Alq J Sci. 2026;2(4):440-444
https://doi.org/10.69667/ajs.26407
Alqalam Journal of Science
مجلـــة القلم للعلـوم
https://alqalam.utripoli.edu.ly/index.php/AR

اختبار عزلات محلية من بكتيريا *Rhizobium Leguminosarum* لمستويات مختلفة من الملوحة وامكانية استخدامها كسماد حيوي

فرج ابودرهيبة[1], محمد مختار[1]، عبد الرزاق بريدان[2]، عثمان الرميثي[2]، محمد النويجي[2]

[1] القسم العلمي للأنسجة النباتية، مركز الليبي لبحوث التقنيات الحيوية، طرابلس، ليبيا
[2] القسم العلمي للأحياء الدقيقة، مركز الليبي لبحوث التقنيات الحيوية، طرابلس، ليبيا
Faragessa96@gmail.com

الملخص

تمثل بكتيريا الريزوبيوم أحد اهم أنواع بكتيريا التربة المفيدة كونها تساهم في تثبيت النتروجين الجوي وتعيش تكافلية مع النباتات البقولية ويعتبر من أهم العناصر الغذائية للنبات، وأنه موجود في الهواء بنسبة 79% لكن النبات لا يمكنه الاستفادة منه مباشرة من الهواء تختلف تيسر هذا العنصر على حسب نوع التربة. الهدف من هذه الدراسة اختبار قدرة العزلات على النمو في بيئات ذات تراكيز ملحية مختلفة واختيار أفضل العازلات في تحملها للملوحة وإمكانية استعمالها سمادا حيويا بعد إجراء عدد من الدراسات الأخرى عليها. عزلت ست عزلات من بكتيريا *R. Leguminosarum* من العقد الجذرية لنبات الفول *vicia faba* جمعت من مناطق مختلفة في الغرب الليبي، بئر التوتة RL 01 سوق السبت RL 02 قصربن غشير RL 03 عين زارة RL 04 مسلاتة RL 05 الخمس RL 06، حيث أجريت عليها بعض الاختبارات الكيميائية لتاكيد هويتها، في هذا البحث تم دراسة تأثير عدة تركيزات من الملوحة على نمو بكتيريا الريزوبيوم على وسط غذائي ذات تراكيز مختلفة (0 ppm، 3000 ppm،6000 ppm، 9000 ppm) من كلوريد الصوديوم، وتحديد كفاءتها وقدرتها على النمو من خلال زراعة المستعمرات المعزولة، أظهرت النتائج أن مستعمرات الريزوبيوم RL 01 حدث لها تثبيط في كل التركيزات باستثناء الشاهد أما مستعمرات RL 04 فكان التثبيط في التركيز 6000 ppm و9000 ppm ومن بين العزلات الستة التي تمت دراستها كانت العزلات RL 02 و RL 03 و RL 05 هي الأكثر تحملا للملوحة، بينما كانت العزلة RL 06 اقل مقاومة للملوحة مقارنة بالعزلات السابقة.

الكلمات المفتاحية. *Rhizobium Leguminosarum*، الملوحة، الفول البلدي, *vicia faba* .

Abstract

Rhizobium bacteria are among the most important beneficial soil microbes because they contribute to atmospheric nitrogen fixation and live symbiotically with leguminous plants. Nitrogen is one of the essential nutrients for plants, present in the atmosphere at about 79%, but plants cannot directly utilize it from the air. Its availability depends on soil type. This study aimed to test the ability of isolates to grow in environments with different salt concentrations, select the best isolates for salt tolerance, and evaluate their potential use as biofertilizers after further studies. Six isolates of *R. leguminosarum* were obtained from root nodules of *Vicia faba* (broad bean) collected from different regions in western Libya: Bir Al-Touta (RL 01), Souq Al-Sabt (RL 02), Qasr Bin Ghashir (RL 03), Ain Zara (RL 04), Msallata (RL 05), and Al-Khums (RL 06). Some chemical tests were performed to confirm their identity. In this research, the effect of several salinity concentrations on *Rhizobium* growth was studied using nutrient media with different sodium chloride levels (0 ppm, 3000 ppm, 6000 ppm, 9000 ppm). Growth efficiency was assessed by culturing the isolated colonies. Results showed that RL 01 colonies were inhibited at all concentrations except the control, while RL 04 colonies were inhibited at 6000 ppm and 9000 ppm. Among the six isolates studied, RL 02, RL 03, and RL 05 were the most tolerant to salinity, whereas RL 06 was the least resistant compared to the others.

Keywords. *Rhizobium leguminosarum*, salinity, broad bean, *Vicia faba.*

المقدمة

يعيش في التربة العديد من الأحياء الدقيقة وتعتبر البكتريا أحد أهم الأحياء المساهمة في الدورات الكيميائية الحيوية الضرورية لتعزيز نمو المحاصيل، كما أن نوع التفاعل بين البكتريا والنبات يحدد مدى قوة هذا النبات وخصوبة التربة [1].

Copyright *Author (s) 2026. Distributed under Creative Commons CC-BY 4.0*
Received*: 12-02-2026 -* ***Accepted****: 10-04-2026 -* ***Published****: 19-04-2026*

Alq J Sci. 2026;2(4):440-444
https://doi.org/10.69667/ajs.26407
Alqalam Journal of Science
مجلـــة القلم للعلـوم
https://alqalam.utripoli.edu.ly/index.php/AR

ومن أهم العلاقات التي تنشـــأ من تفاعل البكتريا مع النبات هي علاقة التعايش، المرتبطة بتثبيت النيتروجين الجوي حيث تمثل علاقة تبادل المنفعة بين بكتيريا الرايزوبيوم Rhizobium والنباتات البقولية)مثل البرسيم والبازلاء والفاصـولياء والفول وفول الصـويا والحمص(أحد أشـهر العلاقات البيئية بين الميكروبات والكائنات الراقية، و نجد في هذه العلاقة أن كلا الكائنين يســتفيد من الآخر؛ حيث يقوم النبات بإمداد البكتيريا بالمصـــدر الكربوني)السكر(ومصادر الطاقة والأحماض العضوية وغير عضوية [2] فيما تقوم البكتيريا بتحويل النيتروجين N2 إلى أمونيا وهو الشكل الذي يستفيد منه النبات وذلك من خلال ما يسمى التثبيت الحيوي للنيتروجين.Biological nitrogen fixation

وتؤدي قدرة بعض النباتات على تثبيت النيتروجين الجوي إلى التقليل من اســتخدام الأسمدة النيتروجينية وبالتالي التقليل من تكلفة شــراء الأسمدة، لذا فإن اسـتخدام لقاح الرايزوبيوم في البقوليات يصـبح مهم لزيادة تثبيت النيتروجين وخاصـة في الترب ذات مسـتويات عالية من الملوحة، من الضـروري البحث على عزلات رايزوبيوم مقاومة للملوحة والتي يمكن اسـتعمالها على البقوليات في المناطق السـاحلية، الترب المالحة تفتقر بشـكل عام للعناصـر الغذائية ونشـاط الكائنات الحية الدقيقة. [3]. تعد الملوحة من أهم المشـاكل الموجودة في مناطق الجافة وشـبه الجافة بسـبب تأثيرها في نمو وانتاجية المحاصـــيل الزا رعية المختلفة، إذ تحتوي هذه الترب على كميات عالية من الاملاح الذائبة الكلية مما يســـبب ضـــغطا أسموزياً مرتفعاً خارج منطقة الامتصـاص و الذي بدوره يؤدي الى عدم استطاعة الجذور امتصـاص الماء و المغذيات اللازمة لحياة النبات. [4] اذ أشـارت الدراسـات إلى أن الملوحة تؤثر في حيوية و بقاء بكتيريا الرايزوبيوم و تكاثرها في التربة و تثبط عملية إصابتها للجذور و بالتالي تمنع عملية تكون العقد الجذرية ، إذ تؤثر في وظيفة العقد الجذرية و تقلل نمو النبات و التركيب الضـــوئي كما تســـبب في انخفاض الوزن الجاف للنبات والعقد الجذرية [5] وبناء على هذا فإن محاولات الحصول على عزلات من البكتيريا المقاومة للملوحة مهمة لتحسين لتكوين علاقة تكافلية بالنباتات البقولية.

إن دور ســـلالات الرايزوبيوم المقاومة للاجهاد الملحي امر لاغنى عنه لحل المشـــاكل المتعلقة بإنتاج المحاصـــيل في التربة المالحة، يمكن للرايزوبيوم المقاومة للملح أن تسـاعد النبات على التعامل مع الأجهاد الملحي، كما تسـاعد اسـتخدام بكتيريا الرايزوبيوم المقاومة للملوحة في اسـتعادة اختلال التوازن في النباتات من خلال تحفيز نمو الجذور وزيادةعدد العقد الجدرية المثبتة للنيتروجين.[6].

ان البكتريا المتحملة للملوحة قد تغير من بعض خصـائصـها البايوكيميائية و الوراثية لكي تصـبح قادرة على تحمل المسـتويات الملحية [7]. ومن خلال الدراسـات السـابقة لتحسـين اسـتخدام الرايزوبيوم في الحقل، من الضـروري الحصـول على سـلالات ذات خاصـية وكفاءة عالية في تثبيت النيتروجين في الظروف المحلية، وبالتالي زيادة انتاجية النبات.

مواد وطرق البحث

جمعت عينات الفول البلدي من عدة مناطق غرب ليبيا وهي الخمس وامسـلاتة وقصـربن غشـير والسـواني بن ادم وسـوق السـبت وعين زارة، حيث إن المناطق التي جمع منها العينات كانت متباعدة جغرافيا كذلك مختلفة في نوع التربة، تم جمع ثلاث نباتات من كل منطقة ووضـــعت العينات في أكياس بلاستيكية مع بطاقة تعريف بالمنطقة ومن تم نقلها الى معمل المركز الليبي لتقنيات الحيوية.

عزل وتعريف سلالات بكتيريا الرايزوبيوم

جرت عملية العزل لبكتيريا *R. leguminosarum* حيث جمعت العقد الجدرية الرطبة بعد فصـــلها من جذور النباتات، وغســـلت بماء مقطر المعقم، ثم غمرت بعد ذلك في الكحول الاثيلي (70 %) لمدة ثلاث دقائق بعد ذلك غســـلت مجددا بماء مقطر معقم ثلاث مرات، غمرت بعدها في محلول هايبوكلوريت الصوديوم .NaOCl

(3:1 ماء/هايبوكلورايت الصوديوم) لمدة 15 دقيقة غسلت بعدها بماء مقطر معقم وبمعدل ثلاث مرات للتخلص من بقايا محلول التعقيم، ثم سحقت العقد المعقمة في قليل من الماء المقطر المعقم باستخدام قضيب زجاجي معقم لتحرير بكتيريا الرايزوبيوم المتحنغة داخلها، وزرعت بالتخطيط على اطباق

Copyright Author (s) 2026. Distributed under Creative Commons CC-BY 4.0
Received: 12-02-2026 - **Accepted**: 10-04-2026 - **Published**: 19-04-2026

Alq J Sci. 2026;2(4):440-444
https://doi.org/10.69667/ajs.26407
Alqalam Journal of Science
مجلـــة القلم للعلـوم
https://alqalam.utripoli.edu.ly/index.php/AR

بتري معقمة تحتوي على وسط أجار مانيتول مستخلص الخميرة YEMA اختياري لبكتيريا الرايزوبيوم، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 28°م لمدة 48 إلى 72 ساعة.

اعتمد في التعرف على بكتيريا *R. leguminosarum* على الشكل الظاهري للمستعمرات النامية على الوسط الاختياري الصلب، وكذلك بناء على صبغة جرام وشكل الخلايا البكتيرية تحت المجهر. حيث إنها دائرية، محدبة، بيضاء، شبه شفافة، ومخاطية سالبة لصبغة جرام.

وبعد الحصول على مزارع نقية من R. leguminosarum حفظت بواسطة التجميد باستخدام الجليسرول بنسبة 20% والجلوكوز بنسبة 80% لاستخدامها في الدراسات المطلوبة [8].

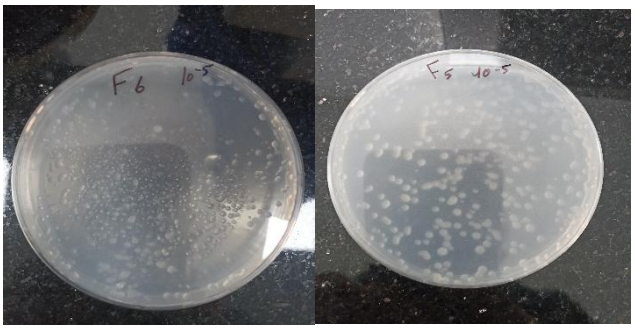
اختبار تأثير الملوحة على نمو ونشاط سلالات*R. leguminosarum* المعزولة محليا

زُرعت العزلات المختارة من بكتيريا *R. leguminosarum* 0.1 مللي معلق بكتيري ذا تركيز ثابت من كل العزلات المختبرة والذي كان 0.5 كثافة ضوئية optical density وبطريقة المسح زرعت العزلات المدروسة على بيئات MYA ذات التراكيز المختلفة من الملوحة (3،6،9 جرام/لتر)على وسط MYA المحضر باستخدام سكر المانيتول ومستخلص الخميرة والأجار إضافة إلى معاملة المقارنة والتي كان تركيز الملح فيها 0.06%، وذلك بمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز، ولكل عزلة من العزلات المدروسة. تم التحضين عند درجة حرارة 28 م لمدة 3-4 أيام، بعد أنتهاء فترة التحضين تمت حساب عدد المستعمرات المتكونة في الأطباق لمعرفة مقدرة البكتريا على النمو في التراكيز المختلفة من الملوحة.

النتائج والمناقشة

تم اختبار6 عزلات بكتيريا الرايزوبيوم من نبات الفول ومدى مقاومتها للملوحة والتي تم عزلها من ست مناطق مختلفة وهي منطقة بئر التوتة، سوق السبت، عين زارة، الخمس، مسلاتة، قصر بن غشير كان عدد المستعمرات البكتيرية بناءا على نتائج العدد الكلي للاطباق. تمت دراسة الخصائص الظاهرية للعزلات المختارة، إذ أنها أنتجت مستعمرات بيضاء، حليبية، دائرية لزجة، مرتفعة، شفافة وناعمة السطح كذلك سالبة لصبغة جرام و الشكل (1) يوضح نمو المستغمرات غلى الطبق المغذي

.



شكل (1) يبين مستعمرات بكتيريا الرايزوبيوم علي الوسط المغذي الاختياري (yeast mannitol agar)

جدول (1) يبين نمو بكتيريا الريزوبيوم على مستويات مختلفة من الملوحة

مستويات الملوحة من Nacl ppm				العزلات
9000	6000	3000	0	
0	0	0	$1.2*10^6$	RL 01
$1.5*10^5$	$1.8*10^5$	$2.2*10^5$	$3.1*10^6$	RL 02
$2.3*10^6$	$2.5*10^6$	$3.4*10^6$	$4.5*10^6$	RL 03

Copyright Author (s) 2026. Distributed under Creative Commons CC-BY 4.0
Received: 12-02-2026 - **Accepted**: 10-04-2026 - **Published**: 19-04-2026

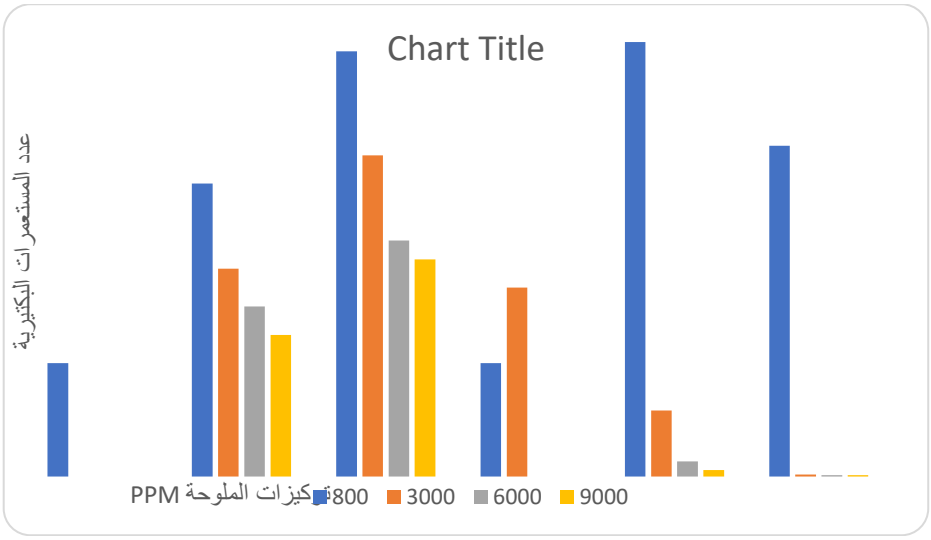
Alq J Sci. 2026;2(4):440-444
https://doi.org/10.69667/ajs.26407
Alqalam Journal of Science
مجلـــة القلم للعلـوم
https://alqalam.utripoli.edu.ly/index.php/AR

0	0	$2*10^6$	$1.2*10^6$	RL 04
$7*10^4$	$1.6*10^5$	$7*10^5$	$4.5*10^6$	RL 05
$1.4*10^4$	$1.4*10^4$	$2.1*10^4$	$3.5*10^6$	RL 06

اختبار مقاومة بكتيريا *R. leguminosarum* المعزولة من نبات الفول لمستويات مختلفة من الملوحة:

أظهرت النتائج أن افضـــل عزلة في النمو كانت RL03 حيث نمت في جميع مســـتويات الملوحة المختبرة 3000ppm، 6000ppm، 9000ppmولنمو هذه العزلة في التراكيز المختلفة اظهرت النتائج انه لم تظهر فيما بينها اي فروقات معنويةRL03 ، RL02 من ناحية قدرتها و مقاومته للملوحة حيث نمت على التراكيز المختلفة و لم تسجل اي فرق معنوي في نمو العزلة RL02 مابين مستويات الملوحة المختلفة قيد الدراسة اما بالنســـبة RL05 و RL06 لا توجد اي فروق معنوي بينهم في نموها و مقاومتها للملوحة الا انها كانت اقل قي النمو من RL02 و RL03و كانت RL04 اقل من كل العزلات مقاومة للملوحة.

عليه فإن أفضـــل عزلة كانت من منطقة قصـــربن غشـــيرحيث لم يكن للملوحة اى تأثيرعليها وهذا ربما ناتج عن طبيعة التربة والمنطقة المعزولة منها هذه العينة كما اشـــار اليها (9) يليها RL02 وكانت اقل معنويا مقاومة للملوحة من العزلة RL03 الا انها اجمالا أفضـــل من العزلة RL05 و RL06والعزلة RL04 كانت حســـاســـة لنســـبة الملوحة حيث لم تنمو في التركيزين 6000ppm و 9000ppmو كان نموها مقتصـــرا على التركيز ال 3000ppm والعزلة 1 RL0كانت أكثر العزلات حســـاســـية للملوحة حيث لم تنمو في اي تركيز من التراكيز الملوحة المســـتخدمة في الدراسة بينما نمت في التركيز 0 المستخدم كشاهد



تأثير تركيزات الملوحة على نمو عزلات بكتيرية مختلفة

المراجع

1. Kumar Jha C, Saraf M. Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR): a review. J Agric Res Dev. 2015;5(2):108-119.
2. Dobereiner J, Day JM. Associative symbioses and free living systems. In: Newton WE, Nyman CJ, editors. Proceedings of the 1st International Symposium on Nitrogen Fixation; 1974 Jun 3-7; Pullman, WA. Washington (DC): Washington State University Press; 1976. p. 518-538
3. Hussain M, Ashraf M, Saleem M, Hafeez FY. Growth and nodulation of soybean (Glycine max L.) as influenced by salt stress and Rhizobium inoculation. Pak J Agri Sci. 2002;39(1):32-34.
4. Mudgal V, Madaan N, Mudgal A. Biochemical mechanisms of salt tolerance in plants: a review. Int J Bot. 2010;6(2):136-143.

Copyright *Author (s) 2026. Distributed under Creative Commons CC-BY 4.0*
Received: *12-02-2026* - ***Accepted***: *10-04-2026* - ***Published***: *19-04-2026*

Alq J Sci. 2026;2(4):440-444
https://doi.org/10.69667/ajs.26407
Alqalam Journal of Science
مجلـــة القلم للعلـوم
https://alqalam.utripoli.edu.ly/index.php/AR

5. Bolaños L, El-Hamdaoui A, Bonilla I. Recovery of development of nodules and plant growth in salt-stressed Pisum sativum-Rhizobium leguminosarum symbiosis by boron and calcium. Plant Soil. 2003;250(1):107-115. (Note: Volume/issue added for completeness based on standard database records for this paper).
6. Smirnova I, Sadanov A, Baimakhanova G, Faizulina E, Tatarkina L. Using salt-tolerant Rhizobia to improve the soybean (Glycine Max) resilience to salinity. [Journal Name Abbreviation]. 2023;55(3):810-824. (Note: Please ensure the journal title is included if "55" refers to a specific periodical).
7. حسين ، نضال نعمة و حرب عادل و علي عبد الرحمن . 2011 . د راسة و راثية جزيئية عن تأثيرالملوحة في بعض عزلات بكتريا العقد الجذرية *Sinorhizobium meliloti* المعزولة من الترب العراقية، مجلة العلوم المستنصرية، 22 (1)
8. Morello JA, Granato PA, Mizer HE. Laboratory manual and workbook in microbiology. 7th ed. New York (NY): McGraw-Hill; 2003. p. 111-139.
9. Atlas, Ronald M and Bartha R 1998 Microbial Ecology Fundamentals and Applications Fourth edition (An imprint of Addison Wesley Longman, Inc.).

Copyright *Author (s) 2026. Distributed under Creative Commons CC-BY 4.0*
Received: *12-02-2026* - ***Accepted***: *10-04-2026* - ***Published***: *19-04-2026*