4
	--	--	SSA1-W2	SSA-W2	SSA-W3	SSA-W4
جنس عزلة البكتيريا			*Shigella*	*Salmonella*		
لون المستعمرات على وسط SSA	--		سوداء	بيضاء		
شكل الخلايا	--		عصوية	عصوية		
التفاعل مع صبغة كرام	--		_	_		
اختبار انزيم الاوكسيديز	--		_	_		
اختبار انزيم الكاتليز	--		+	+		
اختبار الحركة	--		_	+		



شكل (3) معدلات اعداد بكتريا الـ Salmonella spp. والـ Shigella spp. في الترب المروية بمياه ري مختلفة.

جدول (3) نتائج التحري عن بكتريا الـ *Azotobacter spp.* والاختبارت المظهرية والمجهرية والكيموحيوية لها.

معاملات مياه الري / العزلات / الاختبارات	W0	W1	W2	W3	W4
	AW0	AW1	AW2	--	--
التفاعل مع صبغة كرام	_			--	
شكل الخلايا	عصوية اوبيضوية			--	
تكوين الحويصلات	+			--	
اختبار انزيم الاوكسيديز	+			--	
اختبار انزيم الكاتليز	+			--	
اختبار الحركة	+			--	



شكل (4) معدلات اعداد بكتريا الـ*Azotobacter spp.* في الترب المروية بمياه ري مختلفة .

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2011 ,(5), (2) :19-25

THE BACTERIAL POLLUTION OF SOIL IRRIGATED WITH WASTEWATER AND ITS EFFECT ON *AZOTOBACTER* SPP.

Hutaf A.A.Alsalim

E.mail: scianb@yahoo.com

ABSTRACT:

Soil samples was collected from a cotton cultivated field that divided into five plots which irrigated with different irrigation water : regular irrigation water (W0), well water (W1), untreated wastewater (W2), and two ways treated wastewater (W3,W4). Investigations were carried out in these soils for the presence of *Escherichia coli*، *Salmonella spp*., *Shigella spp*., and *Azotobacter spp*. bacteria, as well as the total bacterial count. The results indicated the presence of a bacterial pollution in the W2 soil with the *Escherichia coli*، *Salmonella spp*., and *Shigella spp.* The results also indicated the presence of a bacterial pollution in the W3 and W4 soils with *Escherichia coli*، and *Salmonella spp*. The pollution of W2 soil did not affect *Azotobacter spp*. presence significantly, while W3 and W4 pollution affected survival of these bacteria.