الجمهورية العربية السورية
جامـــعة دمشـــق
كليـــة الزراعة
قسم علوم التربة

تأثير الملوثات العضوية (نفط –ماء الجفت) في الخصائص الحيوية والخصوبية والإنتاجية للتربة وإمكانية معالجتهما حيوياً

The effect of organic contamination (petroleum oil, Olive Mill Wastewater) on soil biology, fertility and productivity propertis of soil and its possibility bioremediation

رسالة أعدت لنيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية

اختصاص (علوم تربة، مكروبيولوجيا التربة)

إعداد: المهندسة نبيلة كريدي

المشرف العلمي:
الدكتور محمد سعيد الشاطر
الأستاذ في قسم علوم التربة –كلية الهندسة الزراعية– جامعة دمشق

المشرف المشارك:
الدكتور محمد منهل الزعبي
مدير ادارة بحوث الموارد الطبيعية
الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية

دمشق 2019–2020

نوقشت هذه الأطروحة الموسومة بعنوان: تأثير الملوثات العضوية (نفط – ماء الجفت) في الخصائص الحيوية والخصوبية والإنتاجية للتربة وإمكانية معالجتهما حيوياً في جلسة علنية بتاريخ 29 / 12 / 2019

وأجيزت من قبل لجنة التحكيم التالية أسمائهم:

الأستاذ الدكتور: نجم الدين الشرابي

الأستاذ الدكتور: محمد سعيد الشاطر

الأستاذ الدكتور: محمود أبو غرة

مدير البحوث الدكتور: فواز كرد علي

الدكتور: أكرم البلخي

تصريح:

أصرح بأن البحث الموصوف في الأطروحة بعنوان (تأثير الملوثات العضوية (نفط –ماء الجفت) في الخصائص الحيوية والخصوبية والإنتاجية للتربة وإمكانية معالجتهما الحيوية) لا يوجد أي جزء من هذه الرسالة أو الأطروحة تم أخذه بالكامل من عمل آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في هذه الجامعة أو في أي جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي وأن كافة الأعمال والنتائج المذكورة هي نتيجة جهودي الشخصية وبتوجيه من المشرف والمشرف المشارك، وأن أية معلومات أو نتائج أخرى ذكرت قد نسبت إلى مصادرها ومؤلفيها في النص وفي قائمة المراجع.

المرشح:

نبيلة كريدي

شهادة المشرف والمشرف المشارك:

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة أو الأطروحة نتيجة عمل قام به المرشح نبيلة كريدي.

تحت اشراف الأستاذ الدكتور محمد سعيد الشاطر من جامعة دمشق كلية الزراعة – قسم علوم التربة.

والدكتور محمد منهل الزعبي (مشرفاً مشاركاً) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية – إدارة بحوث الموارد الطبيعية.

وأية مراجع أخرى بحثت في هذه الرسالة موثقة في النص.

المشرف المشارك

المشرف

الإهداء: بسم الله الرحمن الرحيم

إلى من خلقت البشرية لأجله وحثنا على العلم حين قال (ص): (اطلبوا العلم من المهد إلى اللحد).

إلى فلسطين المحتلة لرائحة البرتقال لمن أصبحت حلماً يغويني بدل من وطن يأويني.

لسوريتي لمن شعرت فيك بالأمان وضمني حضنك دون أن أكون أبناً لك وكنت أحن عليي من بلدي.

لكل من عانى وتألم مثلي ومر بأقصى الظروف مجاهداً ليحقق ولو القليل لرفع راية الأمة العربية.

لصديقاتي الغوالي اللواتي شاركتموني كل لحظات العمل.

لأصدقائي وزملائي من ساندتموني بدعمكم وتأييدكم.

لأهلي وأقاربي جيراني أحبتي.

أخوتي واخواتي يا من باعدت بيننا الحياة ومشاقها ولكن مكانهم في قلبي لم ولن يتغير.

أسرتي شمعاتي الثلاث اللواتي أعتز بهم وبوجودهم إلى جانبي.

زوجي الغالي مهما قلت لا أجزيك ما تستحق.

إليكم جميعاً أهدي عملي المتواضع.

الشكر: رحلة بحث وعمل دؤوب تكللت بإنجاز هذه الاطروحة أتوجه بجزيل الشكر وعميق الامتنان إلى أستاذي القدير الأستاذ الدكتور محمد سعيد الشاطر لإشرافه ورعايته وكل ما قدمه من توجيه ودعم واهتمام بأدق التفاصيل وكان نعم القدوة والمثل، والدكتور محمد منهل الزعبي المشرف المشارك الذي كان خير عون لي، كما أتوجه بالشكر إلى من تشرفت بدعمهم وتوجيههم لي الأستاذ الدكتور نجم الدين الشرابي والدكتور محمود أبو غرة والدكتور حسان درغام أساتذتي الأعزاء الذين لم يبخلوا علىّ بعلمهم ووقتهم وكانوا سنداً لي في كل خطوة قمت بها، كما أتقدم بالشكر إلى جميع الأساتذة الأعزاء في قسم علوم التربة وأخص بالذكر رئيس قسم علوم التربة د.أكرم البلخي كما لا أنسى راعية البحث العلمي المديرة العامة للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية د.ماجدة مفلح لدعمها الكبير للدراسات والأبحاث العلمية، والشكر الكبير لـ د.فرانسواه قره بيت و د.غسان أبو شامة و د.أمينة ابراهيم من كلية العلوم جامعة دمشق على ملاحظاتهم القيمة و إرشاداتهم العلمية التي أغنت البحث وأوصلتني لإتمام هذه الرسالة، ولكافة العاملين في مخبر الأراضي في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، لما قدموه من مساعدات وتسهيلات لإتمام هذا البحث، ولكافة العامين بمخبر الأمراض النباتية ومخابر المكافحة الحيوية –كلية الزراعة– جامعة دمشق لمنحي شرف العمل في مخابرهم

قائمة المحتويات: List of contents

	رقم الصفحة
الملخص	1
مقدمة عامة	4
الباب الأول: النفـــــــــــــط	7
الفصل الأول: المقدمة	8
المبررات	11
الأهداف	11
الدراسة المرجعية	12
الفصل الثاني: تأثير التلوث بنسب مختلفة من النفط في بعض الخصائص الحيوية والخصوبية لتربة مزروعة بنبات القمح	22
الأهداف	23
المواد والطرائق	23
المواد: التربة –النفط الخام	24
طرائق التحليل	24
التحاليل الفيزيائية والكيميائية للتربة	24
المواصفات الشكلية والإنتاجية لنبات القمح شام 6	24
تقدير الأحياء الدقيقة (المكروبيولوجية) في التربة	25
خطوات العمل	25
تصميم التجربة –التحليل الاحصائي	26
النتائج والمناقشة:	27
1–توصيف التربة	27
2–تأثير معاملات النفط في بعض الخصائص الخصوبية للتربة	27
3–تأثير معاملات النفط في التعداد الحيوي للكائنات الحية الدقيقة	29
4– تأثير معاملات النفط في الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح:	31
الفصل الثالث: عزل الفطور والبكتيريا من تربة ملوثة بالنفط واختبار فعاليتها في تفكيك المركبات الهيدروكربونية الموجودة بالنفط	34
المقدمة –الأهداف	34

المواد والطرائق: النفط الخام –التربة الملوثة بالنفط 34
مراحل العمل 35
1.طرائق العزل من الترب الملوثة بالنفط: الطريقة المباشرة: 35
2.1.طريقة المرق باكتو بوشنل–هاس: 36
2.التوصيف:2 .1.التعرف على العزلات الفطرية: 37
2.2 التعرف على العزلات البكتيرية
3. التأكد من قدرة العزلات على التحليل النفطي: 37
1.3. طريقة بوشنل هانس:
2.3.اختبار Mineral Salt Medium (MSM) في بيئة معدلة: 38
4.اختبار العزلات الأكثر فعالية باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازي –Chromato graphy Gas 38
النتائج والمناقشة:1نتائج العزل وتوصيف الفطور والبكتيريا: 40
1.1.الفطريات المعزولة من الترب الملوثة بالنفط: 41
2.1 . البكتيريا المعزولة من الترب الملوثة بالنفط: 42
2.نتائج تجربة بوشنل هانس لتقييم قدرة العزلات الفطرية والبكتيرية في تحليل المركبات النفطية::1.2.للعزلات المفردة 43
1.1.2الفطريات 43
2.1.2.البكتيريا 43
2.2.التآزر بين العزلات الفطرية: 47
3.نتائج تجربة MSM (بيئة الأملاح المعدنية المعدلة)للعزلات الفطرية الفعالة 47
4- التغير في طبيعة المواد المكونة للنفط عند معاملتها بالعزلات الفطرية والبكتيرية المفردة والمتآزرة باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغازي 48
1.4. التغير في طبيعة المواد المكونة للنفط عند معاملتها بالعزلات الفطرية المفردة والمتآزرة: 48
2.4. التغير في طبيعة المواد المكونة للنفط عند معاملتها بالعزلات البكتيرية المفردة والمتآزرة 50
الفصل الرابع 63
استعمال أحياء دقيقة معزولة محلياً في معالجة الترب الملوثة بالنفط الخام
الأهداف
المواد وطرائق الدراسة: 63

التربة– النفط الخام– الملقح البكتيري – الملقح الفطري– المخلفات البقرية– الأزوت
تصميم التجربة– التحليل الإحصائي – طرائق التحليل 64
النتائج والمناقشة 66
1.الخصائص الخصوبية للتربة 66
2.تأثير طرائق المعالجة في تحسين بعض الخصائص الخصوبية للتربة بعد الزراعة 66
3.نتائج التعداد الحيوي 71
نتائج تحاليل النبات 74
الفصل الخامس: الاستنتاجات 77
التوصيات 78
الباب الثاني : مـــــاء الجفت(المياه الناتجة عن عصر الزيتون) 79
الفصل الأول: المقدمة 79
المبررات 81
الأهداف Objectives 81
الدراسة المرجعيةLiterature Review 81
الفصل الثاني: تأثير نسب مختلفة من ماء الجفت في بعض الخصائص الخصوبية والمركبات الفينولية والتعداد الحيوي لتربة مزروعة بالقمح 95
المبررات 95
الأهداف 95
المواد والطرائق : التربة –ماء الجفت 95
توصيف التربة : 96
خطوات العمل : تصميم التجربة الحصاد طرائق التحليل 96
تحليل محتوى التربة من المركبات الفينولية 97
النتائج والمناقشة 98
1–نتائج تحليل بعض الخصائص الخصوبية للتربة 98
المتبقي من المركبات الفينولية في التربة بعد الزراعة 100
نتائج التعداد الحيوي 100
نتائج التحاليل المتعلقة بالنبات 102
الفصل الثالث: عزل سلالات من الأحياء الدقيقة القادرة على تفكيك المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت 105
مبررات الدراسة أهداف الدراسة 105

المواد والطرائق 105
المواد: ماء الجفت –التربة الملوثة بماء الجفت 105
الطرائق: طريقة الأولى –طريقة الثانية 106
التأكد من قدرة العزلات مفردة على تحليل المركبات الفينولية 107
التعرف على العزلات الفطرية 108
التعرف على العزلات البكتيرية 108
النتائج والمناقشة 109
العزلات الفطرية الناتجة من الترب الملوثة 109
العزلات البكتيرية الناتجة من الترب الملوثة: 110
اختبار قدرة السلالات المعزولة على تحليل المركبات الفينولية 110
الفصل الرابع 113
تأثير الاحياء الدقيقة المعزولة محلياً في تحسين الخصائص الخصوبية والحيوية للترب الملوثة بماء الجفت
مبررات الدراسة: 113
أهداف الدراسة : 113
المواد والطرائق: التربة– ماء الجفت– الملقح الفطري و البكتيري– مخلفات الابقار – الأزوت 113
تصميم التجربة 115
طرائق التحليل للتربة والنبات 115
تقدير الأحياء الدقيقة (المكروبيولوجية) في التربة 115
النتائج والمناقشة 116
1. تاثير معاملات المعالجة في تحسين بعض الخصائص الخصوبية للتربة بعد الزراعة 116
نتائج التعداد الحيوي 118
محتوى التربة من الفينولية 121
نتائج تحاليل النبات 122
الفصل الخامس: الاستنتاجات 125
التوصيات 125
الاستنتاجات العامة–التوصيات العامة –المقترحات 126
المراجع 127

فهرس الجداول

1	درجة تدهور الترب الجافة بحسب محتواها من النفط	22
2	بعض مواصفات النفط المستعمل في التجربة	24
3	بعض خصائص التربة المستخدمة للزراعة	26
4	تأثير معاملات النفط في بعض الخصائص الخصوبية للتربة بعد حصاد محصول القمح	29
5	التعداد الحيوي للفطور والبكتيريا في التربة بعد حصاد محصول القمح	30
6	تأثير معاملات النفط في الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح	32
7	توصيف وتصنيف الفطريات المعزولة من الترب الملوثة بالنفط	41
8	توصيف وتصنيف البكتيريا المعزولة من الترب الملوثة بالنفط	43
9	% للمواد المكونة للنفط الخام والنسبة المئوية للتغير الكلي لهذه المواد بعد المعاملة بالفطور	49
10	% للمواد المكونة للنفط الخام والنسبة المئوية للتغير الكلي لهذه المواد بعد المعاملة بالبكتيريا	57
11	نتائج تحليل المخلفات البقرية	64
12	بعض الخصائص الخصوبية للتربة	66
13	تأثير اضافة معاملات المعالجة في بعض الخصائص الخصوبية للتربة المدروسة الملوثة بالنفط	69
14	التعداد الحيوي للفطور والبكتيريا في التربة بعد المعالجة	73
15	تأثير معاملات المعالجة في الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح	75
16	مكونات ماء الجفت وفقاً لطريقة الاستخلاص	84
17	بعض صفات ماء الجفت المستعمل في التجربة	95
18	تأثير مستويات ماء الجفت في بعض الصفات الخصوبية للتربة بعد حصاد القمح	99
19	تأثير مستويات ماء الجفت في معدل المركبات الفينولية للتربة المدروسة	100
20	التعداد الحيوي للفطور والبكتيريا في التربة بعد حصاد محصول القمح	101
21	تأثير معاملات الجفت في الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح	103
22	تحديد هوية العزلات الفطرية	109
23	تحديد هوية العزلات البكتيرية	110
24	المتحلل من المركبات الفينولية من ماء الجفت المعقم وغير المعقم	112
25	رموز معاملات التجربة	115

26 تأثير معاملات المعالجة في تحسين بعض الخصائص الخصوبية للتربة بعد الحصاد 117
27 التعداد الحيوي للفطور والبكتيريا 120
28 تأثير معاملات المعالجة على الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح 124

قائمة الأشكال والصور:

عنوان الشكل	رقم الصفحة
الصورة 1 التغير اللوني لوسط بوشنل هاس الملقح بالعزلات الفطرية المعزولة من الترب الملوثة بالنفط	44
الصورة (2) التغير اللوني لوسط بوشنل هاس الملقح بالعزلات البكتيرية المعزولة من الترب الملوثة بالنفط	64
المخطط البياني (1) قراءة التغير اللوني للعزلات الفطرية في ببيئة بوشنل هانس خلال7 أيام	44
المخطط البياني (2) قراءة التغير اللوني للعزلات الفطرية ببيئة بوشنل هانس بعد مرور7 أيام باستخدام جهاز المطياف الضوئي	64
الصورة (3) قدرة العزلات الفطرية والبكتيرية مجتمعة على التحلل النفطي في بيئة بوشنل هانس	47
الصورة (4) نمو العزلات الفطرية في وسط MSM(على اليمين Penicillium ، على اليسار Aspergillius)	48
شكل (1) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط في شاهد بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي	25
شكل (2) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط في معاملة فطر 3بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي	35
شكل (3) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط في معاملة فطر6 بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي	45
شكل (4) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط في معاملة فطر7 بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي	55
شكل (5) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط في معاملة الفطر متأزرة بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي	65

شكل (6) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط غير المعالج بالشاهد بعد تحليلها بجهاز الكرموتوغرافيا الغازي 58

شكل (7) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط المعالج ببكتيريا2 بعد تحليلها بجهاز الكرموتوغرافيا الغازي 59

شكل (8) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط المعالج ببكتيريا 7 بعد تحليلها بجهاز الكرموتوغرافيا الغازي 06

شكل (9) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط المعالج بالبكتيريا 9 بعد تحليلها بجهاز الكرموتوغرافيا الغازي 61

شكل (10) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط المعالج بالبكتيريا مجتمعة بعد تحليلها بجهاز الكرموتوغرافيا الغازي 62

شكل (11) توزع معاصر الزيتون في سورية حسب (عباس ،2018) 86

شكل (12) بنية بعض المركبات الفينولية المعزولة من ماء الجفت (Ayadi،2002) 94

شكل (13) محتوى التربة من المركبات الفينولية 125

تأثير الملوثات العضوية (نفط –ماء الجفت) في الخصائص الحيوية والخصوبية والإنتاجية للتربة وإمكانية معالجتهما حيوياً

الملخص:

درس تأثير الملوثات العضوية الناتجة عن النشاط البشري، كالمركبات الهيدروكربونية الموجودة في النفط الخام والمركبات الفينولية في ماء الجفت، في النشاط الحيوي للتربة وخصوبتها، إضافة إلى المعالجة الحيوية لها.

في الدراسة المتعلقة بالنفط، نفذت تجربة في أصص حوت على تربة ملوثة صناعياً بالنفط الخام، لدراسة تأثير هذا الملوث في بعض خصائص التربة الخصوبية وعدد الأحياء الدقيقة في التربة، ونمو نبات القمح وإنتاجيته. لوثَت التربة بالنفط الخام بتراكيز (100–75–50–25–0غ نفط/ كغ تربة)، وزرعت بمحصول القمح. بينَت النتائج وجود زيادة معنوية في ملوحة التربة والمادة العضوية والآزوت الكلي في التربة. في حين انخفض محتواها من عنصري الفسفور والبوتاسيوم المتاحين، معنوياً، بزيادة معدل النفط الخام المضاف إلى التربة. كما انخفض معنوياً التعداد الحيوي للبكتريا والفطور وإنتاجية محصول القمح مع زيادة مستوى النفط في التربة. جرى عزّل عزلات فطرية وبكتيرية من ترب ملوثة مسبقاً وبشكل طبيعي بالنفط الخام بهدف التعرف على العزلات القادرة على معالجة التلوث النفطي في الترب الزراعية. اختبرت قدرة هذه العزلات على تحليل النفط الخام بصورة انفرادية وأيضاً بالتآزر بين العزلات المختلفة. جرى عزل تسع عزلات فطرية، وتسع عزلات بكتيرية. تماثلت العزلات كافة بقدرتها على البقاء في وسط مغذي، حيث استعيض فيه عن الكربون، بالنفط الخام كمصدر وحيد. اختلفت قدرة العزلات على تحليل هذه المركبات بنسب متفاوتة، حيث

تفوقت العزلات الفطرية، منفردةً أو مجتمعةً، التي تنتمي للأجناس التالية: *Penicillium sp, Aspergillius neger Cladosprium sp*، والعزلات البكتيرية تنتمي إلى الأجناس التالية *Micrococcus sp* و*Pseudomonas sp* و *Bacillus sp* على باقي العزلات، بقدرتها على احداث تغير لوني أكبر في بيئة بوشنل هاس، وفي إظهار تغير في تركيب المواد الموجودة في النفط الخام، باستخدام جهاز الكروموغرافيا الغازي، ولمعرفة تأثير العزلات الفعالة السابقة في خفض مستوى التلوث النفطي في الترب الملوثة بمعدلات كبيرة من النفط، تم تنفيذ تجربة أصص، حيث أضيف النفط إلى التربة بمعدل 100غ/كغ. أدت المعالجة الحيوية للتربة إلى زيادة معنوية في محتوى التربة من الفسفور والبوتاسيوم المتاحين وفي التعداد الحيوي للفطور والبكتيريا، كما حسنت من إنتاجية نبات القمح. تفوقت معاملة الملقح الفطري +أزوت + مخلفات الأبقار، 5.8(طن/هـ)، على التربة الملوثة بدون معالجة (0.432 طن/هـ).

وفي الدراسة المتعلقة بماء الجفت، نفذت تجربة أصص، بهدف معرفة تأثير إضافة كميات مختلفة من ماء الجفت (100-0- 200-300-400 م^3/هـ)، في بعض الخصاص الخصوبية للتربة والمركبات الفينولية والتعداد الحيوي وإنتاجية نبات القمح. بينت النتائج وجود زيادة معنوية في ملوحة التربة مع زيادة معدلات ماء الجفت المضافة، وازداد محتوى الآزوت الكلي والمعدني والفوسفور والبوتاسيوم المتاحين في التربة والتعداد الحيوي وإنتاجية نبات القمح معنوياً في المعاملة 100 م^3/هـ. في حين انخفض محتوى التربة من العناصر السابقة مع زيادة الكمية المضافة من ماء الجفت فوق 100 م^3/هـ. إضافة إلى ذلك، ارتفع محتوى التربة من المركبات الفينولية معنوياً مع زيادة معدل ماء الجفت المضاف في المعاملات كافة مقارنة بالشاهد. جرى عزل عشر عزلات من الأحياء الدقيقة المحلية القادرة

على تفكيك المركبات الفينولية الموجودة في مياه عصر الزيتون، ومن ماء الجفت، ومن الترب المشبعة به، ومن المستعمرات التي تتشكل على أسطح أوعية حفظ الزيتون المنزلي. اختبرت قدرة الأحياء الدقيقة المعزولة على تفكيك المركبات الفينولية، وذلك من خلال تنميتها في أوساط مغذية تحتوي المركبات الفينولية مصدراً وحيداً للكربون. لوحظ تفوق العزلات الفطرية التابعة للأجناس *Penicillium sp* و *Aspergillus flavos* والعزلات البكتيرية التابعة للأجناس *Pseudomonas sp* و *Bacillus sp* في قدرتها على تفكيك المركبات الفينولية على باقي السلالات المعزولة. وبناءً عليه، أجريت تجربة حقلية، بهدف تقييم فعالية العزلات السابقة، على تفكك المركبات الفينولية في التربة. أضيف ماء الجفت بمعدل 400 م^3/هـ، حيث جرت دراسة عشر معاملات مختلفة بما فيها الشاهد، والتي تناولت المعالجة الفطرية و/أو البكتيرية، إضافة وعدم إضافة كل من مخلفات الأبقار أوالآزوت. أدت المعالجة الحيوية إلى زيادة معنوية في محتوى التربة من الفسفور والبوتاسيوم المتاحين، وفي التعداد الحيوي للفطريات والبكتيريا، وفي إنتاجية محصول القمح، وترافق ذلك مع انخفاض معنوي في محتوى التربة من المركبات الفينولية.

الكلمات المفتاحية: معالجة حيوية، أحياء دقيقة، مياه الجفت، نفط، تربة

مقدمة عامة:

تعد التربة من أعقد الأنظمة الطبيعية لأنها تؤلف نظاماً خاصاً متعدد الأطوار وغير متجانس فهي تتكون من طور صلب وطور سائل وطور غازي (سلوم وزملائه،2010). وأشار أبو نقطة والشاطر (2011) إلى أن الطور الحي هو الطور الرابع للتربة، حيث تحتوي التربة على كثير من الكائنات الحية الدقيقة، والديدان، والحشرات. يؤدي دخول مواد غريبة في التربة أو زيادة في معدل إحدى مكوناتها الطبيعية إلى تغير في التركيب الكيميائي والفيزيائي لها، ويطلق على هذا التغير تلوث التربة (شحاته، 2000)، ومن جهة أخرى عرَف finney (1987) تلوث التربة بوجود بعض المكونات الناتجة عن النشاط البشري في التربة بنسب يمكن أن تسبب ضررا للإنسان، أو تفرض قيوداً على استخدام هذه الترب، كما بين الخطيب (2004) أنه يمكن تقسيم ملوثات التربة إلى ملوثات عضوية (كالمركبات الفينولية والمركبات الهيدروكربونية العطرية كمنتجات البترول وبعض المبيدات) وملوثات لا عضوية (كالعناصر الثقيلة).

تعد المادة العضوية أحد الاجزاء الهامة المكونة للجزء الصلب من التربة، وتتكون عادة من بقايا نباتية وحيوانية والاحياء الدقيقة التي تقوم بتفكيكها بشكل كلي أو جزئي من خلال تحطيم الروابط الكربونية فيها، وقد تكون هذه الروابط حلقية أو عطرية صعبة التفكك فتشكل معقدات تلوث التربة.

يوجد اختلاف كبير بين كل من الملوثين العضويين النفط كملوث صناعي وماء الجفت الملوث الطبيعي، الا أنهما يتشابهان بكونهما يتسببان بتلويث التربة بمادة عضوية صعبة التفكك في التربة، كما يتشابهان بمنهجية العمل وآلية التتبع من خلال دراسة الأثر الضار لكل منهما في التربة وإمكانية معالجتهما بطريقة التحلل الحيوي.

يعد التحلل الحيوي طريقة طبيعية لتحطيم المادة العضوية إلى مواد ذات تركيب أبسط، وتقوم بهذه العملية التجمعات الحيوية (بكتيريا، فطريات، أوليات) وغيرها من الكائنات الحية التي تتغذى على المواد العضوية والكائنات الميتة، حيث تعتمد على المادة العضوية كغذاء

لها، ويمكن أن يكون التحلل الحيوي هوائياً بوجود الأكسجين أو لاهوائي بدونه. تقوم الكائنات الدقيقة بإفراز مؤثر سطحي حيوي خارج الخلية يساعد في عملية التحلل الحيوي (Lendlein وLanger، 2002). قد تكون المادة المحللة عضوية، كالمخلفات النباتية أو الحيوانية، أو مادة صناعية، حيث أن لبعض الأحياء فعل انتقائي في تحليل وتحويل مجموعة ضخمة من المركبات العضوية، بما فيها المركبات الهيدروكربونية الاليفاتية و العطرية المتعددة الحلقات، والمركبات المتعددة الفينولات، وتعتمد سرعة التحلل على بنية المادة وتركيب الذرات المتراصة بعضها ببعض وليس على المادة الخام(Parales وزملاؤه، 2008).

ازداد الاهتمام في السنوات الأخيرة باستخدام المعالجة الحيوية للقيام بعملية التفكك الحيوي للملوثات العضوية، حيث تقوم هذه الأحياء بتفكيك المركبات صعبة التحلل إلى مركبات أبسط وأقل سمية، خاصة البكتيريا التي لها القدرة على استعمال مركبات الكربون الموجودة في الملوثات العضوية الصعبة التفكك كمصدر للطاقة اللازمة لها، بالإضافة لقدرتها على انتاج وإفراز مواد شبيهة بمواد التنظيف حيث تقوم هذه المواد ببعثرة المواد الملوثة على شكل قطرات صغيرة.

يواصل المهتمون في هذا المجال، البحث عن طرائق معالجة، من المرجح أن تؤدي إلى اكتشاف العديد من الكائنات الحية الدقيقة، التي تتمتع بخصائص فريدة من نوعها، وتؤدي إلى تحسين عملية المعالجة الحيوية للملوثات العضوية، ووفقاً لما سبق، تبدو أن الحاجة ملحة إلى دراسة تأثير الملوثات المذكورة في خصائص التربة الزراعية في الجمهورية العربية السورية وإيجاد طرائق فعالة لمعالجة هذا التلوث، من خلال عزل أحياء دقيقة من التربة السورية، غير المحورة ورائياً او مجهولة المصدر، ولها القدرة على تفكيك هذه الملوثات والحد من تأثيراتها السلبية على البيئة.

الباب الأول

النفط

الفصل الأول:

1. المقدمة **Introduction**.
2. المبررات **Justifications**.
3. الأهداف **Objectives**.
4. الدراسة المرجعية **Literature Review**.

الفصل الأول:

المقدمة Introduction:

عرف الأنسان النفط منذ عصور ما قبل التاريخ، فقد أثبتت الدراسات الأثرية المكتشفة حتى الآن أنه كان يستخرج عند ضفاف نهر الفرات منذ الألف الرابع قبل الميلاد. استخدم البابليون مزيج النفط للحرق والتدفئة، كما كان النفط يستخدم في تلك المرحلة من تاريخ البشرية في مناطق عديدة من العالم لأغراض متعددة، منها التداوي والاستطباب كما استخدمه الهنود الحمر في حياتهم على نحو مبكر أيضاً، فقد كان المقاتلون وحماة مجتمعاتهم البشرية يدهنون أجسادهم بالنفط قبل ذهابهم للمعارك، في مواجهة أعدائهم. تطور النفط ليصبح أهم وسيلة للطاقة من احراق وانارة، ودخل التاريخ تحت اسم «النار الإغريقية». في الوقت الحاضر فقد أصبح النفط أحد أهم مقومات الاقتصاد العالمي. ومع ذلك فهو يعد ملوثاً هاماً للبيئة حيث يتسبب بتلوث كبير للماء والهواء والتربة.

يعتبر تلوث الترب بالملوثات النفطية مشكلة شائعة في مناطق استخراج وتكرير النفط في مختلف أنحاء العالم، وعلى الرغم من أن تطبيق التقانات الحديثة في استخراج النفط وتكريره ونقله قد ساهم في الحد من ظاهرة التلوث النفطي بنسبة معينة، إلا أن هذه المشكلة، لا تزال من المشاكل البيئية الرئيسية في أجزاء واسعة من الكرة الأرضية (عبود, 2001)، أما في سورية كانت مشكلة التلوث النفطي ظاهرة منتشرة بشكل محدود ضمن المناطق التي تتوزع فيها الحقول النفطية، أي المناطق الشرقية والشمالية الشرقية في مواقع تكريره ونقله، حتى عام 2011، حيث بدأت الاعتداءات على المنشآت النفطية في المحافظات الشرقية والوسطى وازدادت بشكل كبير عام 2013، حيث تم تخريب المعدات المختلفة في محطات

الاستخراج و المعالجة، وتفجير خطوط نقل النفط وفتح الآبار بشكل عشوائي وحرقها وتكرير النفط بوسائل بدائية وملوثة للبيئة (دحدل وزملاؤه، 2014 ; محمد، 2015).

تعد الهيدروكربونات النفطية، من أهم الملوثات البيئية بسبب طبيعتها الذائبة في الدهون، كما أن لهذه المركبات دوراً كبيراً في التضخم الأحيائي، من خلال انتقالها ضمن السلسلة الغذائية، وانها تمتلك خصائص مطفرة ومسرطنة (Kanaly وHarayama ,2000; Toledo وزملاؤه، 2006)، وقد اعتبرت وكالة حماية البيئة Environmental Protection Agency (EPA) (2016) في البند 16 أن السلاسل الهيدروكربونية العطرية المتعددة الحلقات الموجودة في النفط Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Chains من الملوثات المطفرة والسامة و ذات أولوية للدراسة (Johnson وزملاؤه،2007).

يوصف النفط عموماً بأنه سائل زيتي لزج (دبق) قابل للاشتعال. يتكون بشكل طبيعي تحت سطح الأرض، ويتضمن أيونات الهيدروجين والكربون التي تعمل على تلويث البيئة (Asep وSanro ، 2013) ، حيث تبقى السلاسل الهيدروكربونية العطرية المتعددة الحلقات لفترات زمنية طويلة مما يؤثر سلباً في البيئة (Kathi وAnisa، 2012)، إضافة إلى ذلك يتسبب النفط في تلويث الأراضي الزراعية والنباتات والحيوانات (Eneh ،2011) ويؤدي لأضرار الكائنات الحية (Fatuyi وزملاؤه، 2012) ، حيث تؤدي المعدل العالية للمواد الهيدروكربونية إلى قلة الأكسجين في التربة، وانغلاق مساماتها مما يخفض النفاذية، وحركة الماء وتغلغله للوصول إلى جذور النباتات، و تؤدي بالتالي إلى تدهور بناء التربة وصفاتها الرطوبية، وقلة العناصر الغذائية التي يمتصها النبات، ويحدث ذلك بسبب تنافس العناصرن وتغير الحموضة (pH) (شفيق،2010)، مما يتسبب بانخفاض

إنتاجية التربة المزروعة، وتضرر الاقتصاد والتنوع الحيوي (البيولوجي)، في المناطق التي تعتمد على الزراعة (Benka- Coker و Ekundayo , 1995؛Almamoori وزملاؤه ،2018)، كما يمتد تأثيره السمي إلى الأحياء الدقيقة الموجودة في التربة كما بين (Abramovitch و Capracotta، 2003؛ Chien ،2012).

إن التفكير في إيجاد حلول بغية التخلص من خطورة هذا التلوث بطريقة صحية، أصبح من الأمور الهامة، لضمان صحة وسلامة البيئة. تعد المعالجة الحيوية أنجح طريقة لتحليل النفط، فالبكتيريا والفطريات من العوامل الرائدة في التحلل الحيوي لهيدروكربونات النفط الخام.

تمتاز الأحياء الدقيقة المستهلكة للهيدروكربونات بقدرتها على تفكيك معظم مكونات النفط، والتكاثر بسرعة، بالإضافة لاستقرارها الوراثي وامتلاكها انزيمات قادرة على التفكيك، ومنافسة الأحياء الدقيقة الأخرى الموجودة طبيعياً في موقع التلوث، كما تمتاز بعدم احداث تأثيرات جانبية سلبية وغير مرضية او منتجة لمواد ايضية سامة (الطائي وزملاؤه، 2016).

تعتمد درجة التحلل على طبيعة ومعدل النفط الخام، فالبكتيريا لها القدرة على استعمال مركبات الكربون الموجودة في النفط كمصدر للطاقة اللازمة لها، وهناك الكثير من أنواع البكتيريا لديها القدرة على انتاج الإنزيمات قادرة على استخدام وتفكيك الهيدروكربونات النفطية كمواد غذائية حيث تقوم باستهلاك جزء من المواد الهيدروكربونية وتحويلها إلى غاز ثاني أكسيد الكربون وماء، إلى جانب المواد الخلوية، مثل البروتينات والأحماض النووية، وبذلك يتم تفكك هيدروكربونات النفط الخام وتحللها لمواد جديدة أقل سمية و أقل خطورة على البيئة مما يعد فائدة بيئية عظيمة (الحمادي،2014).

تعد المعالجة الحيوية بالفطريات والبكتيريا، أفضل من طرائق المعالجة الفيزياكيميائية، لبساطتها، وسهولة تنفيذها وامكانية انتاج كتلة منه (Achal وزملاؤه،2011)، ومن هنا يتبين أهمية هذه الدراسة لتحديد الدرجة التي يمكن أن يتسبب فيها النفط بتلوث التربة، ولعزل وتقييم قدرة العزلات المحلية على التقليل من التلوث النفطي للتربة مع وبدون المغذيات، من خلال دراسة تأثيرها في بعض خصائص التربة الخصوبية والحيوية والإنتاجية.

المبررات Justifications:

1. تلوث مساحات عديدة من سورية بالنفط نتيجة استهداف محطات الاستخراج و المعالجة ونقل النفط والتكرير العشوائي للنفط وغير السليم والتسربات النفطية الناتجة عن نقله بطرائق غير آمنة.

2. ضرورة معرفة المستوى الحرج لتلوث التربة بالنفط والذي يتطلب المعالجة عنده.

3. امكانية الحصول على عزلات بكتيرية وفطرية من بيئتنا المحلية نقية غيرمحورة ورائياً وقادرة على معالجة التلوث النفطي في التربة.

الأهداف Objectives:

1. دراسة تأثير اضافة معدلات مختلفة من النفط في بعض الخصائص الخصوبية للتربة وتعداد الكائنات الحية الدقيقة وفي بعض الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح (شام 6).

2. تحديد المعدل الملوث للتربة والذي يسبب سمية للنبات والأحياء الدقيقة في التربة.

3. عزل بعض الفطريات والبكتيريا المحللة للمواد الهيدروكربونية من التربة الملوثة بالنفط واختبار قدرتها على تحليل النفط الخام السوري المفردة ومجتمعة.

4. دراسة فعالية اضافة الملقح البكتيري والملقح الفطري الناتج كل على حدا، مع وبدون الآزوت ومخلفات الأبقار في معالجة التربة الملوثة بالنفط، وآثره في بعض الخصائص الخصوبية والحيوية والصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح.

الدراسة المرجعية Literature Review:

سُميّ النفط وقوداً أحفورياً بسبب تشكّله من بقايا النباتات البحريّة الدقيقة، والحيوانات التي ماتت قبل ملايين السنين، ودُفنت بعد موتها في قاع المحيطات تحت الرمال والطين بعمق آلاف الأقدام، ومع مرور الزّمن تعرّض هذا المزيج العضويّ لضغطٍ ضخمٍ وحرارةٍ كبيرةٍ مما أدّى إلى زيادة الطبقات، وتكوين صخور مشبعة بالنفط (Helmenstine، 2017).

يتكوّن النفط من العناصر التالية (مع وجود اختلاف بين نسبة هذه العناصر): الكربون ونسبته 83 – 87%، الهيدروجين ونسبته 10 – 14%، الآزوت ونسبته 1.5- 0.005%، الكبريت ونسبته 0.05-6 %، المعادن ونسبتها أقل من 0.1%، وأكثر المعادن الشائعة هي الحديد، والنيكل، والنحاس، الفاناديوم، حيث يتحد الكربون بالهيدروجين مشكلاً مركبات هيدروكربونية منها ماهو بسيط ومنها ماهوعطري (حلقي).

حظيت مشكلة تلوث الترب بالملوثات النفطية على اهتمام كبير، لخطورة الملوثات النفطية بسبب احتوائها على مركبات لا تتحلل أو تتكسر كيميائياً بسهولة وينتقل بعضها إلى السلسلة الغذائية ويتراكم في الكائنات الحية. والبعض الآخر معقد جداً ولا ينتقل بسهولة ويبقى في الترب الزراعية مسبباً تلويثها، وتحويلها إلى ترب غير صالحة للزراعة، كونه يحدث الكثير من التبدلات الرئيسة للخصائص الكيميائية والفيزيائية لهذه الترب. تعود هذه التبدلات لتغير الأنشطة الحيوية (البيولوجية) داخل التربة، والتي تشمل الكائنات الحية الدقيقة والجذور

النباتية (Al-Janabi، 2008)، ولوجود معدلات عالية من المركبات غير المشبعة والعطرية تجعل النفط الخام أكثر سمية لأنها تخترق الأنسجة النباتية، وتؤثر أيضا في إنبات البذور وامتصاص الماء من قبل النبات (العمر،2001)، ويرى Akpoveta وزملاؤه (2011) ان الحاجة إلى تنظيف النفط الخام في المواقع الملوثة أصبحت ضرورة بيئية رئيسية.

تتم معالجة الترب الملوثة بالنفط بطرائق مختلفة فيزيائية وكيميائية وحيوية، تعد هذه الطرائق تقليدية لمعالجة المناطق الملوثة، وتنفذ هذه المعالجة اما خارج الموقع أو داخله، وتشمل طريقة المعالجة الفيزيائية الحرق، وصنع الطوب، والكاشطات، والحفر والحرق والمعالجة الكيميائية ببيروكسيد الهيدروجين الذي يعمل كمحفز لإتاحة العناصر المعدنية وما إلى ذلك، لا يمكن لهذه الطرائق أن تحلل أكثر من 10-15% من النفط المسكوب، كما أن استخدام العوامل السطحية الكيميائية كعوامل علاجية غير مناسبة بسبب آثارها السامة على النباتات والحيوانات، كما يتطلب هذا النوع من المعالجة الآليات الثقيلة والعواقب البيئية لازالة هذه الملوثات قد تؤدي إلى التلوث الهائل للهواء (Thavasi وزملاؤه،2011)، على الرغم من عقود عديدة من البحث، لا تزال المعالجة الحيوية الناجحة للتلوث بالنفط تشكل تحديا لباقي الطرائق. تعتبر المعالجة الحيوية من الطرائق المعروفة منذ فترة طويلة نظراً لقدرتها على التقليل من التلوث من خلال تفكيك المواد العضوية الخطرة إلى مركبات غير ضارة مثل غاز ثاني أكسيد الكربون وكما أنها صديقة للبيئة ورخيصة الثمن مقارنة بالتقانات الفيزيائية والكيميائية المستخدمة (Bhupathiraju وزملاؤه، 2002 ; Petarca و Cioni، 2011). تبلغ تكلفة المعالجة الكيميائية

810 دولار لكل م^2 في حين تكلفة المعالجة الحيوية 162 دولار لكل م ^{2} (Lundstedt، 2003).

تعرف المعالجة الحيوية بأنها تحويل المركبات الكيميائية الملوثة إلى طاقة وكتلة خلوية ومنتجات نهائية ثانوية حيوية غير مؤذية باستخدام المتعضيات الحية، وخاصة الكائنات الدقيقة (Rahman وزملاؤه، 2002).

تعد المعالجة الحيوية اقتصادية وفعالة (Das وMukherjee ,2007). استخدمت الأحياء الدقيقة في الماضي للتحلل الحيوي واصبحت من الاهتمامات ذات الأولوية في البحث العلمي، لأنها تهدف الى ازالة آمنة وسريعة لهذه الملوثات من الترب (Snape وزملاؤه، 2001).

أكد AL-Ghamdi(2011) إن النجاح النهائي لعملية التحلل الحيوي، يعتمد على طبيعة الاحياء الدقيقة، التي تكون في حالة تماس فيزيائي مباشر مع المادة الخاضعة للتحلل الحيوي، وأن المعالجة الحيوية للترب الملوثة بهيدروكربونات النفط الخام ترتبط بقدرة الأحياء على استهلاك الهيدروكربونات.

يتوفر طريقتان رئيسيتان لمعالجة التسرب النفطي حيوياً تتمثل الطريقة الأولى بزيادة الكتلة الحيوية (bioaugmentation) (أي زيادة أعداد الاحياء الدقيقة القادرة على تحليل النفط باضافتها للتربة) حيث تضاف إلى التربة أحياء دقيقة قادرة على البقاء في مثل هذه الظروف لدعم الأحياء الدقيقة المستوطنة في التربة، أما الطريقة الثانية فتعرف بالتحفيز الحيوي (biostimulation)، الذي يتم فيه تحفيز نمو الأحياء الأصلية القادرة على تحليل النفط، كالمواد الغذائية مثل إضافة السماد العضوي أو الأزوت (Das و Chandran ,2011)

تعد عملية تحلل الهيدروكربونات بطيئة جداً، ولكنها قد تكون الحل الأمثل في ظل ظروف بيئية معينة من درجة الحرارة، درجة الحموضة، المغذيات، نسيج التربة، ضعف الأكسدة وتوافر الأحياء الدقيقة (Akpoveta وزملاؤه، 2011 و Kathi وAnisa، 2012).

يعتمد معدل تحلل المركبات العضوية على بنية هذه المركبات، وعلى المجتمع الحيوي، وعلى نوع ومستوى التلوث (Boldu–Prenafeta وزملاؤه، 2004)، كما انها تعتمد على مدى إمكانية الحفاظ على مجموعة من الكائنات الحية في البيئة، ويمكن تحقيق تحلل حيوي جيد بالاعتماد على الأنواع الحيوية الموجودة أصلاً في التربة أو التي تضاف إلى التربة الملوثة (Jayaraman وزملاؤه، 2008).

تؤدي الفطريات أدواراً مهمة وفعالة في تحلل واستهلاك المركبات العضوية وغير العضوية صعبة التحلل (Gadd، 2004)، بين Kiama(2015) أن الفطريات قادرة على تحطيم مركبات الهيدروكربون الذي لايمكن للبكتيريا تحليلها وبشكل أسرع. وتتفوق على البكتيريا بتفكيك روابط الـ PAHs (المركبات الحلقية متعددة الحلقات) الخماسية، لأن الفطريات تفرز أنزيمات الأكسدة خارج الخلية هذه الإنزيمات قادرة على صنع بيروكسيد تفاعلي من الأكسجين يؤدي لتدهور معظم المجموعات العطرية (Okerentugba وEzeronye، 2003)، كما أن الفطريات تمتلك خيوطاً (Haypha)التي تجعلها قادرة على تحمل الظروف البيئية السيئة الشديدة كانخفاض درجة الحموضة (pH) المنخفض وقلة الماء والغذاء.

تبين أن الفطر*Aspergillus ochraceus* قادر على تحليل وتكسير الكيروسين عند نموه لمدة 96 ساعة في بيئة المرق المغذي الحاوي على الكيروسين. بينت الدراسات العلمية

أن الفطريات التي تعود إلى الاجناس *Aspergillius sp* و *Penicillium sp* و*Fusarium* و*Amorphoteca* و *Neosartoya* والخمائر مثل *Candida* و*Pichia* ذات كفاءة عالية في إزالة الملوثات النفطية (Chaillan وزملاؤه، 2006؛ الطائي وزملاؤه ،2016)، وتناولت العديد من الدراسات عزل وتشخيص عدة أنواع وأجناس من البكتيريا(Farid,2012) مثل:

Bacillus Arthrobacter sp ,Staphylococcus sp, Bacillus subtilis,

polynya,

Corynebacterium sp, Micrococcus sp Streptomyces,

Pseudomonas sp, sp, Aremonas Pugilist.

وجد Gunkel و Dahlman (1986) انتشار البكتيريا سالبة الغرام أكثر من موجبة الغرام في الترب الملوثة بالنفط الخام، لاحتواء جدارها الخلوي على معدل أكبر من الدهون، التي تمكنها من الحصول على معدل أكبر من المركبات الهيدروكربونية الذوابة بالدهون من البيئة، ثم أكسدتها واستغلالها كمصدر للكربون، كما وجدت الياس (1987) زيادة في أعداد البكتيريا في البيئة المضاف لها النفط كمصدر وحيد للكربون في الأيام الأولى، وفسر ذلك لاستهلاك البكتيريا أولاً للمركبات البسيطة مثل الألكانات، ثم تلجأ لتحلل المركبات الهيدروكربونية متعددة الحلقات صعبة التحلل.

وجد العبيدي (2005) أن بكتيريا *Pseudomonas* كانت من أكثر الانواع استهلاكاً للمركبات الاليفاتية والعطرية، وذلك لامتلاكها آليات متنوعة لاستهلاك هذا المدى الواسع من المركبات الهيدروكربونية كما يتميز جنس *Serratia* بقابلية جيدة في استهلاك هذه المركبات (Herman وزملاؤه ، 1997).

بين Potin وزملاؤه(2004) و Mollea وزملاؤه(2005) إن فطر *Penicillium.sp* من الفطريات الأكثر تواجداً في المناطق الملوثة بالنفط، لامتلاكه قدرة على الاندماج السريع مع مكونات التربة الملوثة، وعلى النمو والتكاثر في بيئات، تنخفض بها معدل المغذيات والرطوبة، ومما يزيد من أهمية هذا النوع من الفطريات، قدرته على انتاج الأنزيمات بصورة معدل ونوعية بعد تنمية الفطر على وسط يحتوي على معدل مختلفة من النفط الخام، وقدرة على تحمل المعدل العالية من الملوثات الهيدروكربونية، وانتاج مستعمرات كثيفة (Mohsenzadeh وزملاؤه، 2012)

بينت دراسة Chaillan وزملاؤه (2006) أن الفطريات التي تعود إلى جنس *Aspergillius*، *Penicillium*، *Fusarium*، *Amorphoteca* و *Neosartoya* والخمائر مثل *Candida* و *Pichia* أظهرت كفاءة عالية في إزالة الملوثات النفطية.

قامت حسين وزملاؤها (2008) في بغداد، بعزل وتشخيص بكتريا سالبة الغرام ذات أشكال عصوية قادرة على استهلاك أنواع مختلفة من المركبات الهيدروكربونية وتعود الى أنواع مختلفة.

درس العويد (2008) مدى فعالية العزلات البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa* , *Bacillus subtilis* , *Actinomyces spp* على تحليل نفط خام كركوك بصورة انفرادية ومتآزرة، وأظهرت النتائج أن حالة التآزر بين العزلات الثلاث كانت الأفضل اذ بلغ تحلل النفط الخام أكثر من 82%، في حين بلغت نسبة تحلل النفط الخام 45%عند استعمال *Actinomyces spp* بشكل منفرد.

استخدم Njoku وزملاؤه (2009) النباتات في معالجة تلوث التربة بالنفط الخام، حيث أظهرت التجارب أهمية نبات فول الصويا في المعالجة النباتية للنفط، حيث تأثرت وبشكل

كبير الخصائص الفيزيائية والكيميائية ومحتوى الترب الملوثة من النفط الخام بسبب نمو نبات الفول فيها.

درس Akpoveta وزملاؤه (2011) تاثير ثلوث تربة Agbor في جنوبي نيجريا بالنفط، في خصائص التربة الزراعية من خلال تلويث التربة بـ 10 % من النفط الخام، حيث تسبب التلوث بالنفط الخام انخفاضا في درجة الـ pH، والناقلية الكهربائية وانخفاض في مستوى الفسفور مع تغير هام في معدل نمو الأحياء الدقيقة في التربة.

استخدم شفيق (2012) تراكيز مختلفة من النفط (0-20-35-50-65غ نفط /1كغ) في تربة مزروعة نبات الفصَة Medicago sativa مع الفطر Aspirgillus حيث بينت النتائج أهمية نبات الفصَة على النمو ضمن تراكيز منخفضة بينما أظهرت التراكيز المرتفعة تأثيرات سمية وبخاصة التركيز 65غ/كغ تربة.

من ناحية آخرى آشارت الدراسات إلى أهمية أستعمال خليط من البكتيريا والفطريات في الحد من تلوث التربة بالنفط مقارنة بالاضافات المفردة وذلك في دراسة أجريت في منطقة الرميلة في محافظة البصرى جنوب العراق (Farid ،2012).

عزل Al-Nasrawi (2012) الفطريات من شاطئ الغولف خليج مكسيك وتحقق من قدرة الفطريات المعزولة على التحلل الحيوي للنفط الخام حيث تفوقت أربع سلالات من أصل ستة عشر سلالة فطرية *Aspergillus niger, Penicillium documbens, Fusarium solani* و *Cochliobolus lutanusn* .

أظهرت دراسة Chaudhry وزملاؤه (2012)، التي هدفت إلى عزل وتحديد هوية الفطريات من حمأة محطات تنقية البترول الملوثة للتربة في ثيكا -كينيا أن أنواع *Aspergillus, Penicillium, Fusarium, Rhizopus, Alternaria and*

Cladosporium عرفت كمحللة للهيدروكربونات، وقد تبين أن الفطر *ochraceus Aspergillus* قد تمكن من تحليل وتكسير الكيروسين عند نموه لمدة 96 ساعة في بيئة المرق المغذي الحاوي على الكيروسين.

اعتبر Hentati وزملاؤه (2013) أن انخفاض مؤشر متوسط الإنبات بعد البذر بثمانية أيام، يدل على مقدار تلوث التربة بالنفط.

عزل Gayathiri وزملاؤه(2017) عدة أجناس من البكتيريا من الترب الملوثة بالنفط هي *Alcaligen sp, Bacillus sp, Chromobacterium sp, Corynebacterium sp, Pseudomonas sp, Aeromonas sp, Serratia sp, and Flavobacterium sp.*

درس العويد وزملاؤه (2017) الفعل الانفرادي والتأزري لفطري *Fusarium moniliforme* و*Aspergillus flavus* في استهلاك وتحلل هيدروكربونات نفط خام القيثارة الثقيل ونفط خام كركوك المتوسط في العراق. استطاع التأزر بين الفطرين تحليل نفط خام كركوك المتوسط بنسبة مقدارها 86.6%وانخفضت بنفط خام القيثارة الثقيل إلى % 81.05 وكانت نسبة التحلل بكلا الحالتين للعزلات مع بعضها أعلى من قدرة العزلات المنفردة.

درس Sebiomo وزملاؤه (2017) تأثير تلوث التربة بالديزل، وزيوت التشحيم، في التعداد الحيوي، حيث وجد انخفاض في عدد الكائنات الحية الدقيقة وهذا يؤثر على نشاط إنزيمات التربة (أنزيمي الديهيدروجيناز واليورياز) وبالتالي يخفضها.

قام Marchand وزملاؤه (2017) بعزل أحياء دقيقة من الترب الملوثة بالنفط واختبر فعاليتها في تحليل الهيدروكربون النفطي، واستند بذلك على الاختبارات اللونية، وتم تأكيد

نتائجه باستخدام جهاز الكروموتوغرافيا الغازي Chromatography Gas، حيث أظهرت العزلات الناتجة قدرة عالية على تحلل الهيدروكربونات.

لجأ Iffis وزملاؤه (2017) إلى المعالجة النباتية Phytoremediation لاصلاح الترب الملوثة بالنفط، وهي تقانة تعتمد على استخدام النباتات لتنظيف التربة من الملوثات العضوية وغير العضوية، ووجدوا أن الأحياء الدقيقة، وخاصة البكتيريا، تتأثر بجذور النباتات في التربة الملوثة، حيث تساهم الأحياء الدقيقة الموجودة في منطقة المحيط الجذري في التخفيف من الإجهاد النباتي الذي تعرض له النبات، وتحسين امتصاص المغذيات، وربما تتحلل أو تنفصل مجموعة كبيرة من ملوثات التربة مما ينعكس ايجاباً في تحسين كفاءة المعالجة النباتية للترب.

قام Agu (2018) بعزل وتوصيف الاحياء الدقيقة من الترب الملوثة بالنفط من ورشة عمل ميكانيكية في اوكا جنوب نيجريا، تم تحديد العزلة على أساس خصائصها الشكلية (المورفولوجية) وشكل المستعمرة، وأوضح أن السلالات البكتيرية القادرة على تحطيم الهيدروكربونات كانت تنتمي إلى الأجناس *Bacillus spp* و*Micrococcus spp* و*Corynebacterium spp* و*Pseudomonas spp*؛ كما تم عزل خمسة أجناس من الفطريات، و*Penicillium spp*، و*Aspergillus spp*، و*Rhizopus spp* و*Saccharomyces spp*، و*Fusarium spp* ، في حين لم تستطع غيرها من النمو في بيئة النفط الخام.

عزل Ali وزملاؤه 2018 بكتيريا من المنطقة المحيطة بجذور الشعير، ودرس فعالية هذه البكتيريا في تحلل الكيروسين، وقد وجد أن السلالة Klebsiella pneumonia sp كانت أكثر فعالية في تحلل الكيروسين حيث بلغت نسبة التحلل 88.5٪. كما درس

الظروف المثلى من الحرارة وزيادة التعداد الحيوي ليحصل على أكثر تحلل. أظهرت النتائج أن القيمة 10000 جزء في المليون، كانت الحد الأقصى لتحلل الكيروسين يمكن تصل إلى 99.85٪ بعد 48 ساعة من التحضين.

درس Almamoori وزملاؤه (2018) خصائص التربة الملوثة بالنفط الخام وأظهرت نتائج التحليل الفيزيائي والكيميائي للتربة انخفاض في رطوبة التربة الملوثة وفي محتواها من البوتاسيوم، كما ازدادت درجة الـ pH، وتم معالجة التربة الملوثة ببكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* وفطر *Penicillium expansum* حيث انخفضت معدل المركبات الهيدروكربونية المتعددة الحلقات تدريجيا خلال شهرين وأظهرت النتائج الإزالة الكاملة للعديد من المركبات بعد العلاج بالبكتيريا في حين أن الفطريات لم تكن فعالة.

اجرى Ojewumi وزملاؤه (2018) دراسة لمعرفة أثر المعالجة الحيوية للترب الملوثة بالنفط الخام بإضافة فطريات Aspergillus niger وبكتيريا Pseudomonas aeruginosa وكان Aspergillus niger أفضل الملقحات الحيوية لمعالجة النفط الخام.

عزل Al –Dhabaan (2019) من منطقة خريص النفطي بالظهران السعودية عدة أنواع بكتيرية:

Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa and Bacillus cereu. اعتمادًا على قدرتها على النمو لوجود مكونات هيدروكربونية وتم تحديدها وفقًا للصفات المورفولوجية والكيميائية الحيوية. وأكد ذلك بدراسات وراثية من خلال ببصمة تسلسل rDNA.

تقييم درجة تلوث الترب بالنفط:

إن المعدل المسموح به للنفط والمشتقات النفطية في التربة لا يمكن أن يكون واحد لكل أنواع الترب والمناطق الطبيعية، ويتعلق هذا المعدل بقدرة التربة على تنظيف نفسها من التلوث، كما يتعلق بخصائص ومحتوى التربة والظروف الفيزيا جغرافية (وبشكل خاص الظروف المناخية) للمنطقة وبالتركيب الكيميائي للمادة الملوثة (Пиковский, 2003). وضع McGill (1977) المعايير التقريبية لمحتوى المشتقات النفطية في الترب والتي تجري عليها عمليات الإستصلاح في الجدول (1) مستنداً إلى التجارب العالمية ونتائج التجارب التي أجراها على تلوث الترب. تتواجد المركبات الهيدروكربونية المتعددة الحلقات (PAHs) بمستويات تتراوح من 1 ميكروغرام وقد تصل لـ 300 غ لكل كغ من التربة في حال تعرض هذه الترب لمصادر التلوث المختلفة مثل احتراق الوقود الأحفوري، وحرق النفايات، وعمليات معالجة الأخشاب والتلوث النفطي (Bamforth وزملاؤه،2005).

درجة التدهور	غ/كغ نفط
من خفيفة الى معتدلة (في غياب أي تدابير خاصة من الممكن ملاحظة ضعف مؤقت في نمو الغطاء النباتي	20-5
متوسطة الى عالية (فقط بعض الأنواع النباتية قادرة على النمو بشكل طبيعي من الممكن للتربة أن تستعيد حالتها الطبيعية خلال ثلاث سنوات	50-20
من عالية الى عالية جدا (ينتشر النفط في التربة بشكل جبهي على عمق 10 سم نباتات قليلة جدا يمكنها أن تبقى حية يحتاج الاستصلاح المدروس للتربة حتى تستعيد حالتها الطبيعية الى 20 سنة وأكثر	أعلى من 50

الجدول (1) درجة تدهور الترب الجافة بحسب محتواها من النفط

تأثير التلوث بنسب مختلفة من النفط في بعض الخصائص الحيوية والخصوبية لتربة مزروعة بنبات القمح

الأهداف Objectives:

1. دراسة الأثر السلبي لتلوث التربة بمعدلات مختلفة من النفط في بعض الخصائص الخصوبية للتربة وأعداد الكائنات الحية الدقيقة.

2. تأثير تلوث التربة بمعدلات مختلفة من النفط في الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح صنف شام 6.

3. تحديد معدل ملوثات التربة والذي يسبب سمية للنبات والأحياء الدقيقة في التربة.

المواد والطرائق:

المواد الدراسة:

1. التربة: جمعت عينات التربة بتاريخ 2017/1/2 من مزرعة (أبي جرش) كلية الزراعة- جامعة دمشق حتى عمق 50 سم من سطح التربة، ثم جففت ونخلت بمنخل أقطاره 2 مم وأخذت عينة مركبة، ومتجانسة لتوصيَف التربة.

2. النفط الخام: أخذ النفط الخام من المصب الرئيسي لمحطة بانياس، وتم توصيف النفط الخام بقياس الكثافة والمقياس المشترك المعتمد لكثافة النفط A.P.I (American Petroleum Institute) حيث يتراوح بين خفيف ≤33- ثقيل ≥ 28/ ، علماً أن هذا المقدار يحسب بالعلاقة:

A.P.I =141.5/ الكثافة الظاهرية-131.5

(فهو ثقيل عندما تكون كثافته الظاهرية 1.0) بناء عليه يعتبر النفط المدروس خفيف (131.5−0.8589/141.5= 33.25) ويوضح الجدول (2) ضغط ريد البخاري R.V.P (Reid Vapor Pressure) , ونقطة الانسكاب Pour Point بالاضافة للملوحة والأزوت الكلي والكبريت بالاعتماد على المعطيات التي تم الحصول عليها من المحطة.

الجدول (2) بعض مواصفات النفط المستعمل في التجربة

الكثافة /15°م غ/سم^3	A.P.I	الكبريت ملغ/كغ وزن رطب	الملوحة مغ/كغ	R.V.P	Pour Point°م	N الكلي %
0.8589	33.25	1.57	27	0.55	−16	1.47

طرائق التحليل:

1.2. التحاليل الفيزيائية والكيميائية للتربة:

قدر الآزوت الكلي بطريقة كلداهل، بعد هضم عينات التربة، وقدر الفسفور المتاح بطريقة Olsen (1982) باستخدام جهاز المطيافية الضوئي (Spectrophotometer)، كما قدر البوتاسيوم المتاح في مستخلص ملحي من خلات الأمونيوم باستخدام جهاز اللهب (Flam−photometer). قدرت المادة العضوية بطريقة الأكسدة الرطبة بديكرومات البوتاسيوم (Walkley و Black،1934)، وقدرت الكربونات الكلية بالكالسيميتر.

2.2. المواصفات الشكلية والإنتاجية لنبات القمح شام 6 حسب (حربا، 2010):

سرعة الإنبات (بادرة/ يوم): تم حسابها وفقاً للمعادلة مجموع (عدد البذور النابتة كل يوم × رقم اليوم) مقسوماً على نسبة الانبات.

أرتفاع النبات: تم قياسه من بداية الساق (سطح التربة) حتى قمة السفاه خلال مرحلة النضج.

وزن القش: تم حساب وزن القش بعد فصلها عن الحبوب.

وزن ألف حبة: عن طريق عد 100حبة ثم وزنها وضربها ب 10.

طول السنبلة: قدر ابتداءاً من نهاية عنق السنبلة حتى قمة السنيبلة.

الإنتاجية من الحبوب: تم وزن الحب بالكغ/هـ وتم وزن الحبوب الناتجة عن كل معاملة وحسابها على أساس تحويل وزن الهكتار من التربة بالطن = (كثافة التربة *العمق(م) *10000) .

3.2. تقدير الأحياء الدقيقة (المكروبيولوجية) في التربة: تم أخذ 400غ من التربة السابقة ونخلت بمنخل 2 مم وحفظت بالبراد، وفي ظروف معقمة، أضيف 1غ من كل معاملة من عينات التربة لأنابيب 9 مل تحتوي ماء مقطر، ورجت بشكل جيد، وأخذ من الأنبوب الأول 1مل أضيفت لأنابيب 9 مل ماء مقطر، لنحصل على التخفيف الثاني، تم تكرار العملية حتى التخفيف الثالث للفطور، والتخفيف الخامس للبكتيريا، ونشر100ميكرولتر من التخفيف المناسب في أطباق بتري، تحتوي بيئة البطاطا المغذية الصلبة (PDA) Potato dextrose agar للفطريات، و بيئة الأغار المغذية Nutrient Agar (NA) للبكتيريا(Kucey , 1989)، ثم حضنت لمدة 48 ساعة للبكتيريا و4 أيام للفطور.

3. خطوات العمل: أضيف النفط بنسب مختلفة، حسب المعاملات المختارة، وتم خلطها جيداً بالتربة ضمن الأصيص، حسب المعاملات، ولمرة واحدة قبل الزراعة، حسب شفيق (2010). زرعت بذور القمح الطري (شام6) بمعدل 200 كغ / هكتار. أي حوالي 4غ للأصيص الواحد (10 بذور)، كما تم تقديم كافة الخدمات اللازمة للمحصول، ثم أضيفت

الأسمدة المعدنية NPK حسب إيكبا (2009) بمعدل 138 كغ N/هكتار على شكل نترات الأمونيوم 33.5% و90 كغ/هكتار P_2O_5 على شكل سوبر فوسفات ثلاثي (46%) و69 كغ/هكتار K_2O على شكل سلفات البوتاسيوم (50 %)، وتم تقديم الاحتياج المائي للمحصول، إذ تم ري الأصص للوصول إلى 80% من السعة الحقلية للتربة والمحافظة عليها باضافة الماء المفقود بعد وزن الأصص، وكانت الزراعة بتاريخ 2017/1/6.

تصميم التجربة:

تكونت التجربة من خمس معاملات بأربع مكررات لكل معاملة، نفذت بأصص تتسع لـ 5 كغ تربة، وبالتالي بلغ عدد الأصص20 أصيص وكانت المعاملات كما يلي:

1. شاهد
2. النفط معدل أول 25غ /كغ تربة.
3. النفط معدل ثاني50غ /كغ تربة.
4. النفط معدل ثالث 75غ /كغ تربة.
5. النفط معدل رابع 100غ /كغ تربة.

تم الحصاد اليدوي في موقع التجربة بتاريخ 2017/6/1، إذ قطفت السنابل بعد عدها، ووضعت كل معاملة في كيس على حده، وتم تقدير طول النبات، ووزنه الرطب، ثم حفظت العينات النباتية بأكياس. أخذت عينات التربة لكل معاملة بعد حصاد محصول القمح لتنفيذ التحاليل والقراءات اللازمة.

التحليل الاحصائي:

تم جمع البيانات وتبويبها وفق التصميم العشوائي الكامل، وتحليلها احصائياً باستخدام برنامج التحليل الاحصائي (Genstat، 2012)، وتم حساب الفروق بين المعاملات

بحساب أقل فرق معنوي LSD على مستوى دلالة 5% و 1 % في التجارب المخبرية الحيوية، كما تم تقدير معامل الاختلاف CV.

النتائج والمناقشة:

1. توصيف التربة: يبيَن الجدول (3) نتائج تحليل التربة المستخدمة للزراعة، حيث يتضح أن قوام التربة طيني، إذ وصلت نسبة الطين إلى (44.18) % وتفاعل التربة (pH) قاعدي، والناقلية الكهربائية (EC) في مستخلص العجينة المشبعة (0.18) ديسيسمنز/م، والنسبة المئوية للكربونات الكلية كانت عالية 45.50%.

جدول رقم (3) بعض خصائص التربة المستخدمة للزراعة

التركيب الميكانيكي %			عجينة مشبعة		%				مغ/كغ	
رمل	سلت	طين	pH	EC ديسيميز/م	السعة الحقلية الحجمية	الكربونات الكلية	المادة العضوية	الآزوت الكلي	P_2o_5 المتاح	K_2O المتاح
30.03	25.79	44.18	8.24	0.18	20.01	45.50	0.90	0.04	16.02	413.33

2. تأثير معاملات النفط في بعض الخصائص الخصوبية للتربة:

يظهر الجدول (4) عدم وجود فروق معنوية في قيم (pH) التربة بين الشاهد و كافة المعاملات، كما يلاحظ انخفاض ظاهري لـ pH التربة وبشكل تدريجي بزيادة مستويات النفط، إذ وجد أدنى درجة pH في المعاملة الرابعة 100غ/كغ تربة حيث بلغت (8.05)، وهذا يتوافق مع (Andrade وزملاؤه، 2004 ؛Ayotamuno وزملاؤه، 2004 ؛ Njoku وزملاؤه، 2009؛ Akpoveta وزملاؤه ، 2011) وربما يعود السبب لوجود أكاسيد الكبريت في النفط الخام ومنها SO_2 و SO_3 ذات الصفة الحامضية، كما يلاحظ أن إضافة مستويات مختلفة من النفط أدت إلى زيادة الناقلية الكهربائية في الترب المعاملة بالنفط وبفروق معنوية بين المعاملات، إذ بلغت في الشاهد 0.15 ديسيسمنز/م ووصلت لـ 0.51 ديسيسمنز/م في معاملة نفط 4 وهذا يتوافق مع (نشأت ودالاتي، 1998؛

مطر، 2009) ، وقد يعود السبب في ذلك لزيادة نسبة الأملاح في النفط (27 مغ/كغ)كما ورد في الجدول (2).

يلاحظ زيادة المادة العضوية في كافة المعاملات المضاف لها النفط مقارنة بمعاملة الشاهد، وزادت المادة العضوية مع زيادة معدل النفط المضاف للتربة، إذ بلغت في الشاهد 0.99% في حين زاد وبشكل معنوي في معاملات النفط الأربعة(0،25،50،75،100غ/كغ) حيث بلغت (1.50-2.37-3.15-3.68)% على الترتيب. نجم هذا الارتفاع نتيجة لزيادة محتوى النفط من المكونات العضوية (حيث تعد المركبات الهيدروكربونية مادة عضوية وهي ليست مؤشر على زيادة خصوبة التربة كونها روابط صعبة التحلل). يتوافق هذا مع نتائج (نشأت ودالاتي، 1998؛ Al-Azaawi، 2000؛ مطر، 2009؛ Akpoveta وزملاؤه ، 2011)، كما بيّنت النتائج زيادة معنوية في محتوى التربة من الآزوت الكلي عند زيادة معدل النفط وكانت الزيادة تدريجية، فمع زيادة معدل النفط زادت محتوى التربة من الآزوت الكلي مقارنة بمعاملة الشاهد (0.02%) وربما يعود السبب لاحتواء الهيدروكربونات على نسب متفاوتة من المواد الآزوتية، وهذا يتوافق مع (Ekundayo وزملاؤه، 2000 ؛ Osujiوزملاؤه،2007؛ وAkpoveta وزملاؤه، 2011).

يلاحظ زيادة ظاهرية لمحتوى التربة من الفسفور المتاح في المعاملة النفطية الأولى25غ/كغ مقارنة بمعاملة الشاهد ، إذ بلغ في تربة المعاملة الأولى- 16.05 مغ/كغ بينما كان في الشاهد 16.03مغ/كغ، ويعود السبب إلى أكسدة المركبات الهيدروكربونية البسيطة (ذات السلاسل الكربونية القصيرة والخطية) في النفط وتكوين أحماض عضوية وانطلاق غاز CO_2 الذي يكون حمض الكربون مع ماء التربة مما يزيد من اتاحة الفوسفور

مقارنة مع معاملة الشاهد، و مع زيادة معدل النفط انخفض الفسفور المتاح وبفروق معنوية بين المعاملات(15.63–15.30– 14.07)، وربما يعود السبب لتناقص النشاط الحيوي نتيجة انخفاض التعداد الحيوي وبالتالي انخفض الفسفور المتاح الذي تنتجه الأحياء الدقيقة أثناء تحليلها للمادة العضوية في التربة، وهذا يتوافق مع (Ekunday وزملاؤه،2000 ؛ Osuji وزملاؤه، 2007؛ Akpoveta وزملاؤه، 2011).

يلاحظ وجود فروق معنوية بين الشاهد وباقي المعاملات في محتوى التربة من البوتاسيوم المتاح باستثناء المعاملة الثانية نفط 25 كانت الفروق ظاهرية فيها، وانخفض محتوى التربة من البوتاسيوم المتاح معنوياً مع زيادة درجة التلوث النفطي في التربة، ويعزى ذلك لانخفاض النشاط الحيوي الممثل بانخفاض أعداد البكتيريا والفطريات مع زيادة ت معدل النفط المضافة وبالتالي انخفاض معدل البوتاسيوم المتاح بشكل متناسب مع انخفاض النشاط الحيوي، و يتوافق هذا مع (Ekunday وزملاؤه، 2000؛ Osuji وزملاؤه، 2007؛ Akpoveta وزملاؤه، 2011).

الجدول (4) تأثير معاملات النفط في بعض الخصائص الخصوبية للتربة بعد حصاد محصول القمح

المعاملات غ/كغ تربة	عجينة مشبعة		%		مغ/كغ	
	(pH)	ECe ديسيسمنز/م	مادة عضوية	الآزوت الكلي	P_2O_5 المتاح	K_2Oالمتاح
شاهد0	8.09 a	0.15 e	0.99 e	0.03 d	16.03 a	442.8 a
نفط 25	8.08 a	0.23d	1.50 d	0.051 b	16.05 a	425.1 a
نفط 50	8.07 a	0.36c	2.37c	0.056 b	15.63ab	389.3 b
نفط 75	8.06 a	0.43b	3.15 b	0.062 a	15.30 b	366.3 b
نفط 100	8.05 a	0.51a	3.68 a	0.067 a	14.07 c	211.8 c
LSD (0.05)	0.19	0.04	0.55	0.01	0.30	32.39
%C.V.	0.5	5.7	6.6	7.9	5.2	5.9

يدل اختلاف الأحرف في العمود الواحد على وجود فروق معنوية على مستوى 5%

3. تأثير معاملات النفط في التعداد الحيوي للكائنات الحية الدقيقة:

يلاحظ من الجدول (5) انخفاض معنوي لأعداد الفطريات في كافة المعاملات مقارنة بمعاملة الشاهد الذي بلغ (2.2 الف وحدة مكونة للمستعمرة في غرام واحد من التربة). انخفضت أعداد الفطريات في التربة معنوياً مع زيادة معدل النفط الخام في التربة وبشكل تدريجي بمعدل(1.25–1.22–1.11–0.2 ألف وحدة مكونة للمستعمرة الفطرية /غ تربة) للمعاملات النفطية الأربع (25،50،75، 100على الترتيب) وكانت المعاملة الخامسة 100غ/كغ نفط خام الأقل في أعداد الفطريات وذلك لاحتواء النفط الخام على مركبات ذات سمية عالية لكافة أشكال الكائنات الحية في التربة، أما بالنسبة لأعداد البكتيريا فقد انخفض التعداد الحيوي معنوياً في كافة المعاملات النفطية 25–50–75–100غ/كغ معنوياً مقارنة بمعاملة الشاهد، إذ بلغ تعداد البكتيريا في التربة الشاهد (5.8مليون خلية/1 غ من التربة) في

الجدول (5) التعداد الحيوي للفطور والبكتيريا في التربة المعاملة بتراكيز مختلفة من النفط

المعاملة النفطية غ/كغ	فطور (ألف)	البكتيريا (مليون)
	وحدة مكونة للمستعمرة /غ تربة	
شاهد	2.2 [a]	5.80[a]
نفط 25	1.25 [b]	3.987[b]
نفط 50	1.22 [b]	2.090 [c]
نفط 75	1.11 [c]	1. 169 [d]
نفط 100	0.20 [d]	0.036[e]
$LSD_{(0.05)}$	0.028	0.016
%C.V.	3.3	4.1

يدل اختلاف الأحرف في العمود الواحد على وجود فروق معنوية على مستوى 1%.

حين انخفضت البكتيريا مع زيادة معدل النفط الخام في المعاملات لـ (0.03-1.169-2.090-3.987) وكانت الفروق معنوية بين هذه المعاملات، تتوافق هذه النتائج مع نتائج (Abramovitch و Capracotta، 2003؛ مطر،2009؛ Chien ، 2012). وقد يعود السبب لمحتوى النفط العالي من المركبات الهيدروكربونية والعناصر الثقيلة ولانخفاض معدل الأكسجين كما أن النفط الخام يقلل من التبادل بين هواء التربة والمحيط الخارجي حيث يعمل على سد المسامات التربة، مما يقلل من محتوها من الأكسجين، أو بسبب استهلاك قسم كبير من الأكسجين في أكسدة النفط ، مما يقلل محتواه في التربة، كما أنه ومن الضروري التنويه بأن الأنواع البكتيرية التي وجدت في هذه المعدل تختلف عن السابقة نظراً لعدم توفر العناصر الأساسية لنموها واستمرارها، حيث بقيت الأحياء الدقيقة القادرة على التأقلم مع الظروف الحالية في التربة أو ذات المقاومة الأعلى.

4. تأثير معاملات النفط في الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح:

يلاحظ من الجدول (6) انخفاض في نسبة الإنبات من 61.50% في الشاهد لـ 26.88% في معاملة النفط 100غ/كغ، كان الانخفاض ظاهري في المعدل 25غ/كغ في حين انخفضت وبشكل معنوي مع زيادة معدل النفط في التربة عن 50غ /كغ ويتوافق ذلك مع نتائج (شفيق،2010). قد يعود سبب انخفاض نسبة الإنبات لقلة الرطوبة حيث يعمل النفط كطبقة عازلة بين الماء ودقائق التربة مما يؤدي لعدم ترطيبها (Aprill و Sims، 1990)، وقد يحيط النفط البذور بغطاء دهني يمنع وصول الماء إليها، وخفض تبادل الغازات، إضافة إلى ذلك قد يعود انخفاض نسبة الإنبات في المعدل العالية من النفط الخام في التربة للتأثير السام على البذور مما يعيق الإنبات فيها، أو لانخفاض تركيز الأكسجين المتاح أثناء عملية

الإنبات، من ناحية أخرى، لأن النفط الخام يستهلك الأكسجين ويتشبع به (Kuhn وزملاؤه، 1998).

انخفضت سرعة الإنبات من 24.73 بادرة/يوم في الشاهد إلى 0.8 بادرة/يوم في معاملة النفط 100غ/كغ، حيث نستنتج أنه كلما زاد تركيز النفط في التربة انخفضت سرعة الإنبات وبشكل معنوي وهذا يتوافق مع نتائج (شفيق، 2010). وقد يعزى سبب انخفاض سرعة الإنبات الى تأثير المركبات الكربونية الحلقية الداخلة في تركيب النفط التي تعد من أشد المواد تأثيراً في الحد من النمو (Schnoor، 1996).

الجدول (6): تأثير معاملات النفط في الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح

المعاملة النفطية غ/كغ	نسبة الانبات %	سرعة الانبات بادرة/يوم	ارتفاع النبات سم	وزن 1000حبة	وزن القش	الانتاجية	الانخفاض في انتاجية الحبوب %
					كغ/هكتار		
شاهد	61.50 a	24.73 a	65.50a	62.80 a	8995 a	2220 a	–
نفط 25	60.00 a	18.88 b	52.25 b	61.63 a	8056 ab	2200 a	-0.90
نفط 50	46.25 b	12.00 c	32.75 c	50.20ab	6305 bc	1973 ab	-11.13
نفط 75	33.12 c	6.30 d	10.75 d	38.15 c	3552 d	1733 b	-21.94
نفط 100	26.88 c	0.80 e	0.82 e	12.91 d	1230 c	477 c	-78.51
$LSD_{(0.05)}$	6.81	0.96	3.95	20.25	1960.22	293.01	-----
%C.V.	9.9	5.1	7.2	7.0	14.7	11.3	----

يدل اختلاف الأحرف في العمود الواحد على وجود فروق معنوية على مستوى 5%

يلاحظ من الجدول (6) أيضاً تناقص في ارتفاع النبات بزيادة معدل النفط الخام في التربة مع وجود فروق معنوية بين معدل النفط الخام، إذ تفوق الشاهد بفروق معنوية على باقي المعاملات بقيمة بلغت (65.50 سم) ، كما أظهر الجدول(6) أيضاً وجود فروق معنوية في ارتفاع النبات بين المعدل النفطية (25-50-75-100غ /كغ)، ومع زيادة معدل النفط الخام في التربة انخفض ارتفاع النبات وربما يعود السبب في ذلك لعدم مقدرة الجذور على امتصاص المركبات النفطية، لكونها كارهة للماء، عكس الجذور المحبة للماء، مما

يقلل من التأثير السمي للمركبات الهيدروكربونية التي تؤثر في حيوية الخلايا، وانقسامها أو لنقصان العناصر المعدنية التي تسبب النفط في إعاقة وصولها إلى النبات (Siciliano، 1998؛ Vavrek وCampbell،2002 ؛ Hwabaek وزملاؤه، 2004؛ مطر،2009؛ شفيق،2010).

انخفض وزن 1000 حبة مع زيادة معدل النفط الخام في التربة، إذ انخفض وبشكل تدريجي من 62.80غ في الشاهد إلى (61.6-50.20-38.15-12.91غ) في المعاملات المضاف لها النفط (25-50-75-100غ/كغ على الترتيب)، وبفروق معنوية في المعدل العالية من النفط، كما انخفض وزن القش مع زيادة معدل النفط في التربة، إذ انخفض وبشكل تدريجي من8995 كغ/هـ في الشاهد إلى(-6305- 3552- 1230) 8056 كغ/هـ في المعاملات المضاف لها النفط وبنفس الترتيب (-50-75-100 25غ/كغ) ، وبفروق معنوية في المعدل العالية من النفط، أمافيما يتعلق بإنتاجية الحبوب فيلاحظ من الجدول رقم (6) تفوق الشاهد معنوياً على كافة المعاملات باستثناء المعاملة 25غ نفط /كغ كان الانخفاض ظاهري، كما يلاحظ انخفاض الإنتاج، وبشكل تدريجي، مع زيادة معدل النفط الخام في التربة. في حين كان الانتاج شبه معدوم في المعاملة الأخيرة، وهذا يدل على التأثير السلبي للمركبات الهيدروكربونية، والمواد الأخرى الموجودة في النفط على نبات القمح المزروع، وهذا مايتوافق مع Al-Azaawi (2000) الذي لاحظ الأثر السلبي لإضافة النفط الخام.

الفصل الثالث:

عزل الفطور والبكتيريا من ترب ملوثة بالنفط واختبار فعاليتها في تفكيك المركبات الهيدروكربونية الموجودة بالنفط

المبررات Justifications:

جاءت فكرة المعالجة الحيوية للترب الملوثة بالنفط من الترب الملوثة مسبقاً به، وذلك لأن التلوث النفطي يتسبب بضرر شديد للتربة الزراعية، من خلال التقليل من التنوع الحيوي، حيث يسبب ذلك موت أغلب الأحياء الدقيقة وتبقى فقط الكائنات المتحملة لهذه البيئة الملوثة، وذلك نتيجة لتطور استجابات انزيمية وفسيولوجية معينة لديها، تسمح لها باستخدام مركبات الهيدروكربون الموجود بالنفط كبديل عن الكربون، فتتم المعالجة الحيوية من خلال عزل هذه الكائنات واختبار قدرتها على التحلل الحيوي للنفط الخام ليتم اضافتها لهذه الترب بنسب مناسبة.

الأهداف Objectives: عزل سلالات فطرية وبكتيرية من الترب الملوثة بالنفط من بيئتنا المحلية وأختبار قدرتها على معالجة التلوث النفطي في التربة.

المواد والطرائق:

النفط الخام: استخدم نفس النفط الخام الموصف في الفصل الثاني بعد تعقيمه بورق الترشيح ذات ثقوب 0.45 ميكرومتر وحفظت في بالبراد لحين الاستخدام.

التربة الملوثة بالنفط: جمعت عينات مركبة من ثلاث ترب زراعية ملوثة بالنفط أو مشتقاته من عمق سطحي 0-15 سم بوزن 400 غ من الأماكن التالية:

-مصفاة بانياس بمحافظة طرطوس.

-مصفاة حمص في محافظة حمص.

-تربة حوض زراعي من محطة وقود الأزبكية بشارع بغداد – دمشق.

تم خلط عينات التربة بشكل جيد واستبعدت الاحجار والاجسام الغريبة منها ونخلت بمنخل 2 مم ثم حفظت في البراد لحين اجراء التحاليل عليها.

تم اجراء كافة التحاليل الحيوية (المكروبيولوجية) في مختبر الأمراض البكتيرية في قسم الوقاية كلية الهندسة الزراعية بدمشق.

مراحل العمل:

1. العزل بطريقتين: 1.1. طريقة العزل مباشرة 2.1. باستخدام مرق باكتو بوشنل هاس Bacto- Bushnell Hass.

2. التوصيف (للفطور والبكتيريا).

3. اختبار قدرة العزلات مفردة على تحليل المركبات الهيدروكربونية الموجودة بالنفط (التغير اللوني لبوشنل هاس وبيئة الأملاح المتوسطة للفطريات) واختبار قدرة العزلات الأكثر فعالية مجتمعة على تحليل المركبات الهيدروكربونية الموجودة بالنفط، على التغير اللوني لبوشنل هاس.

4. اختبار قدرة العزلات الأكثر فعالية منفردة ومجتمعة على تحليل المركبات الهيدروكربونية الموجودة بالنفط باستخدام تقانة الكروموتوغرافيا الغازية.

1.طرائق العزل من الترب الملوثة بالنفط:

1.1.الطريقة المباشرة: حسب Khan وزملاؤه(2015) و Kiama (2015):

وزن 1غ من الترب الملوثة بالنفط في جو معقم، وأضيف لها قطرة توين 80 بمقدار 0.01 غ لتجانس العينة، أضيفت لأنابيب 9 مل من ماء مقطر، ورجت بشكل جيد وأخذ من

الأنبوب الأول 1مل أضيفت لأنابيب 9 مل ماء مقطر لنحصل على التخفيف الثاني، تم تكرار العملية حتى التخفيف الثالث للفطور والتخفيف الخامس للبكتيريا، ونشر 100ميكروليتر من التخفيف السابق على أطباق بتري تحتوي بيئة PDA Potato Dextrose Agar للفطور وبيئة (Nutrient Agar) NA للبكتيريا، وحضنت على درجة حرارة 28±2 °م للفطور و35±2 °م للبكتيريا. تم تحديد المستعمرات النامية ثم أعيد زراعتها حتى الحصول على عزلات نقية وأعطيت كل عزلة رقماً يميزها، وحفظت هذه العزلات في أنابيب مائلة تحتوي البيئة السابقة، بعد النمو الكامل للفطر، وتم تغطيتها بالبرافين السائل بعد ترقيمها، وحفظت البكتيريا في الماء المقطر المعقم مع الغلسيرول بنسبة 1/2 ، وحفظت بالمجمدة (by Deep Freezing).

2.1. طريقة المرق باكتو بوشنل–هاس:

استخدم فيها طريقة المرق بوشنل–هاس للعزل: (وهو وسط يحتوي على كافة العناصر الغذائية اللازمة لنمو الأحياء الدقيقة باستثناء الكربون) التي تتكون من:

$MgSO_4$ (0.2غ/ لتر) ، $CaCl_2$ (0.02غ / لتر) ، KH_2PO_4 (1 غ / لتر) ، K_2HPO_4 (1 غ / لتر) ، $FeCl_2$ (0.05 غ / لتر) و NH_4NO_3 (1 غ / لتر) ، و تحل ب1000مل من الماء المقطر. أضيف 50 مل من البيئة السائلة السابقة إلى دوراق مخروطية 250 مل وعقمت بالاتوغلاف، وبظروف معقمة اضيف 1% من النفط الخام (حجم /حجم) كمصدر وحيد للكربون وأضيف له توين 80(0.1%)، ثم إضافة 1غ من الترب الملوثة بالنفط كمصدر متوقع للأحياء الدقيقة المحللة للمركبات الهيدروكربونية الموجودة في النفط (بثلاث دوارق لكل تربة)، وتم وضعها بحاضنة هزازة على درجة حرارة 28±2 °م للفطور و35±2°م للبكتيريا لمدة 21 يوم، ثم نشر 0.1 مليلتر من كل مزرعة

على وسط الأغار المغذي. كررت هذه العملية عدة مرات لحين الحصول على مستعمرات أعطيت كل مستعمرة رمز يدل عليها. ثم تم تنقيتها وحفظها بنفس المراحل السابقة.

2.توصيف الفطور والبكتيريا:

1.2.التعرف على العزلات الفطرية: اعتمد أولاً على الملاحظة العينية، للتعرف على العزلات الفطرية، مثل لون وجهي المستعمرة وسرعة نموها، ثم المجهرية كالخيوط الفطرية ولون وأبعاد الحوامل لون الأكياس البوغية والأبواغ، باستخدام تقنية الشريحة المجهرية المزروعة (slide culture technique)، تم ذلك بالمقارنة مع الدراسات المرجعية المتخصصة بالتصنيف (Patrick وزملاؤه، 2010 و Sharma ، 2010).

2.2.التعرف على العزلات البكتيرية: عرفت العزلات تعريفاً أولياً، اعتماداً على الصفات المظهرية الشكلية للمستعمرات في الأوساط المزرعية والمتضمنة حجم المستعمرات وحافتها وارتفاعها ولونها. أجريت الاختبارات الكيمياحيوية (الحركة، صبغة الغرام، صبغ الأبواغ، الكاتلاز، أكسيداز، أختبار الاندول، أحمر الميتيل وفوكس بروسكاور، أختبار السترات، اختبار اليورياز، غلوكوز، لاكتوز وسكروز). لوحظت الصفات المظهرية للخلايا تحت المجهر الضوئي والمتضمنة شكل الخلايا وحجمها وطريقة تجمعها. تم التعرف على الأجناس البكتيرية، وبالمقارنة مع الخصائص الواردة في دليل برجي Bergey,s manual (Sneath وزملاؤه،1989 ؛ Staley وزملاؤه 1986؛ Cappuccino وShermank ،1992)، تم التعرف على السلات المعزولة حسبUdgire وزملاؤه (2015).

3. التأكد من قدرة العزلات على التحليل النفطي:

1.3. طريقة بوشنل هاس: حسب (Thijsse وزملاؤه (1961) وChaudhry وزملاؤه(2012) و **Khan وزملاؤه(2015)** و Kiama، (2015).

تم تحضير وسط بوشنل هاس كما ذكر سابقاً ب 1000 مل من الماء المقطر. وزعت بمعدل 50 مل في مخروط معياري 250 مل، عقمت المخاريط السابقة، ثم أضيف 1 % من نفط خام (حجم لحجم) و0.1 % من توين 80 لتجانس النفط و 0.008 %من مؤكسد2–6 ديكلوروفينول الاندوفينول على شكل مسحوق، ثم أضيفت العزلات الناتجة الفطرية والبكتيرية إلى الدوارق المخروطية، إلى كل دورق عزلة ودورق شاهد بدون عزلات. حضنت الدوارق المخروطية بحاضنة رجاجة 180 دورة /دقيقة لمدة 7 أيام على درجة حرارة 28±2 °م للفطور و35±2 م° للبكتيريا، ثم أخذ 5 مل من كل مخروط، وقيس الامتصاص يومياً بواسطة المطياف الضوئي، على طول موجة 600 نانومتر، حيث يشير تغير اللون من الأزرق الى عديم اللون، الى قدرة الاحياء الدقيقة على التحلل النفطي.

2.3.اختبار Mineral Salt Medium (MSM) في بيئة معدلة: حسب Khan وزملاؤه (2015) للعزلات الفطرية فقط وحضرت البيئة المكونة من:

NaCl (10.0 g), $MgSO_4.7H_2O$ (0.42 g), KCl (0.29 g), KH_2PO_4 (0.83 .g), Na_2HPO_4 (1.25 g), $NaNO_3$ (0.42 g), agar (20 g),

حلت المواد السابقة في 1000 مل من الماء المقطر، ثم عقمت وصبت بأطباق بتري، ثم زرعت كل عزلة بطبق، وغطيت بورقة ترشيح مشبعة بالنفط الخام، وحضنت بهدف اختبار قدرة كل عزلة على تفكيك الروابط الكربونية الموجودة في النفط للحصول على الكربون العضوي اللازم لبقائها، حيث يدل نمو العزلات على قدرة وكفاءة هذه العزلات على تحليل النفط الخام المشربة به ورقة الترشيح.

4.اختبار العزلات الأكثر فعالية باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازي –Chromato graphy Gas:

تم التأكد من تحلل مركبات النفط الخام المضافة إلى الوسط، بفعل العزلات، باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغازي المزود بمطيافية الكتلة (شركة Agilent technogies) نوع العمود HP-5MS Phenyl Methyl SiloxHP-5MS 5%Methyl Silo3 طوله 30م وأبعاده(30M ×250 µm ×0.25 µm). تم ضبط درجة حرارة الفرن لترتفع من 80درجة مئوية لـ220 درجة مئوية بمعدل5 درجات بالدقيقة، ومن220 لـ 240 بمعدل 5 درجات بالدقيقة، ومن220 لـ260 بمعدل 80 درجة بالدقيقة، ولمدة دقيقة واحدة، وبزمن تأخير للمحل مقداره 150ثانية، تم استخدام غاز الهليوم كطور حامل، بمعدل تدفق كلي 19.5مل بالدقيقة. حقن l ميكروليتر من كل عينة المعدة على النحو الوارد، تم اجراء التحاليل بمختبر الكيمياء الحيوية بكلية العلوم- جامعة دمشق.

تجهيز العينات لتجربة لجهاز الكروموتوغرافيا الغازي:

تم تجهيز العينات حسب Kiama (2015) مع بعض التعديلات على الطريقة: حضر مرق بوشنل هاس كما ذكر سابقاً، أضيف مقدار 50 مل منها في دوارق مخروطية سعة 250 مل عقمت الدوارق ثم أضيف لها النفط الخام بمقدار2% ثم أضيفت العزلات الأكثر فعالية التي حققت أكثر تغير لوني مفردة ومجتمعة مع بعضها البعض وشاهد بدون عزلة في ظروف معقمة وحضنت الدوارق المخروطية بعد تغطيتها بالحاضنة الرجاجة لمدة 21 يوم على درجة حرارة 28 م° للفطريات 37 م° للبكتيريا وبسرعة 160 دورة/ الدقيقة. بعد التحضين تم تثفيل الأوساط السابقة لمدة عشر دقائق بسرعة 5000 دورة/ دقيقة. تم فصل الجزء المترسب واستبعاده. أضيف الهكسان (محل للنفط) بمقدار10%، لفصل النفط الخام، حرك الوسط لمدة 5 دقائق لفصل الوسط إلى طورين علوي، ويتألف من الهكسان مع النفط

الخام، وسفلي يتكون من البيئة الملحية التي تم تنمية البكتيريا عليها. بخر الهكسان وحقن1 مكروليتر من المتبقي بجهاز الكروماتوغرافيا الغازي.

*التحليل الإحصائي لتجربة التغير اللوني للمعاملات فقط كماورد سابقاً على مستوى دلالة 0.01.

النتائج والمناقشة:

1.نتائج العزل وتوصيف الفطور والبكتيريا:

1.1.الفطريات المعزولة من الترب الملوثة بالنفط: تم عزل تسع عزلات فطرية قادرة على النمو في وسط يحتوي على التربة الملوثة بالنفط، وواستناداً إلى مواصفات العزلات في الجدول (7)، ومقارنتها بمفاتيح تصنيف الفطريات (Patrick وزملاؤه، 2010 و Sharma ، 2010).

يمكن أعتبار هذه العزلات تنتمي إلى الأجناس والأنواع التالية بالترتيب حسب أرقامها:

*Aspergillius flavus, Penicillium sp, Cladosprium sp, Neosartoya sp, Rhizopus sp, Penicillium sp, Aspergillius neger, Trichoderma viride, Mucor sp*و تتوافق عزلات الأجناس Penicillin sp, Aspergillus sp, and Rhizopus sp مع نتائج Okerentugba و Ezeronye(2003) حيث عزل هذه الأجناس الفطرية من أنهار وترب ملوثة بالنفط، كما تتوافق نتائج عزل بقية الفطور مع نتائج كل من (Chaudhry وزملاؤه، 2012; Khan وزملاؤه ، 2015; Kiama ،2015).

الجدول (7) توصيف وتصنيف الفطريات المعزولة من الترب الملوثة بالنفط

رقم العزلة	صفات المزرعة	شكل المشيجة	شكل الحامل البوغي الأكياس البوغية	التوصيف
1	أخضر مرتفعة مجعدة الحواف	تنمو المشيجة (الخيط الفطري) بسرعة مقسمة ومتفرعة خلاياها عديدة النوى الحوامل البوغية تأخذ شكل القلم تستطيل لتشكل لتكون الحوامل البوغيةConidiophore	الحامل البوغي على شكل سلاسل تنتفخ نهايتها على شكل فقاعة يجيط بها طبقتين من السلامياتsterigmata تحمل عليها سلاسل من الأبواغ الكونيدية Conidiospores	*Aspergillius flavus*
2	عفني غامق كاملة الحواف مرتفعة	مشيجة الفطر Conidiophores متفرعة مقسمة متشابكة ملونة الحوامل البوغية مقسمة متفرعة وحيدة الصف متماثلة على شكل مكنسة	وجد صف واحد من الفاليدات عليها سلاميات تتوضع عليهاالأبواغ	*Penicillium*
3	أصفر مرتفعة كريمي وحوافه بيضاء	المشيجة مقسمة متفرعة الون زيتي	الابواغ ثنائية الخلية تخرج من مشيجة الفطر	*Cladosprium*
4	أبيض كريمي أصفر قليلة الارتفاع كاملة	منفصلة بجدران عديمة اللون تشكل خيوط طويلة ومتفرعة تحمل بنهايتها الكيس البوغي	حويصلات تحمل فياليد فقط، لكن الحويصلات صغيرة ومتحورة (على شكل كمثرى)	*Neosartoya*
5	أبيض قطني كريمي مرتفعة كاملة	غزل الفطري على شكل y الميسيليوم عديد الانوية جيد النمو وغير مقسم بصبح مقسم يتحول جزءه السفلي لشبه جذر(ممصات)	الحافظة الجرثومية تحمل على Sporangiophore كروية تشبه الكيس تنمو من خيط فطري هوائي طويل غير متحركة تحتوي على الجراثيم الاسبورنجية كروية	*Rhizopus*
6	أخضر داكن كاملة قليلة الارتفاع	مشيجة الفطر متفرعة مقسمة متشابكة ملونة الحوامل البوغية مقسمة متفرعة ثنائية الصف متماثلة على شكل مكنسة	وجد صف واحد من الفاليدات عليها سلاميات تتوضع عليهاالأبواغ	*Penicillium*
7	أخضر داكن مرتفعة مجعدة	تنمو المشيجة (الخيط الفطري) بسرعة مقسمة ومتفرعة خلاياها عديدة النوى الحوامل البوغية تأخذ شكل القلم تستطيل لتشكل لتكون الحوامل البوغية	تنتفخ نهايتها على شكل فقاعة يجيط بها طبقة ميتولات تليها طبقة الفاليدات وتنمو عليها سلاسل من الأبواغ الكونيدية	*Aspergillius neger*
8	أبيض كريمي مظهر سبخي مجعدة دائرية منتظمة مركزية.	يظهر المسليوم مركب من هيفات صفراء، مقسمة متفرعة ذات جدران ملساء	الحوامل الكونيدية مخروطية أوهرمية كثيرة التفرعات، تحمل الفياليدات ذات هيئة فلاسكات والتي تحمل بدورها الجراثيم الكونيدية	*Trichoderma viride*

9	أبيض كريمي مرتفعة كاملة الحواف	غزل الفطري على شكل y(الميسيليوم)عديد الانوية جيد النمو وغير مقسم عديد التفرع	الحافظة الجرثومية تحمل على Sporangiophore كروية تشبه الكيس تنمو من خيط فطري هوائي طويل غير متحركة تحتوي على الجراثيم الاسبورنجية كروية عديمة اللون متغيرة الحجم	*Mucor*

2.1. البكتيريا المعزولة من الترب الملوثة بالنفط:

تم عزل تسع عزلات من البكتيريا من الترب الملوثة بالنفط أظهرت المستعمرات البكتيرية اختلافاً في اللون والحواف والارتفاع في الجدول (8). يمكن أعتبار أن هذه العزلات تنتمي إلى الأجناس والأنواع التالية بالترتيب حسب أرقامها:

Staphylococcus SP, Bacillus SP, Aeromonas SP, Aeromonas SP, Corynebacterium SP, Acinobacter SP, Micrococcus SP, Enterobacter SP, Pseudomonas SP

كانت معظم العزلات سالبة الغرام، وهذا يتوافق مع (1986, Dahlman, Gunkel) و(حسين وزملاؤها،2008)، نظراً لاحتواء جدارها الخلوي على معدل أكبر من الدهون، التي تمكنها من الحصول على معدل أكبر من المركبات الهيدروكربونية الذوابة بالدهون من البيئة، ثم أكسدتها واستغلالها كمصدر للكربون، وهذه الأجناس تتوافق في بعضها مع نتائج Okerentugba و Ezeronye(2003) الذي عزل كل من االعزلات لبكتيرية التي تنتمي للأجناس التالية :

Micrococcus spp and Proteus spp, Bacillus spp ,

كانت معظم العزلات موجبة الأوكسيداز والكاتلاز، وغير منتجة للأبواغ وسالبة باختبار Vogues وموجبة في أختبار اليوريا والسترات، وهذه العزلات تتوافق مع صفات العزلات الناتجة من الترب الملوثة بالنفط التي حصل عليها كل من العويد (2008) وAgu وزملاؤه

(2015)، كما تتوافق مع Gayathiri وزملاؤه (2017). كما توافقت العزلات *Bacillus, Pseudomonas* مع Al– Dhabaan (2019) التي جرى عزلها من منطقة خريص النفطي بالظهران السعودية .

الجدول (8) توصيف وتصنيف البكتيريا المعزولة من الترب الملوثة بالنفط

الرقم	شكل الخلية	الحركة	الغرام	الأبواغ	كاتلاز	اوكسيداز	اختبارالاندول	أحمر الميثيل	Vogues	سترات	يوريا	غلوكوز	لاكتوز	سكروز	تعريف البكتيريا
1	مكورة	–	+	+	+	–	+	–	–	+	–	A	A	AG	*Staphylococcus SP*
2	عصوية مفردة	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	–	–	–	*Bacillus SP*
3	عصوي	+	–	–	+	+	+	–	–	+	+	A	A	A	*Aeromonas SP*
4	كروي	+	–	+	+	+	+	–	–	+	+	A	A	A	*Aeromonas SP*
5	عصيات	–	+	+	+	+	–	+	–	+	+	AG	AG	AG	*Corynebacterium SP*
6	عصوي	–	–	–	+	–	+	–	–	+	+	–	–	–	*Acinobacter SP*
7	كتلة كروية	–	+	–	+	+	–	+	–	–	+	AG	AG	AG	*Micrococcus SP*
8	عصوية	+	–	–	+	–	+	–	–	+	–	AG	AG	–	*Enterobact er SP*
9	عصوية قصيرة	+	–	–	+	+	–	+	–	+	+	–	–	AG	*Pseudomonas SP*

(+) =موجب الغرام (–) = سالب الغرام A = تنتج اسيد G = تنتج غاز GA = تنتج غاز واسيد

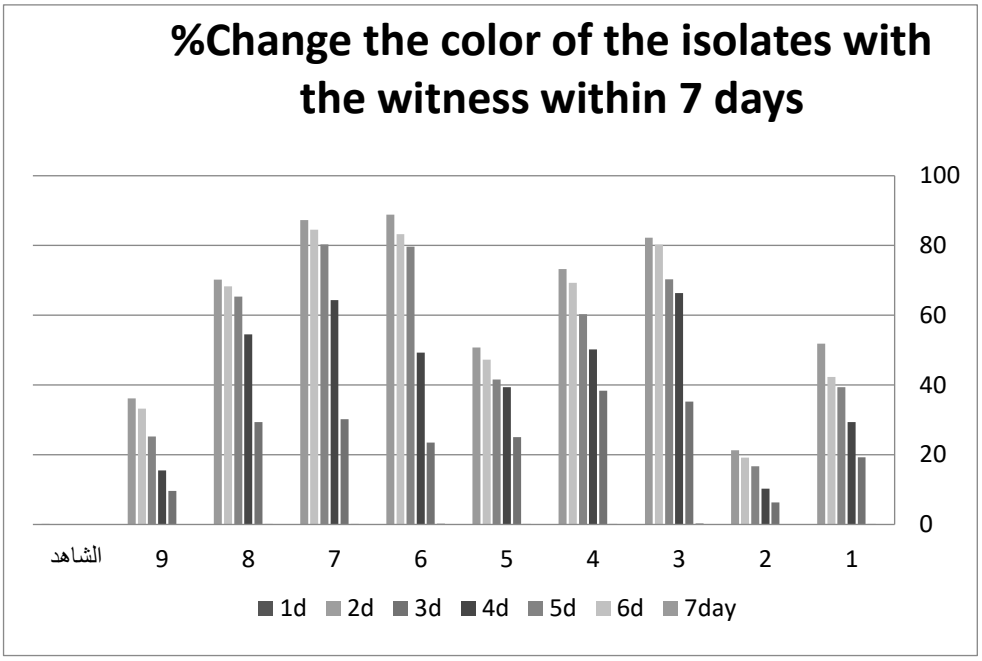
2. نتائج تجربة بوشنل هاس لتقييم قدرة العزلات الفطرية والبكتيرية في تحليل المركبات النفطية:

1.2. للعزلات المفردة:

1.1.2.الفطريات: يلاحظ من الصورة (1) التغير اللوني للوسط المضاف إليه العزلات من اللون الأزرق إلى اللون الوردي في معظم المعاملات، في حين ظهر لونها وردي فاتح في المعاملتين الفطريتين السادسة والسابعة، وحققت العزلة الثالثة تغير لوني أقل منهما، في الوقت الذي بقي فيه الشاهد أزرق اللون وتتوافق نتائج التغير اللوني باستخدام بيئة بوشنل هاس مع Khan وزملاؤه(2015) ،Kiama (2015)، وأكدت قراءة هذا التغير اللوني

للمعاملات المختلفة على جهاز المطياف الضوئي وبشكل يومي خلال أيام التحضين السبعة كما في المخطط البياني (1). حيث تفوقت العزلتان السادسة و السابعة (*Aspergillius Penicillium spp, neger*) معنوياً على كافة العزلات الفطرية بمافيها الشاهد أيضاً، في قدرتها على تحليل المركبات الهيدروكربونية، من خلال أكسدة هذه المركبات وتفكيكها واستخدام الكربون الناتج في نموها وبناء اجسامها، تليهم العزلة الثالثة *spp Cladosprium*، وهذا يلاحظ من زيادة التغير اللوني اليومي في كل عزلة وبشكل تدريجي مما يشير إلى استمرار عمليات التحلل النفطي بشكل يومي.

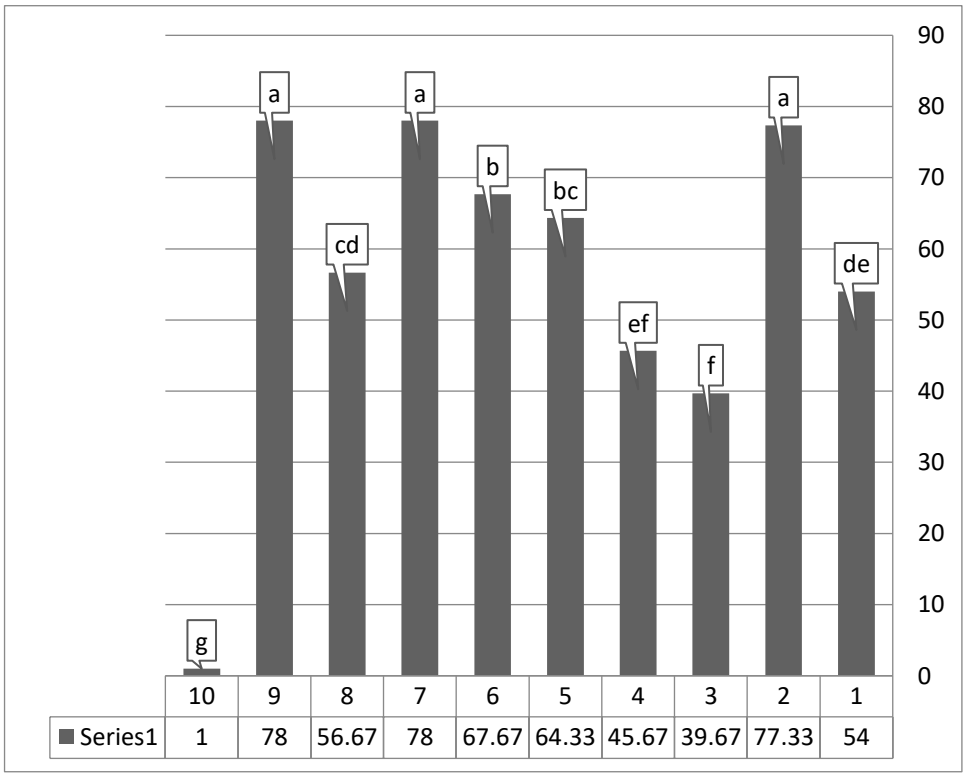
الصورة (1) التغير اللوني لوسط بوشنل هاس الملقح بالعزلات الفطرية المعزولة من الترب الملوثة بالنفط



المخطط البياني (1) قراءة التغير اللوني لوسط بوشنل هاس الملقحة بالعزلات الفطرية في خلال7 أيام بمقياس المطيافية الضوئي

2.1.2. البكتيريا: يلاحظ من الصورة (2) نتائج تجربة بوشنل هاس للعزلات البكتيرية المفردة وقدرتها على التغير اللوني من الأزرق للون الوردي في معظم العزلات وفي حين كانت وردي يميل لعديم اللون عند العزلة الثانية والسابعة والتاسعة (*Micrococcus* – *Bacillus* – *Pseudomonas*)، كما يؤكد المخطط البياني (2) النتائج السابقة عند قراءة التغير اللوني باستخدام جهاز المطياف الضوئي حيث تفوقت معنوياً المعاملات الثانية والسابعة والتاسعة (*Micrococcus* – *Bacillus* – *Pseudomonas*) على باقي المعاملات، وعلى الشاهد، الذي بلغت قراءة مقدار تغيره اللوني الصفر. كانت قراءات التغير اللوني في العزلات الثلاث السابقة (78–78–77.33)، وهذا يتوافق مع نتائج Khan وزملاؤه (2015) وKiama (2015)، العويد وزملاؤه (2017) في أظهار قدرة الفطور والبكتيريا على التحلل الحيوي للنفط الخام من خلال قراءة التغير اللوني لوسط بوشنل هاس على جهاز المطيافية الضوئي.

الصورة (2) التغير اللوني لوسط بوشنل هاس الملقح بالعزلات البكتيرية المعزولة من الترب الملوثة بالنفط



المخطط البياني (2) قراءة التغير اللوني لوسط بوشنل هاس الملقح بالعزلات البكتيرية بعد مرور7 أيام باستخدام جهاز المطياف الضوئي

2.2.التآزر بين العزلات:

تم اختبار الفعل التآزري لثلاث عزلات فطرية مجتمعة ذات الأرقام (7-6-3) *Cladosprium sp Aspergillius neger،Penicillium* التي كانت الأكثر قدرة على تحلل النفط الخام بمفردها. نفذت تجربة التآزر في أطباق بتري، للتأكد من عدم حدوث تضاد بين العزلات. أظهرت نتائج تجربة بوشنل هاس زيادة التغير اللوني في العزلات المتآزرة حيث بدت عديمة اللون (الصورة 3) كما ظهرت النموات الفطرية في الوسط، وبلغت نسبة الامتصاص 93.7 % وهي أعلى نسبة، ويعود ذلك لاختلاف قدرة الفطريات المعزولة على تفكيك مواقع مختلفة من السلاسل الكربونية، بالتالي قامت كل عزلة على حدا بالتفكيك في الموقع المخصص لها وهذا يتوافق مع Farid (2012)، العويد وزملاؤه (2017).

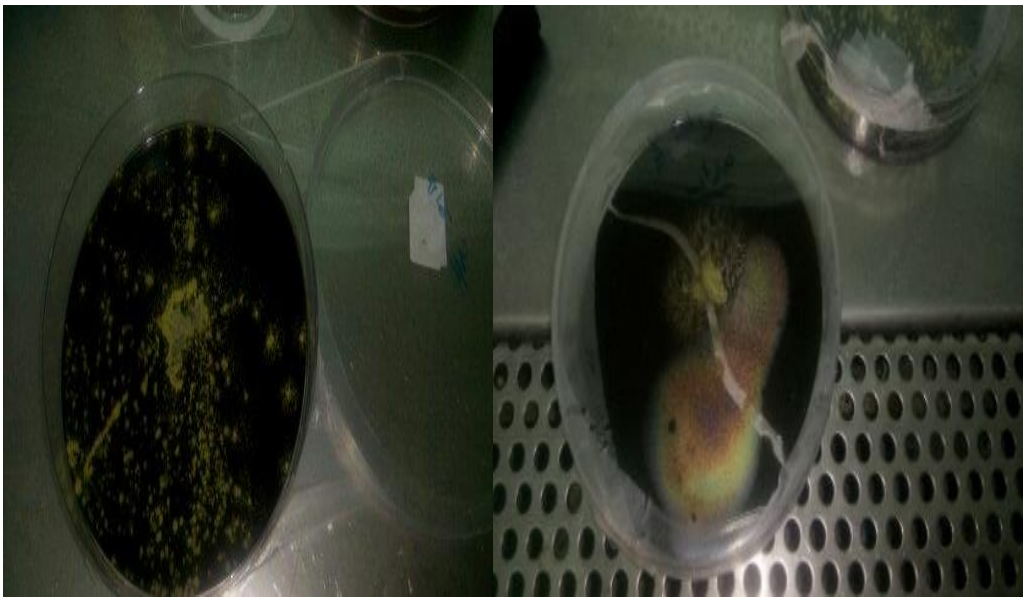
أظهرت العزلات البكتيرية المتآزرة الثلاثة ذات الأرقام (2-7-9) والتي تنتمي للأجناس (*Micrococcus Pseudomonas -Bacillus*) زيادة في التغير اللوني(عديمة اللون) وبلغت نسبة الامتصاص 90.7 % وهي أعلى نسبة بالنسبة للبكتيريا.

الصورة (3) قدرة العزلات الفطرية والبكتيرية مجتمعة على التحلل النفطي في بيئة بوشنل هاس

3.نتائج تجربة MSM (بيئة الأملاح المعدنية المعدلة):

يلاحظ من خلال تجربة الاملاح، أن العزلات الفطرية تمكنت من النمو في بيئة الاملاح الخالية من الكربون، بشكل متفاوت، مما يشير إلى قيامها بتفكيك الكربون

فـي المركبـات الهيدروكربونيـة الموجـودة بـالنفط الخـام (المشـبعة بهـا ورقـة الترشـيح) لتسـتخدمه فـي بنـاء خلاياهـا وبالتـالي اسـتمرارها فـي النمـو ولـم يلحـظ أي نمـو لبـاقي العزلات والشاهد على هذه البيئة الصورة (4).



الصورة(4) نمو العزلات الفطرية في وسط MSM(*على اليمين Penicillium*

،على اليسار Aspergillius)

4. التغير في طبيعة المواد المكونة للنفط عند معاملتها بالعزلات الفطرية والبكتيرية المفردة والمتآزرة باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغازي:

1.4. التغير في طبيعة المواد المكونة للنفط عند معاملتها بالعزلات الفطرية المفردة والمتآزرة: أثبتت نتائج التحلل الحيوي للنفط باستخدام العزلات الفطرية الجدول (9) قدرة هذه العزلات منفردة أومجتمعة على تحطيم الروابط الهيدروكربونية في النفط الخام، وبشكل مختلف، ويظهر ذلك من خلال تغير في طبيعة المواد الداخلة في تركيب النفط الخام في المعاملات الثلاثة، مقارنة بمعاملة الشاهد حيث ظهرت المواد الموجودة في الشاهد النفط الخام بدون عزلة فطرية، وتغير تركيبها، حيث لم تظهر هذه المواد في المعاملات الفطرية

فكانت النسبة المئوية للمواد المتغيرة بشكل كلي لكل عزلة على حدا (53.75–57.14–53.75) % للعزلات الفطرية (F3–**F6**–**F7**) *Aspergillius neger*،*Penicillium sp*،*Cladosprium sp*، بينما أدت إضافة العزلات الثلاثة مجتمعة إلى زيادة هذه النسبة إلى71.43 مقارنة بمعاملة الشاهد.

جدول (9) % للمواد المكونة للنفط الخام والنسبة المئوية للتغير الكلي بعد المعاملة بالفطور

Cladosprium **F7**	*Aspergillius* **F6**	*Penicillium* **F3**	**العزلات مجتمعة**	**الشاهد**	*المواد المكونة للنفط*
0	0	0	0	0.9378	1-Octadecene
6.3	2.6	2.6	1.7	6.4	Benzene
3.3	0	0	0	3.8	1-Docosene
5.3	0	1.8	0	6.3	E-15-Heptadecenal
0.9	1.2	2.8	0.8	6.03	GAS Hexadecane
0.9	0	1.7	0	0	Hexadecane, 2,6,11,15-tetramethyl
0.9	0	0.8	0	1.9	Hexadecane
3.3		0.6	0.8	4.7	Eicosane or n-Eicosane
0	0.8	0.6	0.6	4.7	Eicosane GAS
0.8	0.8	1.4	0.7	1.5	Octadecane (CAS)
0	0	0	0	4.06	Hentriacontane
2.9	0.8	1	0.8	0.9	Decane
0	0	0	0	1.1	Benzeneethanamine
0	0	0	0	2.4	(16S)-18,19-DIHYDRO-SITSIRIKINE-
0	0	0	0	3.6	Lauric acid
0	1.8	0	0	2.4	Nonadecane
0	0	0	0	0.7	Nonane,
1.02	3.2	2.6	0	3.3	Octadecane
0	0	0.8	0.8	1.5	Oxalic acid
1.8	1.4	0.7	3.2	0.6	CH3(CH2)13CH3
0	0	0	0	0.98	Pentanal
0	1.03	0	0	0.8	Phenol
1.1	0	0	0	0.7	Silane
0	0.7	0	0	3.3	Sulfurous acid
0	0.7	0	0	0.7	2,6-dimethyl-
1.2	1.2	0.8	0	1.7	Tridecane
0	0	0	0	0.9	TRICOSANE
0	0	0	0	0.7	Triacontane

عدد المواد التي لم تظهر بشكل كلي في المعاملات	28	20	15	16	15
للمواد التي تغيرت بشكل كلي عن الشاهد %	100	71.43	53.57	57.14	53.57

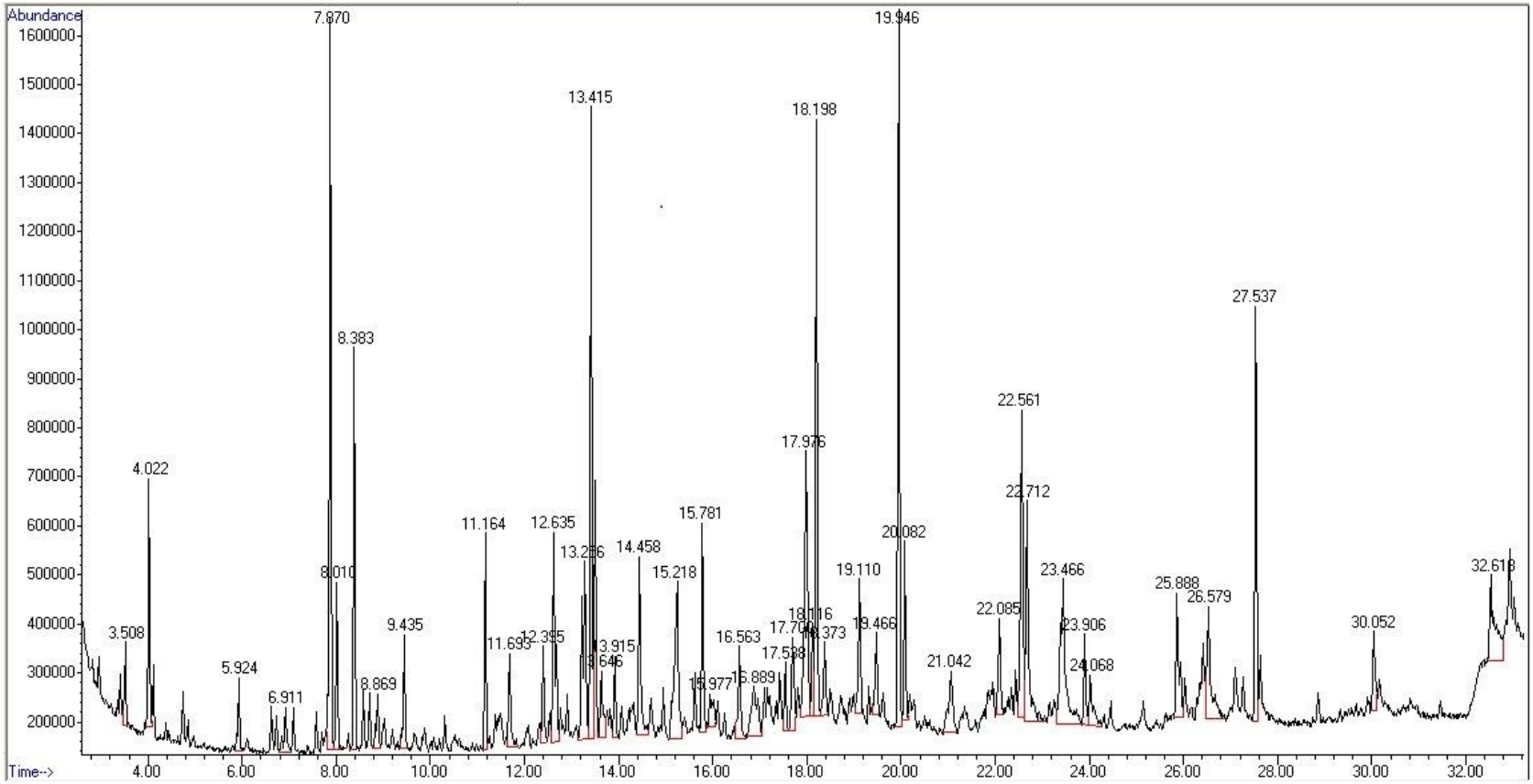
يلاحظ من الأشكال (4,3,2) اختفاء قسم من الطيوف (نتيجة تغير التام للمادة وعدم ظهورها نتيجة تفكك الروابط الهيدروكربونية في السلاسل المكونة للمادة وبالتالي انقسمت لمادتين جديدتين)، وقصر أطوال طيوف أخرى(عند حدوث تفكك في جزء من المادة) عند التحليل باستخدام الكروماتوغرافيا الغازي، بالمقارنة مع الطيوف الظاهرة في عينة الشاهد شكل (1)، كما يلاحظ وجود اختلاف في أطوال الطيوف ، وتعدادها بين العزلات الفطرية الثلاث، وذلك لاختلاف قدرة كل فطر على حدا على تفكيك مواقع معينة من الروابط الهيدروكربونية وكانت العزلات مجتمعة أكثر قدرة على تغيير أطوال الطيوف فيها حيث بدت قصيرة جداً الشكل (5)، مقارنة بباقي المعاملات(أي أن كمية المادة الموجودة في النفط الخام في الشاهد قلت كميتها)، واختفت طيوف وظهرت أخرى بغير موضع، مما يدل على تغير في طبيعة المواد الداخلة في تركيب النفط، تتوافق هذه النتائج مع الجدول (9) الذي يظهر التغير في تركيب المواد المكونة للنفط في كافة المعاملات مقارنة بمعاملة الشاهد، كما يتوافق مع نتائج القراءة اللونية للعزلات المنفردة والمتآزرة حيث حققت العزلات المتآزرة أعلى تغير لوني، يتوافق هذه النتائج مع Kiama (2015) والعويد وزملاؤه (2017).

2.4. التغير في طبيعة المواد المكونة للنفط عند معاملتها بالعزلات البكتيرية المفردة والمتآزرة:

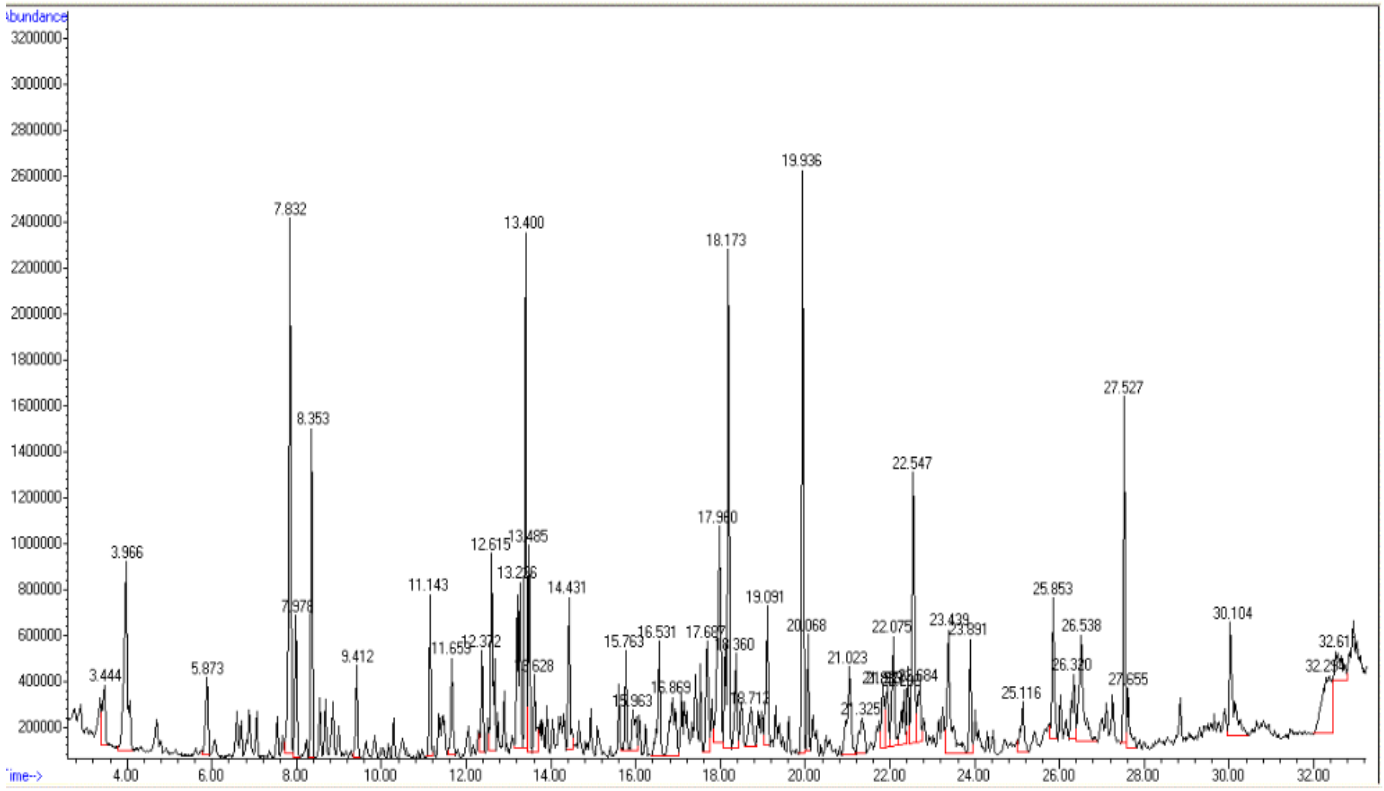
أثبتت نتائج التحلل الحيوي للنفط الخام باستخدام العزلات البكتيرية قدرة العزلات منفردة أومجتمعة على تحطيم الروابط الهيدروكربونية في النفط الخام، وبشكل مختلف، ويتضح ذلك من خلال تغير في طبيعة المواد الداخلة في تركيب النفط الخام في المعاملات الثلاثة بشكل

منفرد، وبالعزلات المجتمعة مقارنة بمعاملة الشاهد، ويظهر ذلك في الجدول (10). كانت النسبة المئوية للمواد المتغيرة بشكل كلي لكل عزلة على حدا (46.43–60.71–57.14) % للعزلات البكتيرية (2–7–9) على الترتيب بينما أدت إضافة العزلات الثلاثة مجتمعة إلى زيادة هذه النسبة إلى 64.28 مقارنة بمعاملة الشاهد.

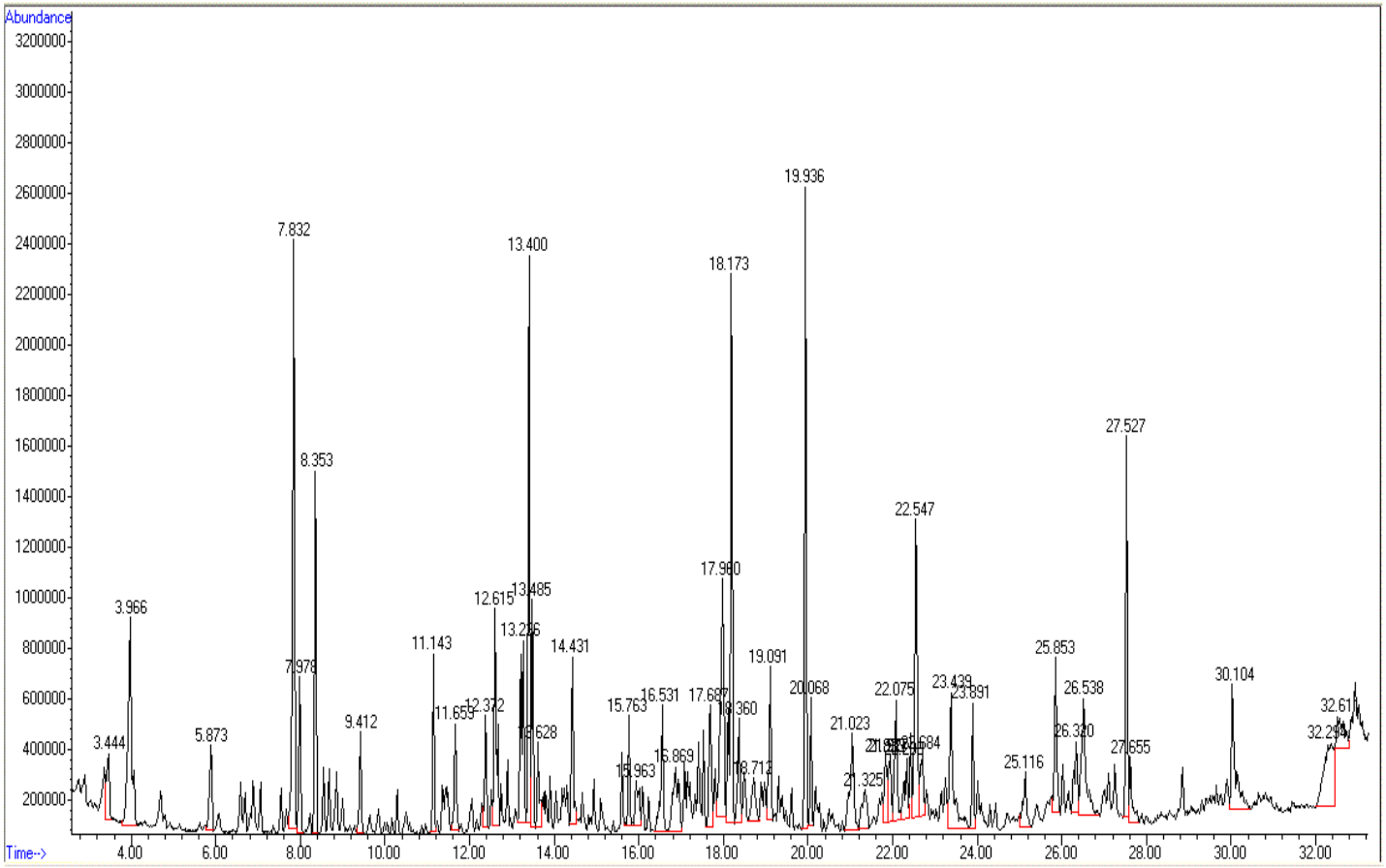
إضافة إلى ذلك يلاحظ وجود اختلاف في أطوال الطيوف وتعدادها بين العزلات البكتيرية الثلاثة، وذلك لاختلاف قدرة كل بكتيريا، على حده، على تفكيك مواقع معينة من الروابط الهيدروكربونية. يلاحظ أيضاً أن أطوال الطيوف في العزلات مجتمعة كانت أقصر بصورة واضحة جداً من العزلات المفردة الشكل (10) مقارنة بباقي المعاملات وإن اختفاء طيوف وظهور أخرى يدل على تغير في طبيعة المواد الداخلة في تركيب النفط وهذه النتائج تتوافق مع الجدول السابق (10)، كما تتوافق مع نتائج القراءة اللونية للعزلات المنفردة والمتآزرة حيث حققت العزلات المتأزرة أعلى تعير لوني، وهذاالنتائج تتوافق مع Ojo وزملاؤه (2006) والعويد (2008).



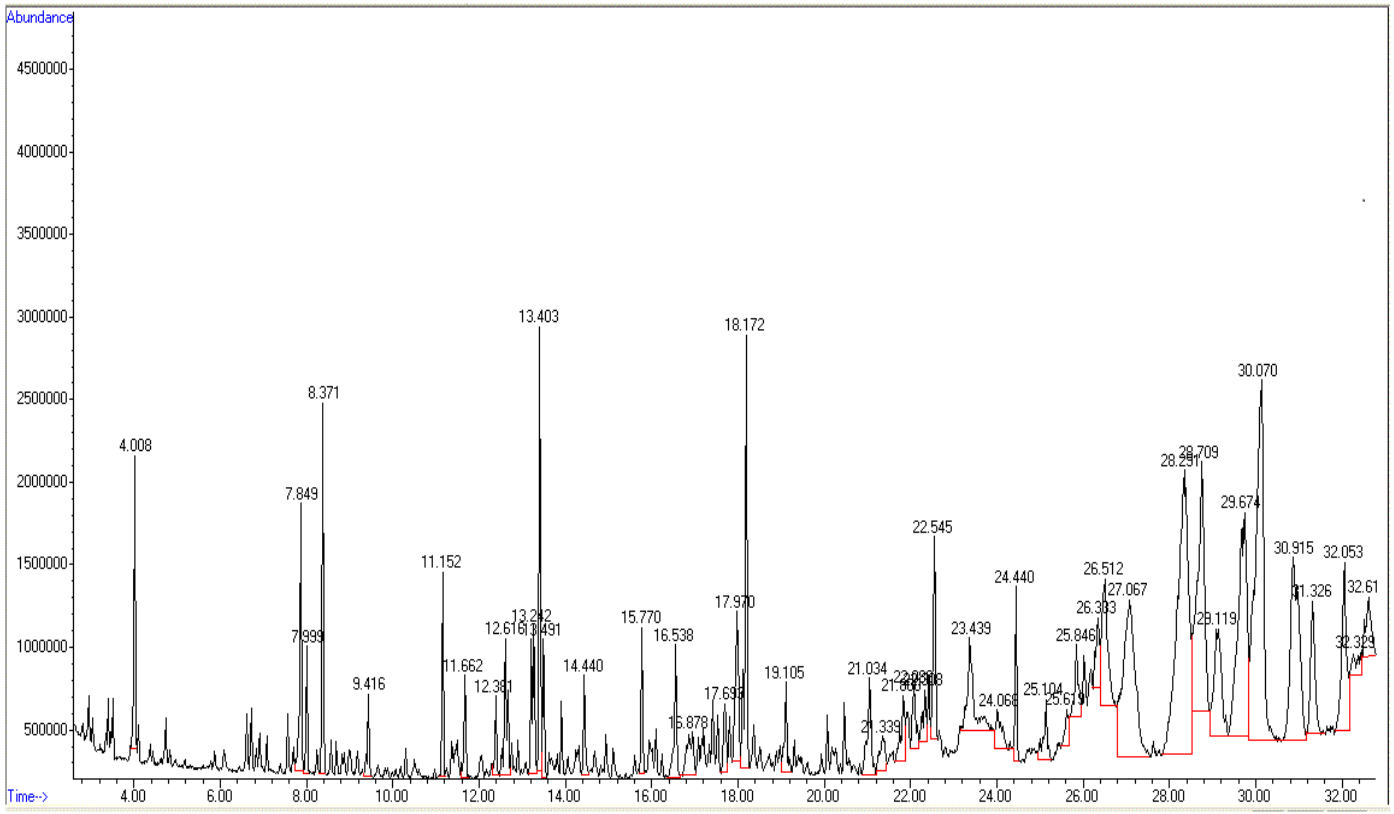
شكل (1)) نتائج فصل المواد الموجودة فى النفط فى معاملة شاهد بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازى



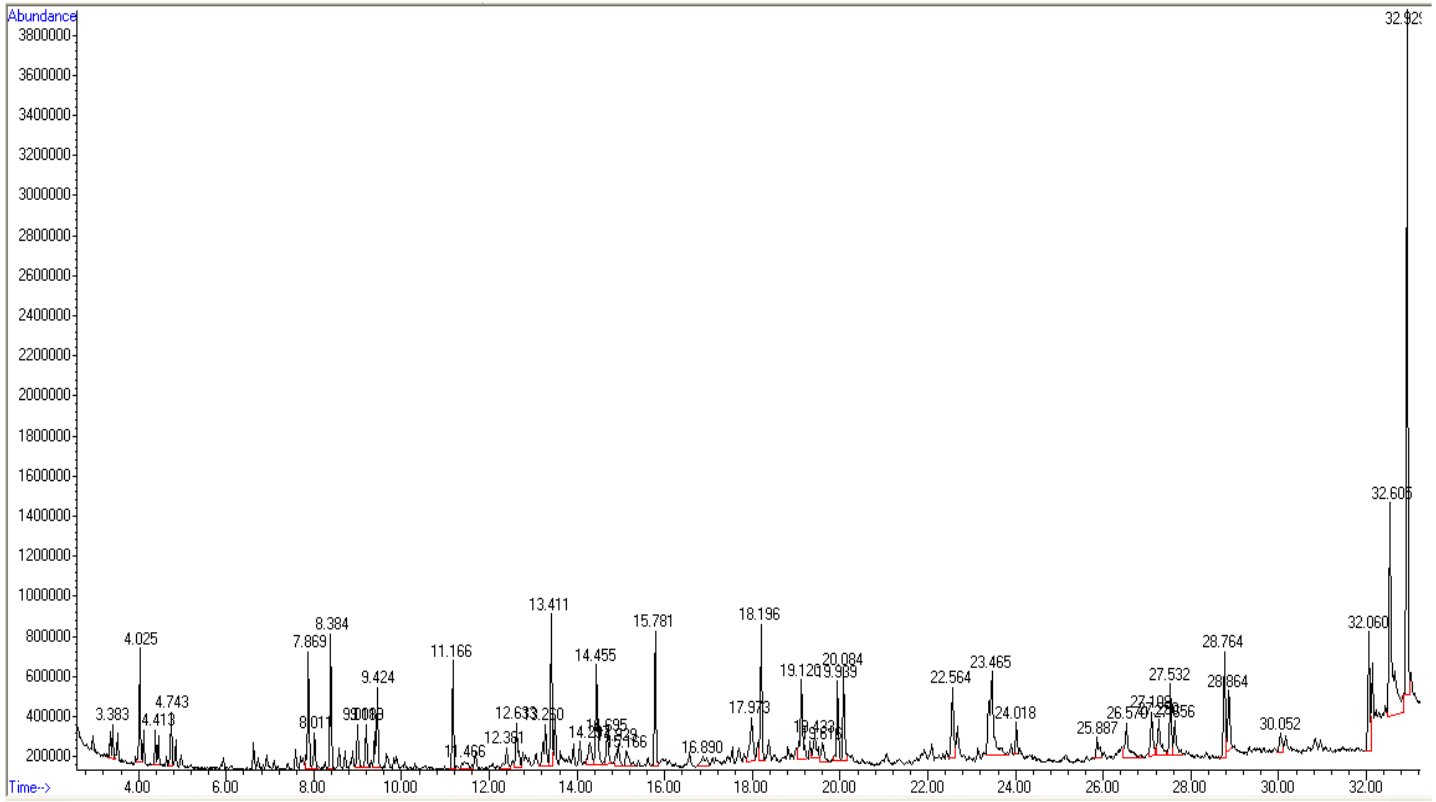
شكل (2) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط في معاملة فطر 3 بعد تحليلها بجهاز الكروموغوافيا الغازي



شكل (3) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط فطر6 بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي



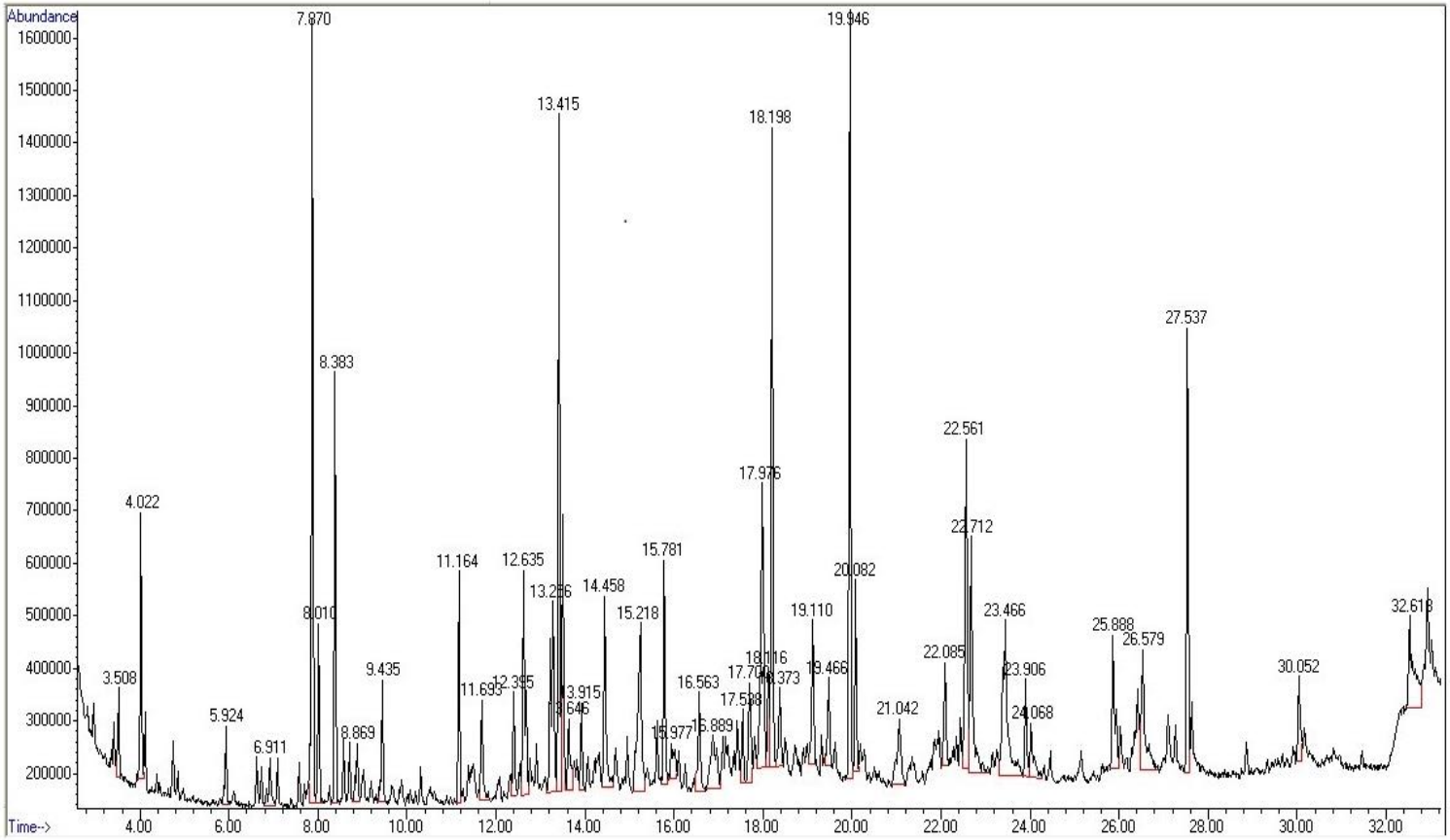
شكل (4) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط في معاملة فطر7 بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي



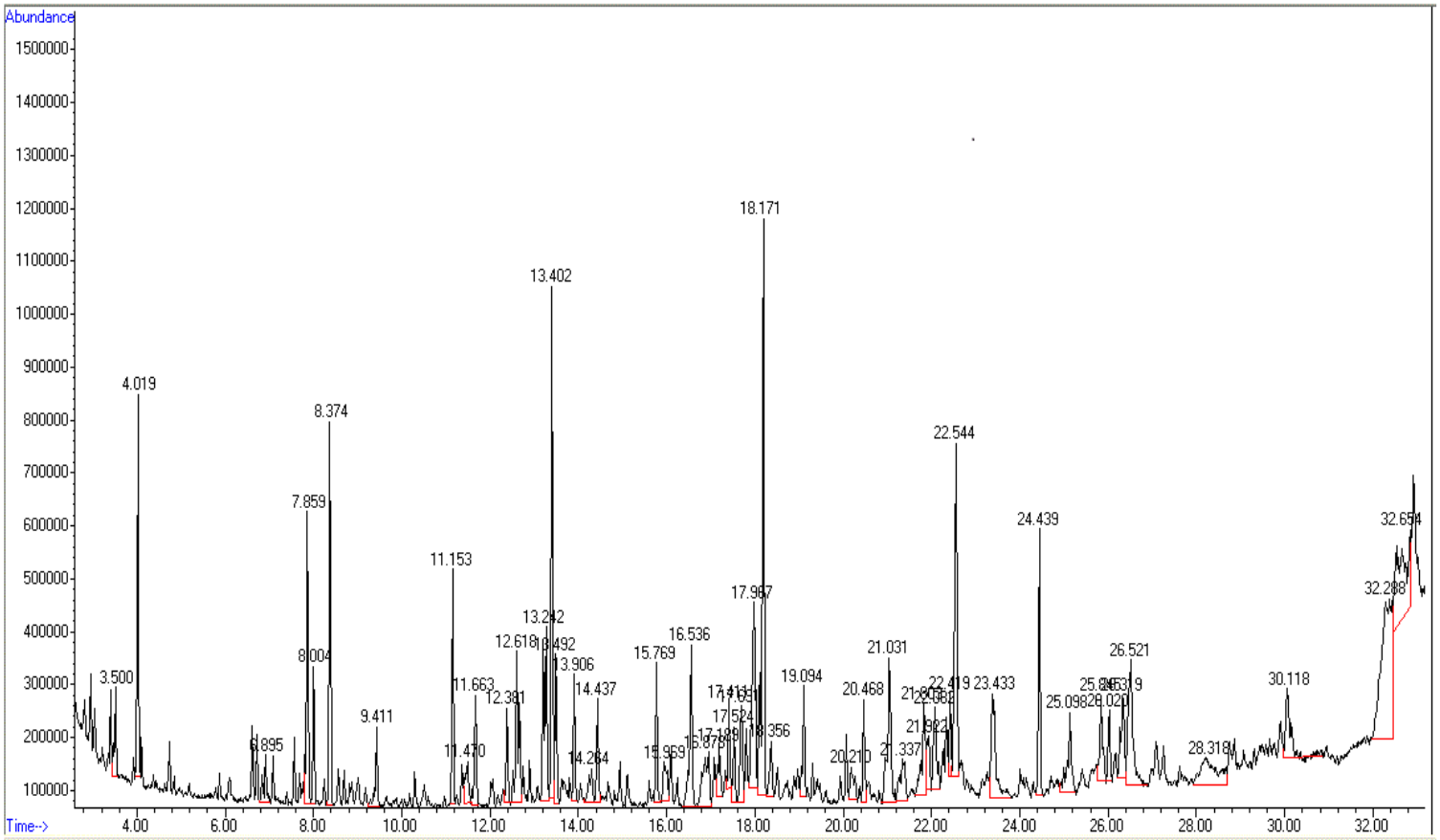
شكل (5)) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط في معاملة فطور متأزرة بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي

جدول (10) % للمواد المكونة للنفط الخام والنسبة المئوية لهذا التغير بالمعاملات البكتيرية.

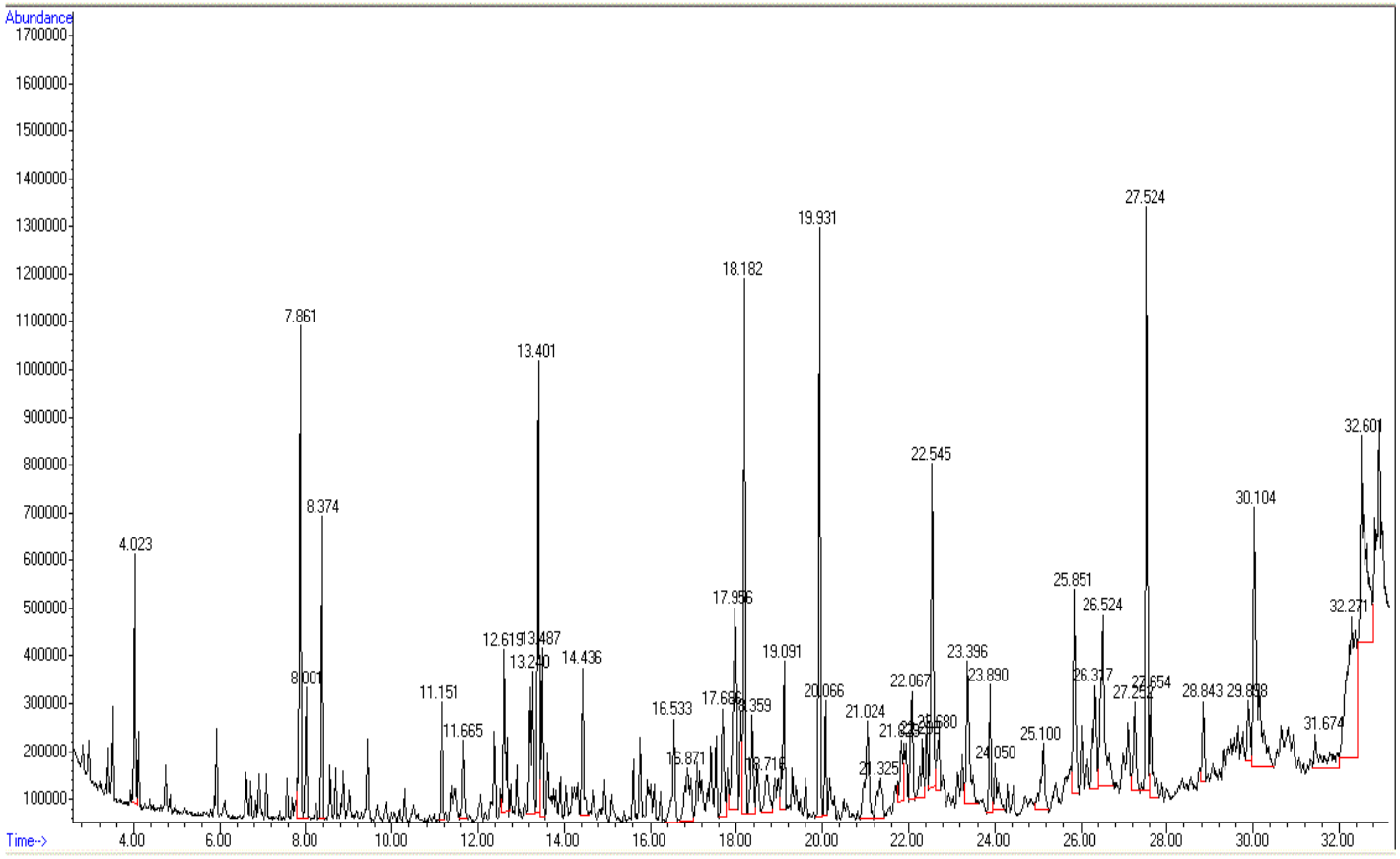
Micrococcus **B7**	*Bacillus* **B2**	*Pseudomonas* **B9**	العزلات معاً	الشاهد	المواد النفطية
0	0	3.761	5.1	0.9378	1-Octadecene
0	2.3	7.4	3.9	6.4	Benzene
0	0	0	5.3	3.8	1-Docosene
0	0	6.1	0	6.3	E-15-Heptadecenal
2.3	2.7	1.8	0.8	6.03	Hexadecane GAS
0	0	0.77	0.8	0	Hexadecane, 2,6,11,15-tetramethyl
0	2.7	6.2	1.5	1.9	Hexadecane $$
1.6	3.1	0	5.3	4.7	Eicosaneأو n-Eicosane
1.6	0.8	3.5	0	4.7	EicosaneGAS
1.19	0.8	0.8	0.9	1.5	Octadecane (CAS)
0	0	0.7	0	4.06	Hentriacontane
1.9	1.7	1.1	1.5	0.9	Decane
0	0	0	0	1.1	Benzeneethanamine
0	0	0	0	2.4	(16S)-18,19-DIHYDRO-
0	0	0	0	3.6	Lauric acid
1.7	1.05	2.2	0	2.4	Nonadecane
1.8	0	0	0	0.7	Nonane,
1.1	0	0	0	3.3	Octadecane
0	0.8	0.7	0	1.5	Oxalic acid
0	0	0	1.6	0.6	CH3(CH2)13CH3
0	0	0	0	0.98	Pentanal
1.9	2.2	0.9	0	0.8	Phenol
1.4	0	1.4	0	0.7	Silane
1.3	0	0	0	3.3	Sulfurous acid
0	0	0	0	0.7	2,6-dimethyl-
1.5	0	1.7	0	1.7	Tridecane
0	1.6	0	0	0.9	TRICOSANE
0	0	0	0	0.7	Triacontane
16	17	13	18	28	مجموع المواد التي لم تظهر بشكل كلي في المعاملات
57.14	60.71	46.43	64.28	100	النسبة المئوية للمواد التي تغيرت بشكل كلي عن الشاهد



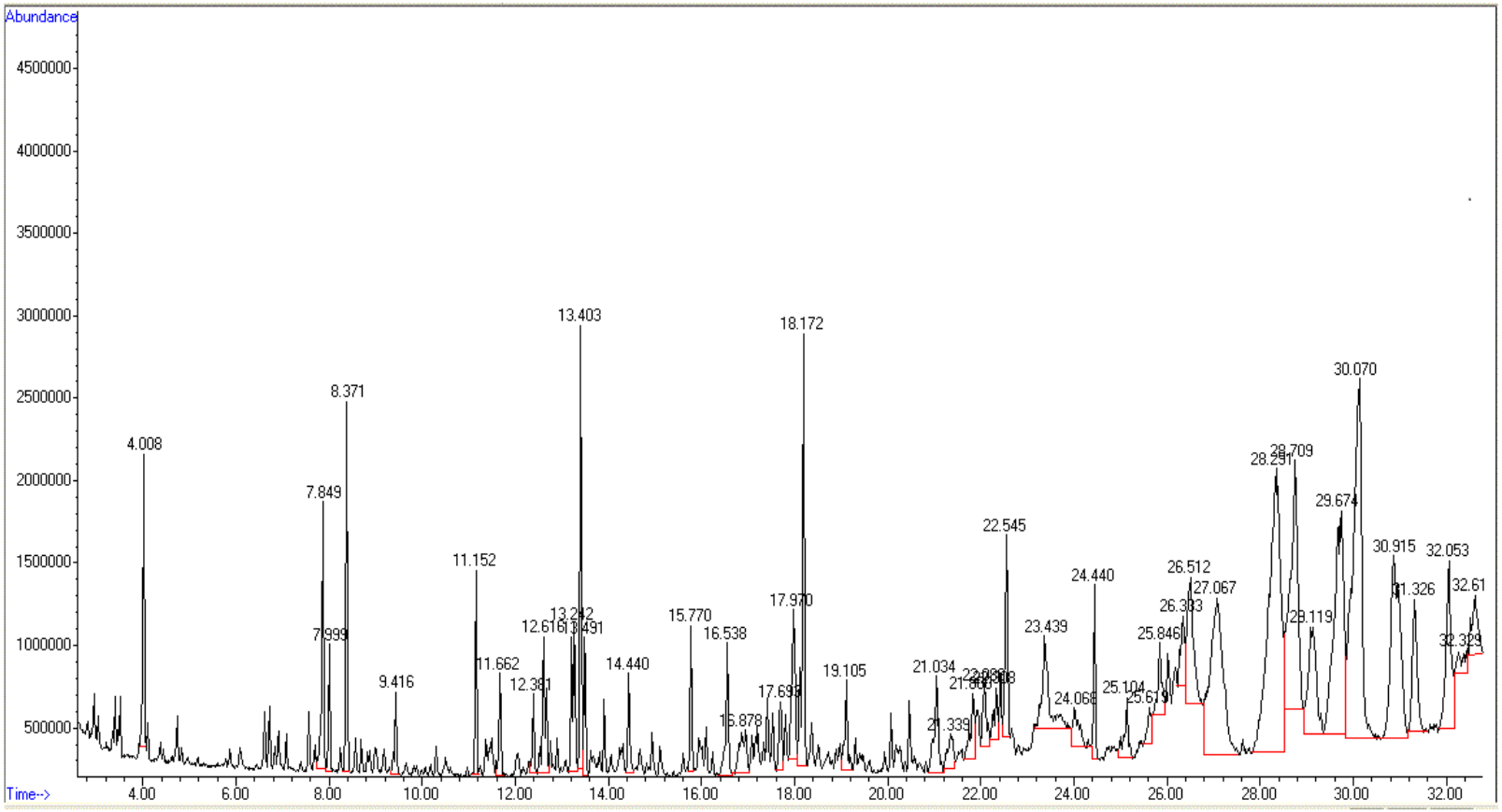
شكل (6) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط غير المعالج بالشاهد بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي



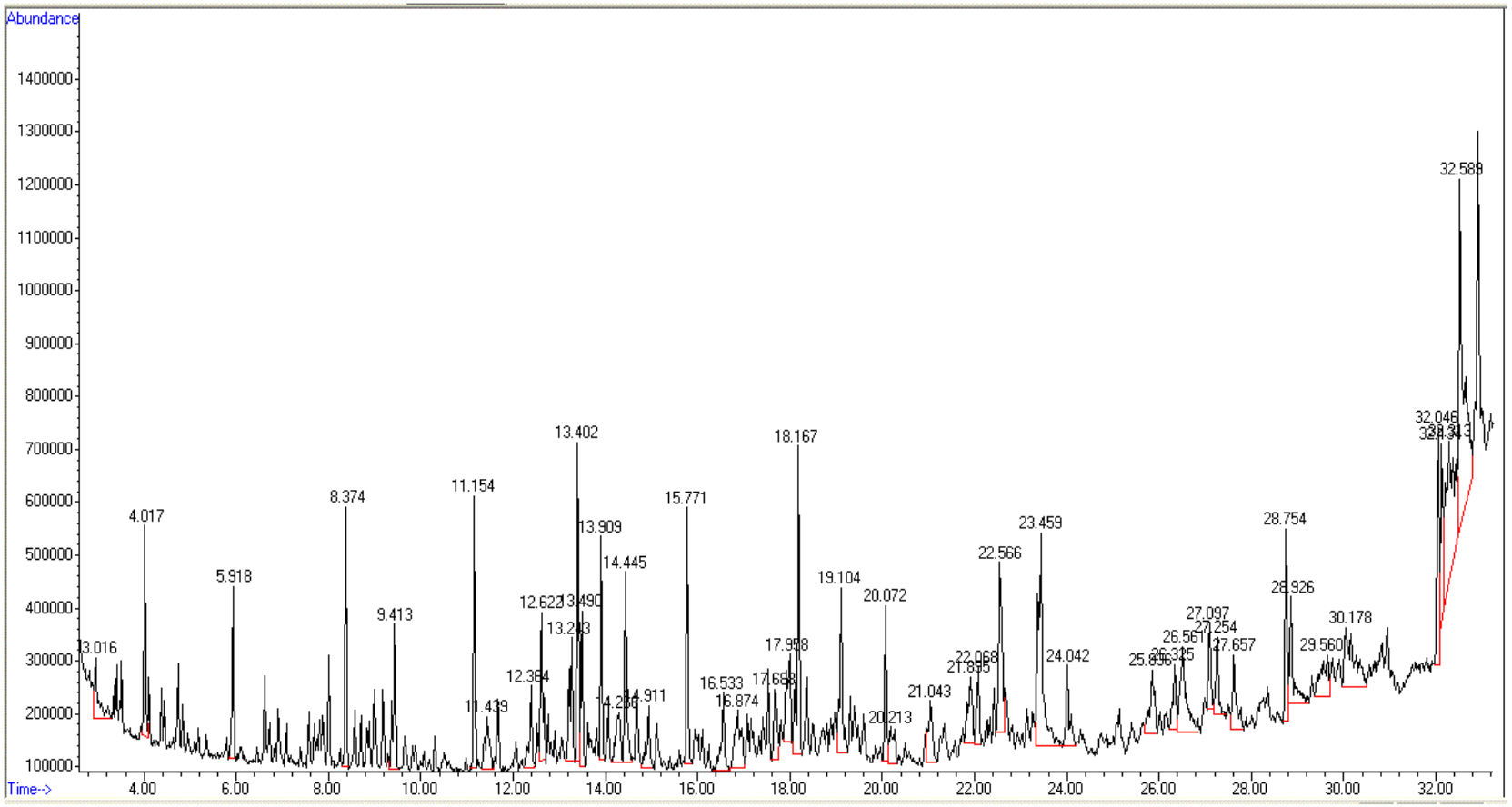
شكل (7) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط المعالج ببكتيريا2 بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي



شكل (8) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط المعالج ببكتيريا 7 بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي



شكل (9) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط المعالج بالبكتيريا 9 بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي



شكل (10) نتائج فصل المواد الموجودة في النفط المعالج بالبكتيريا مجتمعة بعد تحليلها بجهاز الكروموتوغرافيا الغازي

الفصل الرابع

استعمال أحياء دقيقة معزولة محلياَ في معالجة الترب الملوثة بالنفط الخام

الأهداف Objectives:

1.دراسة فعالية اضافة الملقح البكتيري في معالجة التربة الملوثة بالنفط وتآثيره في بعض الخصائص الخصوبية و التعداد الحيوي، الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح.

2.دراسة فعالية اضافة الملقح الفطري في معالجة التربة الملوثة بالنفط وآثره في تحسين بعض الخصائص الخصوبية للتربة، التعداد الحيوي، الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح (شام 6).

3.دراسة فعالية اضافة الآزوت ومخلفات الأبقار مع الملقح البكتيري والفطري في معالجة التربة الملوثة بالنفط وتاثير ذلك في تحسين بعض الخصائص الخصوبية للتربة و التعداد الحيوي و الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح.

المواد وطرائق الدراسة:

1.التربة: أخذت كميات كافية وعشوائية للتربة من محطة بحوث قرحتا حتى عمق 50 سم من سطح التربة، وجففت التربة ثم نخلت بمنخل ذو أقطار 2 مم ووزنت وأضيف 5 كغ من التربة لكل أصيص وأخذت عينة مركبة وعشوائية من التربة للتحليل المخبري.

2.النفط الخام: استخدم نفس النفط المستخدم في الفصل الأول.

3.الملقح البكتيري: تم استخدام الأجناس التالية من العزلات البكتيرية ذات الأرقام (2-7-9) (*Pseudomonas -Bacillus- Micrococcus*) حيث أنها كانت الأكثر فعالية وتم اضافتها للتربة مجتمعة مع بعضها بعد أكثارها على بيئة المرق المغذي السائلة (NB) Nutrint broth

.

4.الملقح الفطري: تم استخدام العزلات الأكثر فعالية ذات الأرقام (3-6-7) *Aspergillius niger*، *penicillum spp* ، *Cladosprium spp* تم اضافة العزلات الثلاث معاً في كل معاملة لأن الفعل التأزري لكل من الفطور و البكتيريا كان أقدر على تحليل المركبات الهيدروكربونية من العزلة بمفردها، وذلك بعد اكثارهاعلى بيئة (Nutrint Broth)NB .

تم اضافتة العزلات السابقة مع مياه الري بعد الزراعة وبكميات متساوية حسب المعاملات 200 مل من كل ملقح لكل أصيص علماً أن التعداد الحيوي في الملقح بلغ 9 × 10^8 في 1مل من الملقح البكتيري و4×10^4في الملقح الفطري.

5.المخلفات الأبقار: أضيف مخلفات الأبقار غير المخمرة، والمتوفرة في محطة قرحتا، وأضيف 36 غ لكل معاملة أي ما يعادل26 طن/هكتار(على أعتبار أن وزن الهكتار=مساحة السطح بـ $م^2$ ×العمق م×الكثافة الظاهرية للتربةغ/$سم^3$ =3600 طن=10^5 ×36 كغ تربة) ويبين الجدول (11) نتائج التحليل ذات الصلة.

الجدول (11) نتائج تحليل المخلفات البقرية

EC ديسيسمنز/م	Ph	معدل C/N	%				
			الكربون العضوي	المادة العضوية	الرطوبة	N	P	K
3.43	7.81	29.10	23.28	40.13	30.60	0.81	0.16	0.09

6.الآزوت: أضيف على شكل يوريا بمعدل 0.06 غ لكل معاملة أضيف لها الآزوت أي ما يعادل 43.2 كغ/هـ (على أعتبار أن وزن الهكتار يعادل 10000×عمق النبات×الكثافة الظاهرية للتربة=3600 طن=10^5 ×36 كغ تربة وبالتالي تحول لوزن كغ) (حسب حاجة نبات القمح للآزوت).

تصميم التجربة: صممت التجربة بحيث تحتوي على10 معاملات وثلاث مكررات لكل معاملة وكانت المعاملات كالتالي:

1.شاهد (تربة فقط) زرعت بمحصول القمح ورمزت المعاملة (S).

2. شاهد تربة+ نفط خام بدون معالجة غيرمزروعة بالقمح(SO).

3. تربة مزروعة+ نفط خام (SO1).

4. تربة مزروعة+ نفط خام + ملقح بكتيري (SOB).

5. تربة مزروعة+ نفط خام + ملقح فطري (SOF).

6. تربة مزروعة+ نفط خام + مخلفات أبقار + آزوت (SOMN).

6. تربة مزروعة+ نفط خام + ملقح بكتيري+ آزوت (SOBN).

7. تربة مزروعة+ نفط + ملقح فطري+ آزوت (SOFN).

8. تربة مزروعة+ نفط خام + ملقح بكتيري + مخلفات أبقار + آزوت (SOBNM).

9. تربة مزروعة+ نفط خام + ملقح فطري+ مخلفات أبقار + آزوت (SOFNM).

أضيف النفط بنسبة 100غ/كغ وتم خلطها بالتربة بشكل جيد وزرعت حبوب القمح بمعدل 200 كغ/هـ، ثم أضيفت الأسمدة المعدنية N K وفقاً لتوصية وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي(الزعبي،2013) بكميات تعادل 40 كغ N/هـ على شكل نترات الأمونيوم 33.5 % و 20 كغ/هـ K_2O على شكل كبريتات البوتاسيوم 50% ولم يضف السماد الفسفوري نظراً لمحتوى التربة المرتفع لهذا العنصر (56.8)، ورويت الأصص بكميات متساوية من المياه بحيث تم المحافظة على الرطوبة بما يعادل 80 % من السعة الحقلية بوزن الأصص واضافة الماء المفقود، وكانت الزراعة بتاريخ /2018/1/6.

تم حصاد القمح بتاريخ 2018/6/6 حيث قطفت السنابل ووضعت كل معاملة في كيس على حده وتم حساب أطوال النباتات ووزنها وأخذت عينات تربة من كل معاملة لإجراء التحاليل الكيميائية.

طرائق التحليل للتربة والنبات: ذكرت كافة طرائق التحليل سابقاً في الفصل الثاني، أما بالنسبة للسماد، فبعد طحنه، تم هضمه بالطريقة الرطبة، ثم قدر الآزوت الكلي بطريقة كلداهل والفوسفور الكلي حسب Olsen (1982) في جهاز المطيافية الضوئية الآلي، وقدر البوتاسيوم الكلي بجهاز مطياف اللهب، وتم تقدير المادة العضوية والكربون العضوي بالترميد(Walkley و Black،1934)

وأيضاً درست بعض الخصائص الشكلية (المورفولوجية) لنبات القمح وتقدير الأحياء الدقيقة (المكروبيولوجية) في التربة.

التحليل الإحصائي: اتبع التحليل الأحصائي كما ورد في الفصل الثاني.

النتائج والمناقشة:

1.الخصائص الخصوبية للتربة: يبيَن الجدول (12) نتائج تحليل التربة المستخدمة للزراعة، حيث يتضح أن قوام التربة طيني، إذ وصلت نسبة الطين إلى (58) % ودرجة الـ(pH) قاعدي والناقلية الكهربائية (EC) في مستخلص العجينة المشبعة (0.389) دسيسمنز/م، والنسبة المئوية ببكربونات الكلية 48.70 وجيدة المحتوى من المادة العضوية .

الجدول (12): بعض الخصائص الخصوبية للتربة.

%التركيب الميكانيكي للتربة			معلق 10:1	EC ديسيسميز/م	%			مغ/كغ	
رمل	سلت	طين	تربةpH		الكربونات الكلية	المادة العضوية	الآزوت الكلي	P_2o_5 المتاح	K_2O المتاح
22	20	58	8.26	0.39	48.70	1.48	0.08	56.80	312

2.تأثير معالجة التربة الملوثة بالنفط في بعض الخصائص الخصوبية للتربة بعد الزراعة:

يظهر الجدول(13) عدم وجود فروق معنوية في درجة (pH) التربة بين معاملة التربة الملوثة بالنفط المزروعة وغير المزروعة والشاهد، حيث تسبب تلوث التربة بالنفط بانخفاض ظاهري لدرجة (pH) التربة عن الشاهد، وهذا يتوافق مع (Andrade وزملاؤه 2004 و Ayotamuno وزملاؤه،2004 ؛ Njoku وزملاؤه، 2009؛ Akpoveta وزملاؤه، 2011) أي أن إضافة النفط لم تؤثر بشكل معنوي على درجة (pH) التربة، وربما يعود السبب في ذلك إلى ان درجة (pH) النفط متعادل بالإضافة الى ان التربة تتمتع بخاصية تنظيمية تحد اي تغير في قيم الـ (pH). يلاحظ وجود فروق معنوية في قيمته في معاملات المعالجةن فانخفض في المعاملات المضاف لها الملقحات بسبب نشاط البكتيريا و الفطور وانتاجها بعض الاحماض العضوية (Almamoori وزملاؤه،2018)، أو لانطلاق غاز ثاني أكسيد الكربون، أثناء قيام البكتيريا بتفكيك المركبات الهيدروكربونية في التربة، وانحلاله بالماء لتشكيل حمض الكربون، مما يخفض من درجة الـ pH (Essien و John ، 2010)، كما يلاحظ زيادة الناقلية الكهربائية في الترب الملوثة بالنفط وبفروق معنوية بين المعاملات المعالجة، وتفوقت معنوياً معاملة الترب الملوثة بالنفط وغير مزروعة، حيث بلغت االناقلية الكهربائية فيها 2.80 ديسيسمنز/م، وهذا يتوافق مع نشأت ودالاتي (1998)ومطر (2009). قد يعود السبب في

ذلك إلى زيادة نسبة الأملاح في النفط (27مغ/كغ) يليها معاملة التربة الملوثة بالنفط والمزروعة وبفرق معنوي (2.11 ديسيسمنز/م)، أي أن الزراعة خفضت من ناقلية التربة، ولم يكن هناك فروق معنوية بين معاملات المعالجة حيث خفضت جميعها ملوحة التربة ولم يكن بينها وبين الشاهد أية فروقات معنوية، حيث بلغت (0.56،0.48،0.42،0.34،0.34، 0.47،0.28، 0.34،0.37) ديسيسمنز/م على الترتيب لكافة معاملات المعالجة ثم الشاهد، أي أن التربة استعادت درجة ناقليتها بفعل عمليات المعالجة، ويفسر ذلك بأن معاملات المعالجة حسنت من بنية التربة ونفاذيتها مما أدى لتنشيط عمليات الرشح وغسل الأملاح مما عمل على تخفيض الناقلية الكهربائية. يلاحظ زيادة معنوية للمادة العضوية في معاملتي التربة الملوثة بالنفط مقارنة بمعاملة الشاهد اذ بلغت في الشاهد 1.29 % بينما في معاملتي النفط المزروع وغير المزروع (2.64– 2.93)%على الترتيب، وهذا الارتفاع لا يعود إلى ارتفاع في المادة العضوية المخصبة للتربة، ولكن نتيجة الملوثات العضوية صعبة التحلل الموجودة في النفط. أدت الزراعة إلى تشجيع تفكك جزء من المركبات العضوية (المعقدات الهيدروكربونية) وتحللها، وبالتالي خفضت معنوياً من المادة العضوية الملوثة من 2.93 % لـ 2.64% في معاملة النفط المزروعة، وأدت المعالجة الحيوية للنفط في باقي المعاملات إلى زيادة معنوية في المادة العضوية كما في معاملة النفط المضاف لها السماد البقري+الآزوت، التي حققت أعلى نسبة من المادة العضوية وبفروق معنوية بين باقي المعاملات، حيث أدت إضافة مخلفات الأبقار لتوفر كمية من المادة العضوية، بالاضافة للمادة العضوية الموجودة إصلاً في النفط والتربة، ولم تكن الأحياء الدقيقة الموجودة في مخلفات الأبقار قادرة على تفكيك المادة العضوية الملوثة الموجودة بالنفط ، وتفاوتت قيم المعاملات المعالجة الأخرى بفروق معنوية، نتيجة لنشاط الأحياء الدقيقة القادرة على تفكيك

المادة العضوية من جهة، وتعدادها وتوفر المغذيات اللازمة لبقائها من مخلفات أبقار وآزوت من جهة أخرى، وقد يكون انخفاض المادة العضوية في معاملات المعالجة مؤشر لتفكك المركبات الهيدروكربونية في النفط.

يلاحظ عدم وجود فروق معنوية للآزوت الكلي في معاملة التربة الملوثة بالنفط مقارنة بمعاملة الشاهد وربما يعود السبب في ذلك ألى احتواء الهيدروكربونات على كميات قليلة نسبياً من المركبات الآزوتية، وهذا يتوافق مع Ekundayo وزملاؤه، (2000)و Osuji وزملاؤه(2007) وAkpoveta وزملاؤه (2011).

الجدول (13): تأثير اضافة معاملات المعالجة في بعض الخصائص الخصوبية للتربة المدروسة الملوثة بالنفط

المعاملات	pH معلق	عجينة مشبعة	مادة عضوية	الآزوت الكلي	P_2O_5 متاح	K_2O متاح
		EC دسيسيمنز/م	%		ملغ/كغ	
S	8.28^{d}	0.37^{c}	1.29^{f}	0.06^{g}	54.7^{a}	358.71^{C}
SO	8.20^{d}	2.80^{a}	2.93^{b}	0.06^{g}	40.01^{c}	322.10^{d}
SO1	8.22^{d}	2.11^{b}	2.64^{bc}	0.07^{g}	41.31^{c}	327.17^{d}
SOB	8.77^{a}	0.56^{c}	2.00^{de}	0.12^{cd}	40.20^{c}	388.70^{c}
SOF	8.45c	0.48^{c}	1.58^{ef}	0.09^{ef}	43.61^{b}	378.31^{c}
SOMN	8.52^{bc}	0.42^{c}	3.95^{a}	0.15^{a}	42.51^{b}	443.30^{b}
SOBN	8.62^{ab}	0.34^{c}	2.05^{cde}	0.12^{bc}	44.00^{b}	476.01^{b}
SOFN	8.44^{c}	0.28^{c}	1.53^{ef}	0.08 f	44.91^{b}	503.71^{ab}
SOBNM	8.62^{ab}	0.47^{c}	1.93^{de}	0.11^{de}	54.62^{a}	571.30^{a}
SOFNM	8.54^{bc}	0.34^{c}	2.37^{bcd}	0.12^{ab}	55.91^{a}	583.30^{a}

72.65	9.74	0.01866	0.5894	0.3007	0.08864	$LSD_{0.05}$
06.2	4.21	10.40	15.50	21.50	0.60	Cv%

اختلاف الأحرف يدل على وجود فروق معنوية على مستوى 5%

أدت المعالجة الحيوية إلى زيادة معنوية للآزوت الكلي مقارنة بمعاملات التربة الملوثة SO والشاهد وذلك نتيجة لنشاط الأحياء الدقيقة المضافة في تحلل المادة العضوية، وتحول العناصر المعدنية من شكل لأخر، وزيادة توفرها وهذا يتوافق مع Akpoveta وزملاؤه (2011)، يلاحظ أيضاً انخفاض معنوي لمحتوى التربة من الفسفور المتاح في معاملتي التربة الملوثة المزروعة وغير المزروعة، على الشاهد، وهذا يتوافق مع نتائج Ekunday وزملاؤه( ) 2000 و Osuji وزملاؤه(2007) وAkpoveta وزملاؤه (2011)، ويلاحظ تفوق ظاهري لمعاملة التربة الملوثة بالنفط والمزروعة بنبات القمح مقارنة بالتربة غير المزروعة، مما يشير إلى أن زراعة الترب الملوثة بالنفط أدت الى تحسين محتواها من الفسفور المتاح، بالرغم من استهلاك النبات لجزء من الفسفور، و يعود السبب لنشاط الأحياء الدقيقة في منطقة المحيط الجذري للقمح، التي عملت على تحلل جزء من المواد العضوية، ذات الروابط الكربونية القصيرة السلسلة، وإتاحة العناصر المعدنية الموجودة فيها، وكان هناك فروق معنوية بين هاتين المعاملتين(المزروعة وغير المزروعة) وباقي المعاملات المعالجة، التي ازداد محتوى التربة من الفسفور المتاح فيها وربما يعود السبب لاضافة الملقحات وبالتالي زيادة النشاط الحيوي و اتاحة الفوسفات من المادة العضوية. وتفوق معنوياً في المعاملتين SOBNM و SOFNMعلى باقي معاملات المعالجة ولم يكن بيتهما وبين التربة السليمة فروق معنوية.

أدت إضافة النفط إلى التربة إلى انخفاض معنوي في محتواها من البوتاسيوم المتاح حيث بلغت في الترب المعاملة بالنفط وغير المعالجة المزروعة SO1وغير المزروعة SO (

327.7 ،322.0) على التوالي، مقارنة بمعاملة الشاهدS (358.7 مغ/كغ)، وتفوق ظاهري للتربة المزروعة على التربة غير المزروعة (لنشاط الأحياء المحيطة بالجذر وبالتالي تحلل جزء من المادة العضوية وإتاحة البوتاس) وهذا يتوافق مع Ekunday وزملاؤه (2000) و Osuji وزملاؤه(2007) و Akpoveta وزملاؤه(2011)، وأدت المعالجة الحيوية للتربة إلى تحسن محتوى التربة من البوتاسيوم المتاح حيث تفوقت معنوياً المعاملة SOFNM على كافة المعاملات وبفروق ظاهرية مع معاملة SOBNM ومعنوية مع المعاملاتSOFN و SOBN.

3. نتائج التعداد الحيوي: بينت النتائج في الجدول (14) زيادة معنوية في المعاملات المضاف لها الملقح الحيوي (فطري وبكتيري) عن معاملة التربة الملوثة بالنفط SO غير المزروعة و SO1 المزروعة التي ظهر فيها عدد قليل من الاحياء الدقيقة، ربما تكون هذه الأحياء الدقيقة المتبقية في هاتين المعاملتين متأقلمة مع ظروف التلوث النفطي، وقادرة على تفكيك المركبات الهيدروكربونية، الا ان أعدادها غير كافية للقيام بذلك، بالإضافة لعدم توفر الوسط الغذائي المناسب لنموها.

3-1-الفطريات:

انخفض التعداد الحيوي للفطريات معنوياً، في معاملة التربة الملوثة بالنفط لـ (0.80 ألف وحدة مكونة للمستعمرة في غرام واحد من التربة)مقارنة بمعاملة الشاهد الذي بلغ (2.5 الف وحدة مكونة للمستعمرة الفطرية في غرام واحد من التربة). ذلك لاحتواء النفط الخام على مركبات، ذات سمية عالية لكافة أشكال الكائنات الحية في التربة, ازداد التعداد الحيوي للتربة المزروعة مقارنة بالتربة غير المزروعة، أي أن زراعة الترب الملوثة بالنفط حسنت من محتواها من الفطور، كما ارتفعت أعداد الفطريات في كافة المعاملات المعالجة معنوياً مقارنة بمعاملة التربة

الملوثة فقط، وتفوقت معنوياً معاملة **SOFNM** في أعداد الفطريات في التربة على كافة معاملات المعالجة. تتوافق هذه النتائج مع ماذكره Adekunle و Adebambo (2007) حيث أن إضافة العناصر المغذية من المحفزات الحيوية والمحددة لعمليات التحلل الحيوى نظراً لأهمية هذه العناصر في تكوين الأنزيمات وبنائها والتي تستخدمها الفطريات في تكسير الهيدروكربونات، فالتلوث بالنفط ومشتقاته يضيف باستمرار الكربون إلى البيئة والذي تستهلكه الكائنات الحية الدقيقة كمصدر للطاقة، ولكن نمو هذه الكائنات يتطلب عناصر مغذية أخرى فضلاً عن الكربون، ولم يكن بينها وبين **SOFN** فروق معنوية (قد يكون لتفوق معاملة**SOFNM** على معاملة **SOFN** لاعتماد الفطريات على الكربون المتوفر في المادة العضوية الموجودة في مخلفات الأبقار)، في حين لم يكن بين معاملة الملقح الفطري وحده**SOF** و**SOBNM** فروق معنوية، ربما لتوفر كربون المادة العضوية في مخلفات الأبقار الذي سهل نمو الفطور وتكاثرها في هذه المعاملة، ولم يكن هناك فروق معنوية بين معاملات (**SOBN** و **SOMN** و**SOB** و**SO1** و**SO**)، حيث بلغت أعداد الفطور في المعاملات (1.55،1.91،0.90،0.87,0.80) ألف وحدة مكونة للمستعمرة /**1**غ في التربة على الترتيب، في حين كان محتوى التربة من الفطور في المعاملة نفط فقط أكثر انخفاضاً.

3-2-البكتيريا:

إن التعداد الحيوي للبكتيريا في معاملة التربة الملوثة بالنفط **SO** انخفض معنوياً مقارنة بكافة المعاملات المعالجة والشاهد، وهذا يتوافق مع نتائج Abramovitch و Capracotta (2003) و مطر (2009) **و** Chien (2012). وذلك لمحتوى النفط العالي من المركبات الهيدروكربونية

والعناصر الثقيلة وانخفاض معدل الأكسجين لأن النفط الخام يقلل من التبادل بين هواء التربة والمحيط الخارجي حيث يعمل على سد المسامات التربة مما يقلل من محتوها من الأكسجين أو بسبب استهلاك قسم كبير من الأكسجين في أكسدة النفط مما يقلل محتواه في التربة.

يلاحظ زيادة ظاهرية في التعداد الحيوي للتربة المزروعة على غير المزروعة وذلك لنشاط الاحياء الدقيقة في منطقة المحيط الجذري. يلاحظ أيضاَ أن أعداد البكتيريا في الترب المعالجة بالنفط عند إضافة الملقح البكتيري أكبر من أعدادها عند إضافة الملقح الفطري وهذا يتوافق مع ما توصل إليه **Agu** وزملاؤه**(2018)**.

الجدول (14) التعداد الحيوي للفطور والبكتيريا في التربة بعد المعالجة

المعاملات	فطور (ألف)	البكتيريا (مليون)
	وحدة مكوتة للستعمرة في 1 غ تربة	
S	2.50 abc	4.96 b
SO	0.80 d	0.03 e
SO1	0.87 d	0.23 e
SOB	0.90 d	4.31 b
SOF	2.88 ab	0.95 d
SOMN	1.91 cd	2.77 c
SOBN	1.55 cd	5.74 ab
SOFN	3.02 ab	2.98 c
SOBNM	2.43 bc	5.90 a
SOFNM	3.13 a	3.54 bc
LSD 0.05	0.6677	0.4786
cv%	18.3	8.4

إن اختلاف الأحرف في العمود الواحد يدل على وجود فروق معنوية على مستوى 1%.

كما يلاحظ تفوق المعاملتين **SOBN** و**SOBNM** على كافة المعاملات، حيث بلغ محتوى **1**غ من التربة في المعاملتين 5.90،5.74 مليون وحدة مكونة للمستعمرة البكتيرية على التوالي لأن الوسط أصبح مهيأ لنشاط هذه الاجناس البكتيرية وتكاثرها (لتوفر كميات من الأجناس البكتيرية المختبرة مسبقاً بالإضافة للمغذيات من الأزوت ومخلفات الابقار) ولفعالية هذه الاجناس في تفكيك المركبات الهيدروكربونية في النفط وبالتالي يقل آثره الملوث، يليها معاملة الشاهد التي ولم يكن بينها وبين معاملة **SOB** فروق معنوية حيث بلغ محتوى **1**غ من التربة في المعاملتين (4.96،4.31) مليون وحدة مكونة للمستعمرة البكتيرية وبالترتيب، ولم يكن هناك فروق معنوية بين معاملات(**SOFNM** و **SOMN** و **SOFN**) التي انخفض فيها التعداد الحيوي للبكتيريا مقارنة بالمعاملات المضاف لها بكتيريا.

4. نتائج تحاليل النبات:

1.4. نسبة الانبات%: يلاحظ من الجدول (15) انخفاض بنسبة الانبات في المعاملةSO1 الملوثة بالنفط فقط، وبفروق معنوية عن باقي المعاملات، وذلك ربما يعود لقلة الرطوبة، حيث يعمل النفط كطبقة عازلة بين الماء، ودقائق التربة مما يؤدي لعدم ترطيبها (شفيق، 2010). لوحظت فروقات معنوية بين معاملات المعالجة، وهذا يشير إلى قدرة الأحياء الدقيقة المضافة على التقليل من التلوث بتفكيكها للمركبات الهيدروكربونية وتسهيل انبات البذرة.

2.4. طول النبات(سم): يلاحظ انخفاض معنوي في ارتفاع النبات في المعاملة الملوثة بالنفطSO1 عن باقي المعاملات المعالجة وربما يعود السبب للتأثير السمي للمركبات الهيدروكربونية على حيوية الخلايا وانقسامها (Hwabaek وزملاؤه،2004 وLeyval وزملاؤه،2002) ويتوافق هذا مع شفيق، (2010) في حين تفوقت معنوياً المعاملة المعالجة

SOBNM على جميع المعاملات ويليها معنوياً SOFNM كما لم يكن هناك فروق معنوية بين معاملتي SOBN و SOFNاللتان تفوقتا عن الشاهدS أي أن اضافة الملقحات مع الآزوت أدت الى زيادة في طول النبات.

3.4. وزن 1000 حبة (غ): يلاحظ انخفاض معنوي لوزن ألف حبة في معاملة التربة الملوثة بالنفط SO1 مقارنة بمعاملة الشاهد S حيث بلغ وزن ألف حبة (13.7،78.9) غ على التوالي ادت اضافة الملقح البكتيري الى زيادة معنوية لوزن الف حبة في المعاملات المضاف اليها تليه معاملة الملقح الفطري، في حين لم تؤد اضافة مخلفات أبقارو الآزوت الى أية زيادة وقد إلى عدم قدرة الاحياء الدقيقة الموجودة في الروث على تفكيك المركبات الهيدروكربونية الموجودة بالنفط.

الجدول (15) تأثير معاملات المعالجة في الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح

العينة	نسبة الإنبات %	ارتفاع النبات سم	وزن 1000حبة غ	وزن القش كغ/ هـ	الإنتاجية كغ/هـ
S	100 a	64.67 bcd	78.9 d	9000 ab	3940 ab
SO1	40.00 c	6.67 f	13.70 e	2240 e	432 c
SOB	83.33 a	60.00 a	129.60 cd	4560 d	3360 b
SOF	86.67 a	62.33 ab	81.30 d	5280 cd	2952 b
SOMN	80.00 b	59.33 b	81.70 d	3840 de	2880 b
SOBN	96.87 a	66.33 a	189.30 b	6720 c	4080 ab
SOFN	96.67 a	66.00 a	135.6c	6960 c	4320 ab
SOBNM	96.67 a	67.67 a	288.6 a	9440 a	5760 a
SOFNM	96.67 a	69.67 a	209.80 b	9580 a	5768 a
Lsd 0.05	**18.96**	**5.61**	**52.52**	**1697.5**	**2369.3**
cv%	**13.10**	**8.30**	**22.80**	**13.60**	**17.20**

إن اختلاف الأحرف في العمود الواحد يدل على وجود فروق معنوية على مستوى **5%**.

4.4. وزن القش (كغ/هـ): يلاحظ وجود انخفاض معنوي في معاملة التربة الملوثة بالنفط SO1 مقارنة بمعاملة الشاهدS حيث بلغ وزن القش في كلتا المعاملتين (2240،9000) كغ/هـ على الترتيب، كما تفوقت كافة معاملات المعالجة معنوياً على معاملة التربة الملوثة وغير المعالجة SO1، وتفوقت معنوياً المعاملتين المعالجتين بالملقح البكتيري والفطري SOBNMوSOFNM على كافة المعاملات وتليها معاملة الشاهدS بدون تلوث للتربة ثم معاملتي SOFN ،SOBN ثم معاملة الملقح الفطريSOF والبكتيريSOB ثم معاملةSOMN.

5.4. الإنتاجية (كغ/هـ): يلاحظ تفوق معنوي للمعاملتين SOBNM وSOFNM على كافة المعاملات، ويعود السبب لوجود الملقحات الحيوية مع مخلفات الأبقار والآزوت، التي تعد من المحفزات الحيوية المنشطة لعمليات التحلل الحيوى، على انتاج الأنزيمات وبنائها والتي تستخدمها الكائنات الحية الدقيقة في تكسير الهيدروكربونات, من المعروف أن النفط يضيف المركبات الكربونية إلى البيئة والذي تستهلكه الكائنات الحية الدقيقة كمصدر للطاقة، ولكن نمو هذه الكائنات يتطلب عناصر مغذية أخرى إضافة إلى الكربون ومن أهمها الآزوت الذي تحتاجه الأحياء الدقيقة بمعدلات عالية مما يؤدي لنمو وزيادة أعداد الأحياء الدقيقة، ثم نشاط هذه الأحياء في تحليل المركبات الهيدروكربونية الموجودة في النفط والتقليل منها في التربة مما أتاح للنبات الحصول على متطلباته وزيادة الانتاج وهذا يتوافق مع (الحمادي، 2014)، لم يكن هناك فروق معنوية بين هاتين المعاملتين ومعاملة الشاهدS وهي تربة غير ملوثة كما لم يكن هناك فروق معنوية بين المعاملات (SOFN وSOBN وSOMN وSOF وSOB) بينما كانت هناك فروق معنوية بين كافة المعاملات ومعاملة نفط بدون معالجة SO1 أي أن انتاجية الترب الملوثة بالنفط كان منخفض بصورة واضحة، أي أن التربة استعادت خصوبتها وبالتالي أعطت الترب الملوثة بالنفط والمعالجة إنتاج يعادل الشاهد.

الفصل الخامس

الاستنتاجات:

1.عدم وجود أثار سلبية لتلوث التربة بالنقط بمعدل 25غ /كغ تربة وبدء الانخفاض الظاهري للتعداد الحيوي والفسفور والبوتاسيومالمتاحين والانتاج عند المعدل 50غ/كغ تربة في حين أصبح هذا الانخفاض معنوياً في المعدلين 75–100 غ/كغ تربة مما تسبب في انخفاض الإنتاجية لمحصول القمح بشكل كبير، وبشكل تدريجي حتى بلغت نسبة الفقد في الإنتاج (78%) في المعاملة نفط 100غ نفط /1كغ تربة.

2.تفوقت العزلات الفطرية (7–6–3) التابعة للأجناس Penicillium *sp*، *Aspergillius neger*، *Cladosprium sp* والعزلات البكتيرية (9–7–2) التابعة للأجناس (*Micrococcus sp sp* –*Bacillus* sp *Pseudomonas*) المعزولة على بقية العزلات المعزولة من الترب الملوثة بالنفط في قدرتها على النمو في وسط مغذي استخدم فيه النفط كمصدر للطاقة بدلاً من الكربون.

3.أدت المعالجة الحيوية بإضافة السلالات الفطرية والبكتيرية العزولة (كل على حده) المتأزرة مع بعضها على شكل ملقح بكتيري وملقح فطري إلى تحسين محتوى التربة من الآزوت الكلي والفسفور والبوتاسيومالمتاحين، كما زاد التعداد الحيوي مما انعكس على تحسن المواصفات الانتاجية للقمح المزروع.

التوصيات:

1. البدء بمعالجة الترب الملوثة بالنفط الخام عند وصول التلوث إلى 75-100غ نفط / 1كغ تربة باستخدام الأحياء الدقيقة المحللة للمركبات الهيدروكربونية.

2.اضافة المخلفات الحيوانية كالأبقار والأزوت لتسريع عمليات المعالجة، وأيضاً الأهتمام بتهوية التربة بتنفيذ عمليات الحراثات المتكررة والتمشيط للمواقع الملوثة لتنشيط عمليات الأكسدة الحيوية في التربة.

3.دراسة الآثر المتبقي من للتلوث النفطي في التربة مستقبلاً بدراسة محتوى التربة من المعادن الثقيلة والمركبات الهيدروكربونية المتبقية في التربة.

الباب الثاني

مـــــــــاء الجفت (المياه الناتجة عن عصر الزيتون)

الفصل الأول:

1- المقدمة Introduction.

2- المبررات Justifications.

3- الأهداف Objectives.

4- الدراسة المرجعية Literature Review .

الفصل الأول

المقدمة Introduction:

يعد ماء الجفت Olive Mill Waste Water (OMWW) الناتج عن عصر الزيتون من المشكلات البيئة ذات الأهمية، حيث يتم التخلص منه باضافته للترب الزراعية مباشرة دون أية معالجة مما يؤدي إلى تلوث التربة وتدهور خصائصها الفيزيائية والكيميائية والحيوية، وبشكل خاص عند إضافته بمعدلات كبيرة وبشكل غير مدروس علمياُ.

اختلفت وجهات النظر حول ماء الجفت، فقد نصح كثير من الباحثين بإضافته للتربة لكونه غني بالمواد العضوية، والعناصر المعدنية كالآزوت والفسفور والبوتاسيوم والمغنيزيوم الملائمة للزراعة (Fausto وزملاؤه (2004) ; Piotrowska وزملاؤه (2006) ; Cichelli و Cappellletti (2007) ; الابراهيم وزملاؤه(2007) ; الرحماني (2007) ; كسيري (2007) ; الشحادات (2010) ; Chaari وزملاؤه (2013)) ، كما اعتبر كل من Della وزملاؤه(2001) ; Assas وزملاؤه (2002) ; Fiorentiono وزملاؤه (2003) ; Isidoriوزملاؤه(2005) ; Mekki وزملاؤه(2007); Di Bene وزملاؤه (2013) أن ماء الجفت من الملوثات العضوية للترب الزراعية وذلك عند إضافته بمعدلات كبيرة وبشكل غير مدروس علمياً نتيجة لاحتوائه على بعض المركبات الكيميائية الحيوية السامة، كالمركبات الفينولية التي تسبب تحولات كبيرة في بنية ووظيفة المجتمعات الحيوية، التي بدورها تؤثر في خصوبة التربة، حيث تشكل هذه المركبات مصدر التلوث الرئيس عند صرف ماء الجفت بشكل عشوائي، وغير مدروس، في التربة والمسطحات المائية لأنها صعبة التفكك حيوياً وتسبب تثبط في نشاط الأحياء الدقيقة مما يعيق عملية المعالجة البيولوجية (حميد ومنصور،2012).

تكمن المشكلة الأساسية في طرح مثل هذه المواد بشكل اعتباطي، ودون معالجة، مما تسبب في تلويث مساحات واسعة من الأراضي الزراعية. كان من الأهمية معالجة هذه الترب من خلال التقليل من محتواها من المركبات الفينولية المتراكمة بكميات كبيرة والمؤدية لتعطيل النشاط الحيوي والتقليل من خصوبتها، ويتم ذلك بعزل أحياء دقيقة من الترب الملوثة بماء الجفت أكتسبت القدرة على تحليل المركبات الفينولية الموجودة فيها كمصدر للكربون العضوي، من خلال أكسدة هذه المادة وتفكيكها لمواد أخرى أقل خطورة على التربة وأحيائها.

المبررات Justifications:

إن الإضافات العشوائية لماء الجفت إلى الترب الزراعية وبكميات كبيرة، وغير مدروسة أحدثت تغيرات سلبية في خصائص التربة والمياه الجوفية، لذلك كان ضرورياً دراسة التأثير السلبي لاستخدام ماء الجفت، بنسب عالية، في بعض خصائص التربة الخصوبية والحيوية والإنتاجية لنبات القمح صنف شام 6، ومعالجة التلوث الحاصل في التربة بالبحث عن عزلات حيوية من بيئتنا المحلية ذات قدرة على تفكيك المركبات الفينولية في هذه الترب، بهدف معالجة هذه الترب وإمكان إعادة استخدامها، ولتقييم العزلات المحلية التي أثبتت كفائتها، برزت أهمية دراسة تأثير المعالجة الحيوية بهذه العزلات في بعض الخصائص الخصوبية والتعداد الحيوي للتربة ومحتواها من المركبات الفينولية مع وبدون المغذيات.

الأهداف Objectives:

1.دراسة تأثير اضافة معدلات مختلفة من ماء الجفت في بعض الخصائص الخصوبية والحيوية للتربة وتراكيز المركبات الفينولية في التربة وفي الخصائص الشكلية والإنتاجية لنبات القمح.

2.عزل بعض الأحياء الدقيقة من ماء الجفت والترب المشبعة بها والموجودة على أسطح أوعية حفظ الزيتون المنزلي القادرة على التأقلم مع المعدل العالية من المركبات الفينولية واختبار قدرتها على تفكيك هذه المركبات.

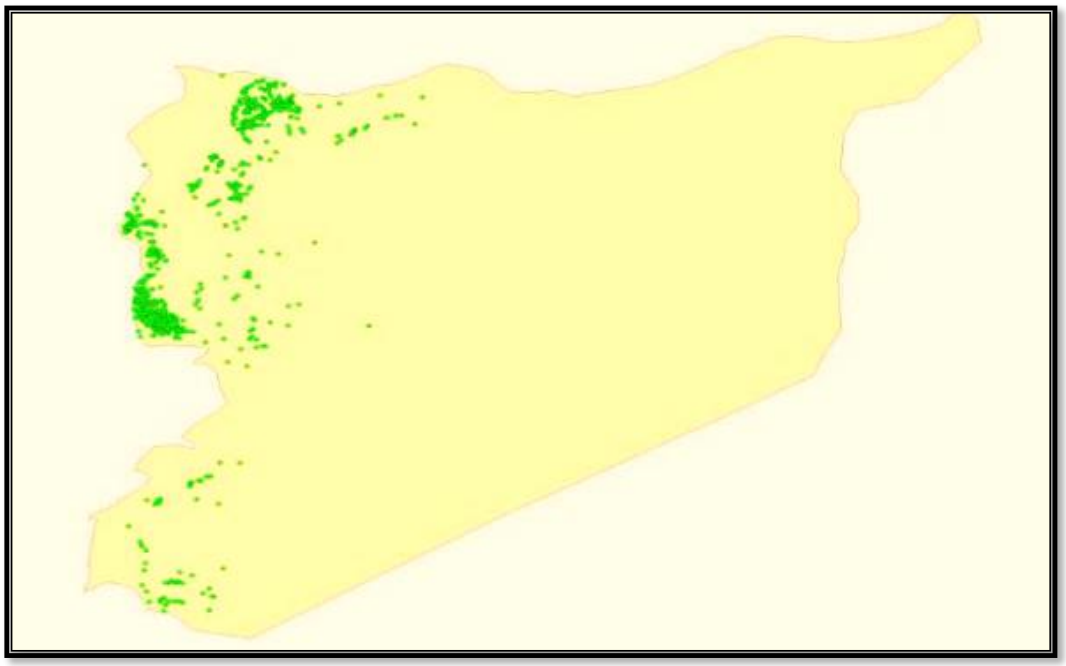
3.اختبار قدرة هذه العزلات مع وبدون المغذيات على التقليل من الأثار السلبية لاضافة ماء الجفت بدراسة تأثير هذه العزلات في الخصائص الخصوبية والحيوية ومحتوى التربة من المركبات الفينولية وانتاجية نبات القمح.

الدراسة المرجعية Literature Review:

يعود ظهور شجرة الزيتون (Olea europaea) لأكثر من 7000 سنه، وقد ارتبط تطورها بتاريخ بلدان البحر الأبيض المتوسط حيث لعبت منذ الأزمان الاولى دوراً هاماً في اقتصاد شعوب البحر الأبيض المتوسط، وقد أشارت الدراسات أن سورية هي الموطن الأصلي لهذه الشجرة ومنها انتشرت إلى بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط.

تزايد استهلاك زيت الزيتون بسرعة كبيرة في جميع أنحاء العالم وبالتالي توسع قطاع زراعة أشجار الزيتون توسعاً سريعاً جداً في العقود القليلة الماضية، أي أن هناك ما يقارب 750مليون شجرة زيتون مثمرة في جميع أنحاء العالم، وتقع 98 % منها في منطقة البحر الأبيض المتوسط، حيث ينتج منها أكثر من 97 %من زيت الزيتون (Hytiris وزملاؤه، 2004)، ووبين D'Annibale وزملاؤه (2004) أن الإنتاج السنوي لهذه البلدان بلغ 30 مليون م^{3}من المخلفات الصلبة والسائلة الناتجة عن عصر الزيتون ويختلف نوع ونسب مكوناتها وفق عوامل مختلفة مثل طبيعة عمليات المعالجة، ونوع الزيتون، والمنطقة بحسب عمليات الفلاحة والزراعة، وزمن الحصاد ومرحلة النضج .....الخ (Anon,2000).

تعد شجرة الزيتون مورداً متجددا وخيارا زراعيا استراتيجيا لجزء كبير من الأراضي للمناطق الجافة وشبه الجافة في سورية (كبيبو وزملاؤه،2011)، وتحتل سورية اليوم المركز الثاني من حيث الإنتاج على مستوى الوطن العربي بعد تونس، والمركز الخامس في إنتاج زيت الزيتون بعد كل من إسبانيا، إيطاليا، اليونان، وتونس (كبيبو وزملاؤه،2011). تزايد انتشار المساحات المزروعة بأشجار الزيتون في سورية وازداد الإنتاج الكلي من الزيتون حيث بلغ في عام 2017 حسب إحصائيات مكتب الإحصاء والتوثيق بدمشق مايقارب 400 ألف طن من الثمار يذهب 80-85% منها إلى صناعة عصر الزيتون ينتج عن هذه الصناعة ما يقارب 300 ألف $م^3$ من ماء الجفت. وبالتالي يوجد في سورية 1050معصرة تختلف أنواعها تبعاً لتقنية استخراج الزيت منها حسب عباس(2018).



شكل (11) توزع معاصر الزيتون (النقط الخضراء تمثل المعاصر)في سورية حسب (عباس ،2018)

ينتج عن عصر الزيتون (20%) زيت زيتون واثنين من النفايات هما النفايات الصلبة الرطبة أي تفل الزيتون (30٪) والنفايات المائية أو ماء الجفت (50٪) (Balice, 1982). تشمل أنظمة استخراج زيت الزيتون ثلاثة مراحل بإضافة معدل كبيرة من الماء (تصل إلى 50 لتر / 100 كيلو عجينة الزيتون), وتتراوح المعدل الناتجة عن عصر (1) طن من ثمار الزيتون ما بين (640–1100) ليتر من هذه المياه، مما يؤدي إلى إنتاج كميات هائلة منه تصل لأكثر من 30 مليون $م^3$ سنوياً، حيث تبرز مشكلة التخلص من هذه المخلفات الضخمة وخاصة في البلدان المنتجة الرئيسة لزيت الزيتون, ويظهر الجدول (16) مكونات ماء الجفت بحسب(CFC/ IOOC, 2007) مشروع مشترك بين Commom Fund For Commodities و International Olive Oil Council .

الجدول (16) مكونات ماء الجفت وفقاً لطريقة الاستخلاص

المواد	طريقة استخلاص الزيت	
	الطرد المركزي	الضغط
المركبات الفينولية الكلية غ/ل	7.1 – 0.4	14.3 -1.4
الفسفور مغ/ل	495-42	915-157
البوتاسيوم مغ/ل	2500-630	5000-1500
كلسيوم مغ/ل	200-47	408-58
Ph	5.9-4.5	5.7-4.7
مادة جافة غ/ل	161-10	266-15

يعتبر ماء الجفت حامضياً حيث تتراوح قيمةpH بين 3–5.9، إضافة إلى احتوائه على نسبة عالية من الملوثات الصلبة والعضوية حيث تبلغ قيمة الحاجة إلى الاكسجين المنحل الكيميائي فيها Chemical Oxygen Demand(COD) ما بين 40 و210 مغ /ل في حين بلغت قيمة الطلب على الأكسجين الحيوي Biochemical Oxygen Demand (BOD) بين

10 و 150 مغ/ل (Feria ,2000) (كلما كبرت القيمة دلت على تلوث أكبر للمياه). يعود اللون الداكن لماء الجفت لاحتوائه على نسبة عالية من المركبات المتعددة المركبات الفينولية (الأصبغة الفينولية) (ناصر وزملاؤه، 2009). إضافة لكونه صعب التحلل حيث تتراوح نسبة COD/BOD بين 2.5–5 مما يسبب أضرا كبيرة على الكتلة الحيوية في التربة (Makki وزملاؤه، 2007 و kallel وزملاؤه 2009) .

بين النائب(2011) أن سبب الاختلاف الذي يلاحظ عند مقارنة نتائج تحليل عدة عينات من ماء الجفت جرى الحصول عليها من معاصر مختلفة، يعود إلى الاختلاف في تطبيق الشروط النظامية لعملية عصر ثمار الزيتون، حيث تضاف خطأً كميات من المياه العادية، ذات الحرارة العالية إلى عجينة الزيتون أثناء مرحلة العجن، بهدف الحصول على أكبر معدل من زيت الزيتون، وكذلك ضخ كميات زائدة من المياه العادية أثناء مرحلة الفصل. يؤدي هذا طبعاً إلى تمديد ماء الجفت وانخفاض معدل المواد المنحلة فيه، بالإضافة إلى أن هذه الإضافة من المياه تساعد في فصل المواد الفينولية من الزيت (وهي موانع أكسدة طبيعية مفيدة للتغذية وتساعد على حفظ زيت الزيتون لمدة أطول) وانتقالها إلى ماء الجفت، وهنا تصبح المشكلة أكبر في التخلص منه.

يذكر أنه منذ أكثر من 50 عاماً، أجريت العديد من الدراسات على ماء الجفت، أكدت في معظمها أنه مخصب عضوي عند اضافته بشكل مدروس وبكميات قليلة ومن أهم هذه الدراسات:

أكدت الدراسة التي أجراهاFeria (2000) الآثر الإيجابي لاضافة ماء الجفت على خصوبة التربة ونمو المحاصيل حيث أنه يغني التربة بالمركبات العضوية واللاعضوية.

وبين Rinaldi وزملاؤه (2003) أهمية اضافة ماء الجفت للأراضي الزراعية حيث يعتبر ماء الجفت من المخلفات الغنية بالمواد العضوية والعناصر المعدنية كالآزوت والفسفور والبوتاسيوم والمغنيسيوم الملائمة للزراعة.

أوضح Feria (2000) و Rinaldi ووزملاؤه (2003) أن إضافة ماء الجفت للتربة لم تؤد إلى تراكم المعادن الثقيلة، لذلك أعتبر أن خطر التلوث البيئي لها كان منخفضاً، كما بين كل من Fausto(2004)، Cichelli و Cappellletti (2007) ، الرحماني (2007)، كسيري (2007)، أن إضافة ماء الجفت إلى لمحاصيل التي قاموا بدراستها كان لها أثراً ايجابياً على خصائص التربة الفيزيائية والكيميائية وخاصة محتوى التربة من العناصر الكبرى القابلة للامتصاص، وازدادت أيضاً أعداد الكائنات الحية الدقيقة، على عكس التوقعات عند إضافة ماء الجفت الذي لا يشكل وسطاً ملائماً لنموها.

قام الابراهيم وزملاؤه(2008) بدراسة تأثير استخدام ماء الجفت في خصائص وإنتاجية الترب المزروعة بالقمح ومعدلات الإضافة كانت 50-100-200 م^3/هكتار أدت الإضافات لزيادة الإنتاجية بنسبة تراوحت بين 11%-22% تبعاً لمعدل ماء الجفت المضافة وبعد حساب مجموع التكاليف والعوائد المادية تبين أن استخدام مياه الجفت في ري الترب المزروعة بالقمح كان ذا جدوى اقتصادية.

نفدت Piotrowska وزملاؤها (2006) دراسة بمعاملة ترب من منطقة البحر المتوسط شبه القاحلة (القارية) في المغرب العربي بنسب من ماء الجفت 0-40-80 م^3/هكتار، وتبين حصول زيادة مفاجئة في محتوى الكربون العضوي والفسفور المتاح والمحتوى من المنغنيز والحديد، وحصول زيادة سريعة في نشاط أنزيمات التنفس والديهيدروجيناز وأنزيم اليوريناز والكتلة الحيوية الميكروبية.

أعتبر كبيبو وزملاؤه (2011) أن ماء الجفت من المواد المخصبة للتربة إذا أضيف منفرداً أو مقروناً بالسماد المعدني.

أظهرت نتائج بدران(2011) زيادة في أعداد الفطريات والبكتيريا بشكل ملحوظ عند إضافة ماء الجفت مع فروق معنوية وزيادة متوقعة لجميع المعاملات مقارنة بمعاملة الشاهد ومعاملة التسميد المعدني منفردة، كما أدت إضافة ماء الجفت إلى زيادة محتوى التربة من المادة العضوية والسعة التبادلية الكاتيونية.

وجد النائب (2011) أن إضافة ماء الجفت إلى التربة بالمعدلات 10-20ل/م^2 أدى إلى زيادة محتوى التربة من المادة العضوية ومعدل الآزوت المعدني والفسفور والبوتاسيوم المتاحين، ولوحظت زيادة نسبية في العناصر الصغرى وانخفاض طفيف في رقم pH التربة، وارتفاع طفيف في درجة ملوحتها، ولم تحدث زيادة في معدل العناصر الثقيلة كما يلاحظ انخفاض الكثافة الميكروبية بعد الإضافة مباشرة، وعادت لتستعيد نشاطها بعد شهر من الإضافة وتحسن بناء التربة مع تكوين تجمعات ترابية أكثر ثباتاً.

بينت أبحاث Mekki وزملاؤه (2013) زيادة في مؤشر إنبات البذور التي تمت معالجتها بمياه الجفت المعالجة، كما أظهرت النباتات المروية تحسناً في الكتلة الحيوية.

بينت دراسة Chaari وزملاؤه (2014) على ماء الجفت لمعرفة تأثيره في خصائص التربة ونمو النباتات فيها عند استعمال المعدل التالية: 50-100-200 م^3/هكتار/سنة، لاحظ زيادة مقدرة التربة على الاحتفاظ بالمياه، وزيادة نسبة الملوحة ومحتوى الكربون العضوي والدبال، وزيادة محتوى التربة من الآزوت الكلي والفسفور والبوتاسيوم والصوديوم، في حين لم تلاحظ اختلافات معنوية في محتوى التربة من عنصري الكلسيوم والمغنيزيوم قبل المعاملة وبعدها.

وجد العيسى وعباس (2016) زيادة معنوية في أعداد البكتيريا غير ذاتية التغذية والفطريات والأحياء الدقيقة المحللة للسيللوز في الترب المعاملة بماء الجفت عند إضافتها بمعدل(10و15) ل/م^2، وحصول ارتفاع في محتوى التربة من المادة العضوية والفسفور والبوتاسيوم القابلين للإفادة وحصول زيادة في الناقلية الكهربائية لمستخلص التربة، بينما لم تتأثر قيم pH التربة عند إضافة مستويات مختلفة من ماء الجفت.

نفذت هيفا وزملاؤها (2016) تجربة استخدمت فيها ست معاملات من ماء الجفت (-40-50 10-20-30) ل/م^2، حيث بينت النتائج انخفاض درجة الـpH لتربة المعاملات مقارنة بمعاملة الشاهد، وأيضاً ارتفاع قيمة الناقلية الكهربائية، المادة العضوية للمعاملات وخاصة المعاملة المضاف لها (50) ل/م^2.

أكد Ordóñez-Fernández وزملاؤه (2018) أهمية ماء الجفت كمخصب حيوي لا يقل أهمية عن الكومبوست والسماد الأخضر.

بناءاً على ذلك، زاد الاهتمام بنشر ماء الجفت على الأراضي الزراعية لإعادة تدوير المواد العضوية وتسميد التربة، ولكن استعماله بكميات كبيرة وغير مدروسة يمكن أن يؤدي لتلوث بيئي مع آثار غير متوقعة على نظام التربة والنباتات في المناطق المنتجة للزيتون، هذا ما أكدته دراسات أخرى لماء الجفت منها:

أشارت أبحاث Moreno وزملاؤه (1988) إلى أن المركبات الفينولية الموجودة بماء الجفت يؤثر بشكل كبير في البكتيريا بشكل أكبر من تأثيرها على الفطريات.

لاحظ Garcia-Ortiz وزملاؤه (997) تأخر إنبات بذور القمح عند إضافة ماء الجفت قبل الزراعة مباشرة، لذلك فقد ذكر أنه يجب ترك فترة زمنية بعد إضافة ماء الجفت (حوالي 45) يوماً قبل زراعة البذور ويجب ألا تتجاوز الإضافة 100 م^3/هكتار، من جهة أخرى بينت

الدراسات التي أجراها Paixao وزملاؤه (1999) الأثر السلبي لإضافة ماء الجفت على خصائص التربة حيث أنه يُقلل من الآزوت المتاح ويحد من قدرته على الحركة، كما يزيد من ملوحة التربة، ويغيير في تكوين المجتمعات الميكروبية فيها، يزيد أعداد البكتيريا الوتدية الشكل ويقلل من أعداد البكتيريا العصوية.

وجد بعض الباحثين Della وزملاؤه (2001)، Sierra وزملاؤه (2001)، Assas وزملاؤه (2002)، Fiorentiono وزملاؤه (2003) أن الإضافة غير المدروسة لماء الجفت والتي تؤدي إلى زيادة في معدل المركبات الفينولية في التربة التي تسبب تحولات كبيرة في بنية ووظيفة المجتمعات الحيوية التي بدورها تؤثر على خصوبة التربة وذلك من خلال التأثير السمي لهذه المركبات على الكائنات الدقيقة والنباتات في التربة.

بين Isidori وزملاؤه (2005)، Paredes وزملاؤه (2005) أن سبب التأثير السمي لماء الجفت يعود لوجود نسبة عالية من الاملاح فيه، بالإضافة إلى احتوائه على المركبات الفينولية وكذلك الأحماض الدهنية قصيرة وطويلة السلسلة التي تقضي على الأحياء الدقيقة الموجودة فيه.

لاحظ Mekki وزملاؤه (2007) انخفاضاً في عدد الفطريات وعدد بكتريا النترجة عند إضافة ماء الجفت بنسب عالية أما الفطريات الشعاعية (الأكتينومايست) والبكتيريا المكونة للأبواغ فكانت غير حساسة لهذه الإضافة.

ذكرت طوشان وزملاؤها (2010) أن إضافة ماء الجفت إلى التربة بمعدل 50% من السعة الحقلية هو الحد الأعلى لنشاط الكائنات الفطرية والبكتيرية، في حين أثرت إضافة المعدلين 70%و100% لماء الجفت سلباً في تعداد ونشاط كل من البكتيريا والفطريات في التربة بالمقارنة مع المعاملة 50%.

بين Alfarawati وزملاؤه (2013) أن ماء الجفت يُثبط نشاط البكتيريا وإنبات البذور، وتؤدي إضافته بشكل عشوائي إلى مشاكل بيئية نظراً لاحتوائه على المركبات الفينولية.

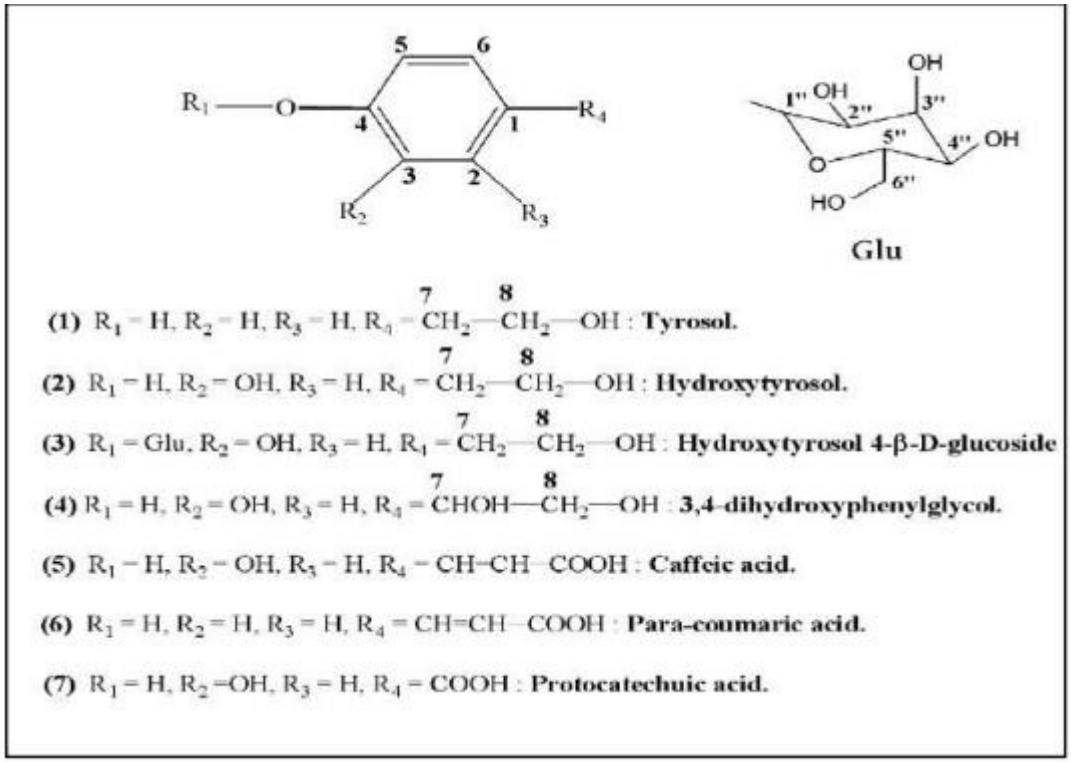
يتضح مما سبق أن الآثر الملوث لماء الجفت يظهر عند وصول معدل المركبات الفينولية لحد معين يتسبب في حدوث خلل في النظام الحيوي للتربة ويفقد ماء الجفت صفته الخصوبية ومن المفيد في هذا السياق التذكير بتعريف المركبات الفينولية:

تعرف المركبات الفينولية بأنها مركبات كيميائية عضوية تتألف بنيوياً من ارتباط مجموعة هيدروكسيل وظيفية بشكل مباشر مع هيدروكربون عطري و ينسب اسم المركبات الفينولية إلى أبسط هذه المركبات وهو الفينول C_6H_5OH ويمكن أن تكون المركبات الفينولية بسيطة، ويمكن أن تكون متعددة حسب عدد وحدات الفينول في الجزيء (Amorati, 2012).

تتكون المركبات الفينولية من ثماني أحماض فينولية هي: Caffeic acid, Protocatechuic) acid, Feruulic acid, Vanilic acid, Cinnamic acid, Syringic acid, Syring aldehyde, Gallic acid) (كبيبو وزملاؤه,2011)

صنفت المركبات الفينولية كمادة كيميائية عالية الخطورة بسبب تأثيرها المسرطن للأحياء التي تعيش في البيئة الملوثة بها (Hooived وزملاؤه،1998)، ووضعت ضمن قائمة الملوثات ذات الأولوية من قبل وكالة حماية البيئة الأمريكية (EPA،2016) ، ونظراً إلى الآثار الصحية السلبية للفينول فقد حددت منظمة الصحة العالمية الحد الأعلى المسموح به لمعدل الفينول في مياه الشرب1مكروغرام /ل (Yan وزملاؤه، 2006).

تبلغ نسبة هذه المركبات في ماء الجفت 18% وهي نسبة عالية جداً إذا ماتم طرح هذه المياه في البيئة أو استعمالها في سقاية المزروعات (تكريتي ,2009). يوضح الشكل (12) بعض المركبات الفينولية المعزولة من ماء الجفت.



شكل (12) بنية بعض المركبات الفينولية المعزولة من ماء الجفت (Ayadi،2002)

بين الشحادات (2010) أن الفينولات عبارة عن مواد طبيعية يمكن تفكيكها في الوسط البيئي لتصبح مفيدة للنبات إذا توفرت العوامل المساعدة كالبيئة المناسبة والأحياء الدقيقة.

معالجة ماء الجفت: حثت معظم الدراسات على العمل على إيجاد حلول لمعالجة ماء الجفت قبل اضافته للتربة وبطرائق مختلفة تتلخص بما يلي:

المعالجة الميكانيكية treatment Mechanical: تشمل الترسيب والفلترة، عمليات الفصل الميكانيكية، وغيرها من المعاجلات الفيزيائية.

المعالجة الفيزيا–كيميائية treatment Chemical–Physical: تتضمن الترسيب والتعويم وعمليات الأكسدة والإرجاع، إضافة إلى الأمتزاز والحرق والفصل الغشائي.

المعالجة البيولوجية treatment Biological: تتضمن المعالجة الهوائية واللاهوائية، والمعالجة بالحمأة المنشطة والاضافة على الأراضي.

أشارت دراسة Martin وزملاؤه(1993) إلى امكانية استخدام التقطير الشمسي للتخلص من 90% من المركبات الفينولية الموجودة.

قام Amirante وPipitone (2002) بتعريض ماء الجفت للإشعاع الكوني المحفز بالوسائط المعدنية مما أدى إلى امكانية التخلص من معظم المركبات الفينولية الموجودة فيه وتخفيض رقم COD بنسبة 85% من قيمته الأصلية.

جربSabbah وزملاؤه (2004) الترسيب المشترك للمركبات الفينولية مع الحجر الكلسي ونتج عن ذلك انخفاض في مقدار COD حيث وصل الى 60% من قيمته

الأصلية مع بقاء معدل لا بأس بها من الفينول الراسب)، في حين أستطاع تكريتي (2009) تحطيم المركبات الفينولية باستخدام معدل عالية من أشعة غاما إلى مركبات عضوية حامضية وكحولية أحادية وانخفض بذلك رقمي BOD وCOD.

تمكن حميد ومنصور (2012) من معالجة الأضرار البيئية لماء الجفت باستخدام تقنية التهوية لتحطيم المركبات الفينولية في البيئة المائية حيث أدت التهوية إلى تحطيم المركبات الفينولية الكلية إلى 77.76% خلال 15 يوماً.

تعد المعالجة الحيوية باستخدام الكائنات الحية الدقيقة من الطرائق الأقل تكلفة لمعالجة هذه النفايات السائلة (Rinaldi وزملاؤه ,2003 ; Casa وزملاؤه,2003) والملوثات العضوية. بين Hamdi (1991) إمكانية المعالجة الحيوية باستخدام الكائنات الحية الدقيقة المختلفة كالفطريات مثل *Aspergillus* ذهبية الأبواغ.

عزل Borja وزملاؤه (1993) الأحياء الدقيقة الهوائية واللاهوائية الموجودة في ماء الجفت *Aspergillus terreus, Bacillus pumilus and،Pleurotus* وتبين لهم قدرتها على إزالة المركبات الفينولية منه.

أثبتت الدراساتPiperidou وزملاؤه (2000) إمكانية استخدام بعض الأنواع من البكتيريا *Azotobacter* لتحويل ماء الجفت إلى مخصب عضوي سائل، كما أسهمت هذه البكتيريا في التخلص من بعض المركبات السامة فيه.

بينPepi وزملاؤه (2009) أن معاملة التربة بمخلفات عصر الزيتون تسببت بأزدياد في محتوى التربة من بكتيريا *Azotobacter* نظراً لمحتوى ماء الجفت المنخفض من المركبات العضوية الآزوتية وغناه بالكربون مما ساعد في امكانية نمو هذه البكتيريا على حساب المواد الغذائية الموجودة فيه.

عزل كبيبو وزملاؤه (2011) سلالات من الأحياء الدقيقة المحلية القادرة على تفكيك المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت والترب المشبعة بماء الجفت واختبرت قدرة هذه الأحياء على تفكيك المركبات الفينولية من خلال زرعها في أوساط زرعية تحتوي حمضي الكافيك والبروتوكاتيويك كل بمفرده وأظهرت النتائج امكانية الأحياء الدقيقة المعزولة تخفيض المركبات الفينولية بعد خمسة أيام من الحضن بنسبة تتراوح بين 60–93%.

عزل موسى وزملاؤه 2015 فطريات من ماء الجفت وقام بتوصيفها كانت العزلات تنتمي إلى*Aspergillus sclerotiorum, Mucor nircinelloides, Paecilomyces niveus* وكانت الأكثر قدرة على احتمال تراكيز عالية من ماء الجفت الطازج.

عزل محمد والعبدو (2019) أربع سلالات بكتيرية من عينات ماء الجفت وتربة مأخوذة من ثلاثة معاصر درست قدرة هذه العزلات منفردة ومجتمعة على تفكيك الفينول أظهرت سلالتا *Pseudomonas sp* .و *Micrococcus sp* مقدرة كبيرة على تفكيك الفينول. كانت مزرعة *Acinetobacter sp* أقل في تفكيك الفينول على نحو واضح من السلالتين السابقتين، وكانت مقدرة سلالة *Moraxella. sp* الأضعف في مقدرتها على تفكيك الفينول

من بين السلالات المدروسة الجرثومية المختلطة (المتكونة من السلالات الجرثومية الأربع المدروسة) مقدرة كبيرة على تفكيك الفينول.

الفصل الثاني:

تأثير نسب مختلفة من ماء الجفت في بعض الخصائص الخصوبية والمركبات الفينولية والتعداد الحيوي لتربة مزروعة بالقمح

المبرراتJustifications :

إن صعوبة معالجة ماء الجفت وتوفرها بنسب كبيرة دفعت أصحاب معاصر الزيتون إلى صرف هذه المياه بشكل عشوائي، الأمر الذي أثر سلباً في خصائص التربة والمياه السطحية والمياه الجوفية، من هنا كان التفكير في أهمية دراسة التأثير السلبي لاستخدام ماء الجفت بنسب مئوية مختلفة في بعض خصائص التربة الخصوبية والحيوية، وفي إنتاجية نبات القمح والوصول إلى المعدل الأمثل من ماء الجفت المضاف.

الأهداف Objectives:

1. تأثير اضافة ماء الجفت بمعدلات مختلفة في بعض الخصائص الخصوبية والتعداد الحيوي للأحياء الدقيقة في التربة.
2. تأثير اضافة ماء الجفت بمعدلات مختلفة في معدل المركبات الفينولية في التربة.
3. تأثير ماء الجفت بمعدلات مختلفة في الخصائص الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح.
4. تحديد المقدارالملوث من ماء الجفت الذي يسبب سمية للنبات والأحياء الدقيقة في التربة.

المواد والطرائق:

1.التربة: أخذت عينات التربة من مزرعة (أبي جرش) كلية الزراعة–جامعة دمشق حتى عمق 50 سم من سطح التربة، وجففت التربة ونخلت بمنخل ذو أقطار 2 مم وإضيف 5 كغ من التربة لكل أصيص وأخذت عينة إضافية متجانسة من التربة لتوصيفها.

2.ماء الجفت: أُحضر ماء الجفت من معصرة حديثة آلية للزيتون من قرية نجها بريف دمشق وتم اجراء مجموعة من التحاليل ويوضح في الجدول (17) أهم النتائج.

جدول (17) بعض صفات ماء الجفت المستعمل في التجربة

pH $_{10:1}$	EC ديسيميز/م	الآزوت الكلي	الفسفور المتاح	البوتاسيوم المتاح	المركبات الفينولية	الكربون العضوي وزن رطب
		مغ/ل			غ/ل	
5	8.1	550	367	8601	7.9	17.6

بينت نتائج التحليل بأن درجة pH ماء الجفت حامضية وتساوي 5 والناقلية الكهربائية عالية وتساوي 8.1 ديسيميز/م، ومحتواه من الكربون العضوي 17.6غ/ل، ومحتوى عالي من العناصر الخصوبية (K ,P, N) 550 -36.7-8601 غ/ل على التوالي، ومعدل المركبات الفينولية فيه 7.9غ/ل.

توصيف التربة: وردت نتائج توصيف التربة في الباب الأول الفصل الثاني.

خطوات العمل: أضيف ماء الجفت بنسب مختلفة حسب المعاملات المختارة، وتم خلطه بالتربة بشكل جيد ضمن الأصص ولمرة واحدة قبل الزراعة، علماً بأن معدل الإضافة المنخفض تم تحديده اعتماداً على الدراسات السابقة لكل من Dakhli وزملاؤه (2009) والعيسى وعباس (2016) التي أشارت إلى استخدام 100م^2/هـ. وتمت مضاعفة الكميات للوصول لتلوث التربة. وزرعت بذور القمح بمعدل 200 كغ / هـ أي بمعدل 10 بذرات للأصيص الواحد، كما تم متابعة الخدمات اللازمة للمحصول، ثم أضيفت الأسمدة المعدنية NPK حسب ايكبا مشروع الأمن الغذائي في البلدان العربية (2009) بنسبة 138كغ N/هـ على شكل نترات الأمونيوم 33.5 % و 69 كغ/هـ P_2O_5 على شكل سوبر فوسفات 46%و 90كغ/هـ K_2O على شكل سلفات البوتاسيوم 50%. وقدم الاحتياج المائي للمحصول بري الأصص بـ 80%

من السعة الحقلية للتربة والمحافظة عليها بوزن الأصص واضافة الماء المفقود كل 4 أيام. وكانت الزراعة بتاريخ /2017/1/6.

تصميم التجربة: صممت التجربة باعتماد خمس معاملات وأربع مكررات لكل معاملة وكانت المعاملات كالتالي:

1.شاهد.

2.ماء الجفت مستوى أول من 100م^3/ هـ.

3.ماء الجفت مستوى ثاني200 م^3/ هـ .

4.ماء الجفت مستوى ثالث 300 م^3/ هـ.

5.ماء الجفت مستوى رابع 400 م^3/ هـ.

نفذت التحاليل الاحصائية على كافة المعاملات باعتبارها تجربة عشوائية بسيطة وحللت ببرنامج التحليل الاحصائي Genstat 12th Edition كما ذكر سابقاً على مستوى معنوية 0.05.

تم الحصاد اليدوي في موقع التجربة بتاريخ 2017/6/1 حيث قطفت السنابل بعد عدها ووضع كل معاملة في كيس على حدا بعد حساب طول النباتات ووزنها الرطب وتم الاحتفاظ بالأكياس مع عينة التربة المركبة لكل معاملة لإجراء التحاليل والقراءات اللازمة.

طرائق التحليل: اعتمدت طرائق التحليل الورادة في الباب الأول من الفصل الثاني من أجل تحليل التربة وتقدير التعداد الحيوي في التربة والمواصفات الشكلية (المورفولوجية) لنبات القمح.

تقدير محتوى التربة من المركبات الفينولية كما يلي:

التربة: أُخذ 1غرام من التربة، استخلصت بـ 15 مل من الإيتانول 70%، وكرر الاستخلاص للعينة الواحدة ثلاث مرات، ثم ضعت في جهاز الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic مدة 30

دقيقة، ثم جمعت المكررات الثلاثة مع بعضها وأتمم الحجم النهائي إلى 100 مل. (أي مستخلص3 غرامات من التربة في 100 مل) حسب Singleton وزملاؤه (1999) وتم تقدير المركبات الفينولية الكلية بطريقة الفولين باستخدام كاشف الفولين – سيوكالتيو حيث تُرجع المركبات الفينولية حمض فسفوموليبدات التنغستين في وسط قلوي فينتج عنه محلول أزرق اللون يقاس امتصاصه عند طول موجة 760 نانومتر ، نظراً لحدوث سلسلة من تفاعلات الارجاع بانتقال إلكترون أو اثنين من المركبات الفينولية تؤدي إلى تشكيل معقدات زرقاء اللون تضم الشحنة السالبة (Singleton 1999) ثم قرئت العينات على جهاز المطياف الضوئي باستخدام سلسلة من المحاليل المعيارية.

ماء الجفت: استخلصت المركبات الفينولية من ماء الجفت بالايتانول (أخذ 10 مل من ماء الجفت وأضيف له 15 مل من ايتانول 70%) ثم وضعت بجهاز الأمواج فوق الصوتية (Ultrasonic) مدة 30 دقيقة، وأتمم الحجم النهائي إلى 100 مل)، ثم معايرتها بطريقة الفولين باستخدام كاشف الفولين –سيوكالتيو.

النتائج والمناقشة:

1.نتائج تحليل بعض خصائص التربة:

يظهر الجدول(18) عدم وجود فروق معنوية في قيم (pH) التربة بين الشاهد وكافة المعاملات مما يشير إلى عدم تأثر (pH)التربة بإضافة مستويات عالية من ماء الجفت وهذا يتوافق مع Dakhli (2009)، بدران (2011) والعيسى وعباس (2015) ويعزى ذلك إلى القدرة التنظيمية العالية للتربة. يلاحظ أيضاً أن إضافة مستويات مختلفة من ماء الجفت أدت إلى زيادة في الناقلية الكهربائية في الترب المعاملة بماء الجفت، بفروق معنوية واضحة بين المعاملات من جهة، وبين المعاملات والشاهد من جهة أخرى. لوحظ زيادة معنوية بلغت 0.4 دسيميز/م في

المعاملة الرابعة وهذا يتوافق مع kokkora وزملاؤه (2015) وبرر ذلك بارتفاع الأملاح في ماء الجفت، كما يلاحظ زيادة المادة العضوية في كافة المعاملات المضاف لها ماء الجفت، وبشكل تدريجي، مقارنة بمعاملة الشاهد، وذلك بسبب ارتفاع محتوى ماء الجفت من المادة العضوية وهذا يتوافق مع ما توصل إليه بدران (2011).

الجدول (18) تأثير مستويات ماء الجفت في بعض الصفات الخصوبية للتربة بعد حصاد القمح

المعاملة م^3/هـ	عجينة مشبعة		مادة عضوية	الآزوت الكلي	الآزوت المعدني	P_2O_5 المتاح	K_2Oالمتاح
	pH	EC_e دسيمسيز/م	%		مع/كغ		
شاهد	8.09 a	0.15 d	0.99 b	0.02 d	39.82cd	14.29 b	442.80 d
جفت **100**	8.05 a	0.24 c	1.87 a	0.09 a	66.12 a	21.57 a	851.3 a
جفت **200**	7.93 a	0.26 bc	1.90a	0.06 b	50.20 b	20.27 a	767.1 b
جفت **300**	7.89 a	0.32 b	2.37 a	0.05 bc	41.28 c	13.23 b	514.8 c
جفت **400**	7.66 a	0.40 a	2.37 a	0.04 c	32.79 d	11.21 c	329.3 e
LSD $_{0.05}$	0.4503	0.02453	0.4005	0.03009	5.490	1.710	20.19
%cv	2.7	s6.0	14	10.1	7.9	7	9.3

اختلاف الأحرف يدل على وجود فروق معنوية على مستوى 5%.

بينت النتائج زيادة معنوية في محتوى التربة من الآزوت الكلي مع زيادة معدل ماء الجفت حتى المعدل 200 م^3/هـ، بينما انخفض الآزوت الكلي في المعدل الأعلى 300–400م^3/هـ لـ 0.052–0.04 وبفروق معنوية عن باقي المعاملات، وربما يعود ذلك لقلة أعداد الأحياء الدقيقة في هذه المعدل كذلك الأمر في الآزوت المعدني الذي تفوقت المعاملة الثانية جفت 100م^3/هـ على باقي المعاملات، بينما انخفض معنوياً في المعدل الأعلى، وهذا يتوافق مع ما توصل اليه piotrowska وزملاؤه (2006)وكسيري (2007) الذين أكدوا قدرة ماء الجفت على زيادة محتوى التربة من الآزوت عند المعدل 100م^3/هـ ، كما ازداد الفسفور والبوتاسيوم القابلين للإفادة في الترب المعاملة بمياه الجفت زيادة معنوية عن الشاهد في المعاملة جفت 100 م^3/هـ

ولم يكن بين المعاملة جفت 200 م^3/هـ والشاهد فروق معنوية، وتفوق الشاهد على المعاملتين جفت 300 م^3/هـ وجفت 400 م^3/هـ ، حيث وجد أنه مع زيادة المعدل من ماء الجفت انخفض الفسفور والبوتاسيومالمتاحين للنبات نتيجة لانخفاض النشاط الحيوي في التربة مع زيادة تراكم المركبات الفينولية في ماء الجفت، وهذا يتوافق مما توصل اليه Montemurroوزملاؤه (2004)، Mechriوزملاؤه (2011)، Chaari وزملاؤه (2014) , kokkora وزملاؤه (2015).

2.المتبقي قيم المركبات الفينولية المتبقية في التربة بعد الزراعة: يلاحظ من الجدول (19) تزايد معدل المركبات الفينولية في التربة وبشكل معنوي في كافة المعاملات مقارنة بمعاملة الشاهد حيث بلغ معدلها في الشاهد 245.0 ملغ/ل ومع زيادة معدلات اضافة ماء الجفت للتربة زاد معدل ماء الجفت من المركبات الفينولية وبشكل معنوي فيلاحظ تفوق المعاملة الخامسة معنوياً ذات معدل ماء الجفت 400 م^3/ هـ عن باقي المعاملات، وكان هناك فروق معنوية بين جميع المعاملات، يتوافق ذلك مع Rachid (2015).

جدول (19) تأثير مستويات ماء الجفت في معدل المركبات الفينولية للتربة المدروسة

المعاملة	المركبات الفينولية مغ/ل	مقدار الزيادة مقارنة بالشاهد
شاهد	245.0^{e}	0.00
جفت 100	367.5 ^{d}	50.00
جفت 200	542.5 ^{c}	121.40
جفت 300	677.5 ^{b}	177.00
جفت 400	835.0 ^{a}	252.30
LSD $_{0.05}$	158.64	
%cv	6	

اختلاف الأحرف يدل على وجود فروق معنوية على مستوى 5%.

3.نتائج التعداد الحيوي:

يلاحظ من الجدول **(20)** تزايد في أعداد البكتيريا في المعاملات 100-200-300 م^3/هـ معنوياً مقارنة بمعاملة الشاهد، كما تفوقت معنوياً المعاملة الثالثة المضاف لها 200 م^3/ هـ ماء جفت على باقي المعاملات حيث بلغ التعداد للبكتيريا فيها 19.05 مليون وحدة مكونة للمستعمرة بكتيرية في 1غ من التربة في حين لم يكن هناك فروق معنوية بين المعاملتين 100-300 م^3/هـ حيث بلغ تعداد البكتيريا /13.97، 13.35/ على التوالي كما أدى المعدل العالي لماء الجفت 400م^3/هـ لخفض واضح في أعداد البكتيريا مقارنة بمعاملة الشاهد ويمكن أن يعزى ذلك للمعدل العالية من المركبات الفينولية، وهذا يتوافق مع ما توصل اليه Paixao وزملاؤه (1999) ، Fiorentiono وزملاؤه (2003) Isidori وزملاؤه(2005).

الجدول (20) التعداد الحيوي للفطور والبكتيريا في التربة الملوثة بماء الجفت بعد حصاد محصول القمح

العينة م^3/هـ	فطور ألف	البكتيريا مليون
	وحدة مكونة للمستعمرة في **1** غ / التربة	
شاهد	2.2 d	5.80 c
جفت100	4.2 c	13.97 b
جفت200	8.5 a	19.05 a
جفت 300	5.7b	13.35 b
جفت 400	1.5 d	4.38 c
LSD $_{0.05}$	2.802	1.007
%cv	12	6.3

اختلاف الأحرف يدل على وجود فروق معنوية على مستوى 5%.

زاد التعداد الحيوي للفطريات، مع زيادة معدل ماء الجفت في التربة، بالمعاملة الأولى والثانية والثالثة 100-200-300 م^3/ هـ معنوياً على الشاهد. أما في المعاملة جفت 4 فانخفض مقارنة بمعاملة الشاهد، وهذا يتوافق مع نتائج الرحماني (2007) العيسى (2007) وبدران (2011)، وأن تناقص عدد الفطريات في المعاملة جفت 400 بشكل كبير وملحوظ وربما يعود لزيادة معدل المركبات الفينولية في التربة.

4.نتائج التحاليل المتعلقة بالنبات:

1.4.نسبة الانبات: يلاحظ من الجدول(21) تفوق المعاملات المضاف لها ماء جفت بكافة المعدلات على الشاهد في نسبة الانبات بفروق معنوية في المعدل 100–200–300م^3/هـ وظاهرية في المعدل 400م^3/هـ.

2.4 .طول النبات(سم)**:** يلاحظ تفوق المعاملة 100م^3/هـ معنوياً على الشاهد وعلى باقي المعاملات، وهذا يدل على الدور الإيجابي لإضافة ماء الجفت بمعدل منخفض على طول النبات، بينما لم يكن لزيادة معدل ماء الجفت زيادة معنوية في طول النبات، على العكس كان هناك انخفاض معنوي مع زيادة المعدل، وربما يعود ذلك لعدم اتاحة العناصر المعدنية في التربة نتيجة زيادة معدل المركبات الفينولية، والتي بدورها خفضت من الاحياء الدقيقة التي تعمل على اتاحة العناصر للنبات وبالتالي انخفض طول النبات.

3.4.طول السنبلة (سم)**:** تفوقت المعاملة 100م^3/هـ معنوياً على باقي المعاملات حيث بلغ فيها طول السنبلة 4.5سم وعلى الشاهد 3.2 سم وقل طول السنبلة مع زيادة معدل ماء الجفت في التربة بينما كانت المعاملة 400م^3/هـ الأقصر حيث بلغ طولها 1.7 سم.

4.4.وزن 1000 حبة (غ)**:** كما حققت المعاملة الثانية 100م^3/هـ أعلى وزن 1000 حبة ولم يكن هناك فروق معنوية بينها وبين الشاهد بينما انخفض وزن 1000حبة في باقي المعاملات وتسبب المعدل العالي من ماء الجفت بوزن منخفض جداً للألف حبة وبفروق معنوية عن باقي المعاملات بلغ في المعاملة 400 **م^3/هـ** 38.32.

5.4. وزن القش (كغ/هـ)**:** لم يلحظ فروق معنوية بين المعاملات 100 و200 م^3/هـ والشاهد حيث تفوقت معنوياً على الباقي وتفوقت عليهم ظاهرياً معاملة جفت 100 م^3/هـ ، بينما

انخفض وزن القش معنوياً في المعاملات جفت300–400 م^3/هـ ومع زيادة معدل ماء الجفت.

الجدول (21) تأثير معاملات الجفت في الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح

العينة م^3/هـ	نسبة الإنبات %	ارتفاع النبات	طول السنبلة	وزن 1000حبة غ	وزن القش	الانتاج	للإنتاج %
		سم			كغ/هـ		
شاهد	61.50 b	65.50 b	3.2 b	71.67 a	9014 a	2220 b	–
جفت **100**	82.50 a	85.75a	4.500a	79.35 a	10215 a	2495 a	12.30
جفت **200**	81.25a	65.00 b	3.05 b	75.12 a	9450 a	2331 ab	5.00
جفت **300**	80.50 a	62.75 b	2.22 bc	56.32 b	7899 b	1968 c	_11.40
جفت **400**	65.88 b	42.50 c	1.7 c	38.32 d	3012 d	1737c	_21.80
LSD 0.05	5.901	5.3	0.751	0.003	1605	243.4	
%cv	5.3	5.1	17	4.5	9.4	8.2	

اختلاف الأحرف يدل على وجود فروق معنوية على مستوى 1%

6.4. الإنتاج (كغ/هـ): :يلاحظ تفوق المعاملة المضاف لها 100 م^3/هـ من ماء الجفت معنوياً على الشاهد حيث زادت عليه بنسبة 12% وعلى كافة المعاملات، أما المعاملة 200م^3/هـ فحققت زيادة ظاهرية في الإنتاج مقارنة بمعاملة الشاهد بنسبة5%، بينما لوحظ انخفاض في الانتاج في المعاملة200 م^3/هـ مقارنة بالمعاملة 100 م^3/هـ، وهذا يتوافق مع ما توصل اليه Fausto وزملاؤه (2004) الابراهيم وزملاؤه(2007) وبن روينا (2007)(حيث زاد الانتاج بمقدار 25.26 % مقارنة بمعاملة الشاهد في المعدل 50م^3/هـ وازداد أيضا في المعدل 100–150 م^3/هـ لكنه انخفض في المعدل 200 م^3/هـ) ، وهذا يتوافق مع ما توصل اليه (كسيري ،2007) الذي لاحظ الأثر السلبي لإضافة ماء الجفت بمعدل 200م^3/هـ .

يلاحظ أيضاً في الجدول (21)، الأثر السلبي لإضافة ماء الجفت في انخفاض الانتاج عند التركيزين 300 –400م^3/هـ حيث كانت الفروقات ظاهرية فيما بينها، ومعنوية بين المعاملة 100–200م^3/هـ والشاهد، وهذا يتوافق مع ما توصل اليه Mahajan و Tuteja(2005) اللذان وجدا انخفاض غلة الذرة عند اضافة مستويات عالية من ماء الجفت. أظهرت الأبحاث التي قام بها Hanifi و El Hadrami (2008) أن مستويات السمية المتغيرة، تعتمد على ملوحة ماء الجفت، ومحتواه الفينولي، وأظهروا أيضا أن تطبيق ماء الجفت بمستويات منخفضة بمعدل 30م^3 /هـ لم تسبب أضرار فسيولوجية لمحصول الذرة وأدت إلى زيادة انتاج الذرة.

الفصل الثالث

عزل سلالات من الأحياء الدقيقة القادرة على تفكيك المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت

المبررات Justifications:

أدت الاضافات العشوائية من ماء الجفت، وبشكل غير مدروس نتيجة تراكمه بكميات كبيرة وفشل معظم طرائق المعالجة التقليدية، إلى تلوث الأراضي الزراعية بالقرب من المعاصر بماء الجفت وخروجها من الاستخدام الزراعي مما تطلب البحث عن عزلات حيوية من البيئات المحلية قادرة على تفكيك المركبات الفينولية، لمعالجة ماء الجفت من جهة، ولمعالجة التلوث في الترب.

الأهداف Objectives:

عزل بعض الأحياء الدقيقة من ماء الجفت والترب المشبعة به وأيضاً الأحياء الدقيقة القادرة على التأقلم مع المعدل العالية من المركبات الفينولية الموجودة على أسطح أوعية حفظ الزيتون المنزلي وأختبار قدرتها على تفكيك المركبات الفينولية.

المواد والطرائق:

1.**ماء الجفت:** استخدم ماء الجفت الوارد توصيفه في الفصل الثاني من الباب الثاني.

2.**التربة:** جمعت ثلاث عينات مركبة من ترب مشبعة بماء الجفت من جانب المعصرة التي أخذ منها ماء الجفت لتنفيذ التجارب، علماً بأن الترب، التي أخذت منها العينات، قد رويت بشكل دائم بماء الجفت لعدة سنوات، أخذت عينات التربة المركبة على عمق 0–50 سم من سطح الترب الزراعية بما يعادل 400 غ ومن مواقع مختلفة، وذلك في شهر تشرين الأول

2016. تم خلط تربة كل عينة مركبة بشكل جيد واستبعدت الاحجار والاجسام الغريبة منها ونخلت بمنخل 2 مم ثم حفظت في البراد لحين اجراء التحاليل عليها.

أخذت أيضاً بعض العزلات المتشكلة على أسطح العبوات المنزلية لحفظ الزيتون.

الطرائق:

نفذ العمل في مختبر المكافحة الحيوية ومختبر الأمراض في كلية الزراعة بجامعة دمشق

طرائق عزل الأحياء الدقيقة من التربة:

الطريقة الأولى:

أضيف 1غ من التربة المشبعة بماء الجفت في جو معقم، لأنابيب 9 مل ماء مقطر، ورجت بشكل جيد، وأخذ من الأنبوب الأول 1مل أضيفت لأنابيب 9 مل ماء مقطر، لنحصل على التخفيف الثاني، تم تكرار العملية حتى التخفيف الثالث للفطور والتخفيف الخامس للبكتيريا، وزرعت على أطباق بتري تحوي وسط Potato dextrose agar (PDA) للفطريات، ووسط Nutrient Agar (NA) للبكتيريا. تم ترقيم العزلات النامية وأعيد زراعتها حتى الحصول على عزلات نقية، وحفظت هذه العزلات حتى النمو الكامل للفطر في أنابيب مائلة من البيئة السابقة، وتغطيتها بالبرافين السائل بعد ترقيمها، أما البكتيريا فتم حفظها في المجمدة في الماء المقطر المعقم مع الغلسيرول بنسبة 1/2 .

الطريقة الثانية:

استخدمت في هذه الطريقة بيئة مكونة من (وسط الأملاح): $NaNO_3$ 1 g، K_2HPO_4 1g, $MgSO_4$ $7H_2O$ 0.3 g, $CaCl_2$ $6H_2O$ 0.1g, NaCl 0.1g, $FeCl_3$ $6H_2O$ trance حلت الكميات الموزونة سابقاً بـ 1000 مل ماء مقطر. أخذت 50 مل من البيئة السائلة السابقة بدوارق مخروطية، وعقمت ثم أضيف إليها 1 مل من ماء الجفت كمصدر وحيد

للكربون في البيئة، و بظروف معقمة أضيف 1مل من مستخلص التربة المشبعة بماء الجفت، بثلاث دوارق وبثلاث مكررات كمصدر متوقع للأحياء الدقيقة القادرة على تفكيك المركبات الفينولية، ثم وضعت في حاضنة هزازة بدرجة 27±2°م لمدة 21 يوم، ثم نشر 1مليلتر من كل مزرعة على وسط Potato dextrose agar (PDA) للفطريات، ووسط (NA Nutrient Agar) للبكتيريا. تم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 27±2°م لمدة4 أيام بالنسبة للفطور، 2 يوم بالنسبة للبكتيريا، كررت هذه العملية عدة مرات، حتى الحصول على مستعمرات نقية تم ترقيم العزلات، وحفظت العزلات بنفس الطريقة السابقة، أما بالنسبة للعزلات التي تم الحصول عليها من ماء الجفت، فقد أخذ 1مل وأجري عليها عدة تخافيف من ماء الجفت، وزرعت بأطباق بتري باتباع نفس الخطوات السابقة.

تم عزل الاحياء من العفن المتشكل، على أسطح أوعية حفظ الزيتون، والتي يتوقع بأن لديها القدرة على التأقلم مع المعدل العالية من ماء الجفت بزراعته مباشرة، حيث أخذ برأس ابرة التلقيح جزء من الفطر، وزرع في بيئة KBDA ثم حضن وعزل بنفس الطريقة السابقة.

التأكد من قدرة العزلات على تحليل المركبات الفينولية:

وضع في 11انبوب اختبار 10مل من ماء الجفت المعقم كمجوعة أولى، (حيث تم تعقيم ماء الجفت بتثفيله على سرعة 3000 د/د وترشيحه بالمرشح الحيوي ثم زرع 100 ميكرو ليتر منه في طبق بتري للتأكد من نجاح عملية التعقيم) و11انبوب اختبار يحتوي ماء الجفت غير المعقم كمجموعة ثانية، وأضيف لكل أنبوب من المجموعتين عزلة من العزلات العشرة، وتم تمييز كل أنبوب برقم العزلة، بينما سمي الانبوب رقم 11 بالشاهد(شاهد معقم لكل مجموعة بدون عزلات وشاهدغير معقم)، وضعت الأنابيب في كلا المجموعتين على حامل في حاضنة رجاجة لمدة 21 يوم، للتمكن العزلات من تحليل المركبات الفينولية.

قيست معدل المركبات الفينولية في ماء الجفت، باستخلاصها بالايتانول، ثم استخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية (الالتراسونيك) حيث (أخذ 10 مل من ماء الجفت وأضيف له 15 مل من ايتانول 70%، وضعت في الالتراسونيك مدة 30 دقيقة، وتمم الحجم النهائي إلى 100 مل)، ثم معايرتها بطريقة الفولين باستخدام كاشف الفولين – سيوكالتيو حسب Singleton وآخرون (1999).

التعرف على العزلات الفطرية:

اعتمدت الملاحظة العينية للتعرف على العزلات الفطرية، مثل لون وجهي المستعمرة، سرعة نموها، ومجهرياً تم فحص الخيوط الفطرية اذا كانت مقسمة أم لا، لون وأبعاد الحوامل لون الأكياس البوغية والأبواغ باستخدام تقنية الشريحة المجهرية المزروعة (slide culture technique) وتمت المقارنة مع الدراسات المرجعية المتخصصة بالتصنيف (Patrick وزملاؤه، 2010 وSharma ، 2010).

التعرف على العزلات البكتيرية:

عرفت العزلات تعريفاً أولياً بالاعتماد على الصفات المظهرية للمستعمرات على الأوساط المزرعية والمتضمنة حجم المستعمرات وحافتها وارتفاعها ولونها، ثم أجريت الاختبارات الكيمياحيوية (الحركة، صبغة الغرام، صبغ الأبواغ، الكاتلاز، أكسيداز، أختبار الاندول، أحمر الميتيل وفوكس بروسكاور، أختبار السترات، اختبار اليورياز، غلوكوز، لاكتوز وسكروز) كما لوحظت الصفات المظهرية للخلايا تحت المجهر الضوئي والمتضمنة شكل الخلايا وحجمها وطريقة تجمعها، وبالمقارنة مع الخصائص الواردة في دليل برجي Bergey,s manual(Sneath وزملاؤه،1989 ؛ Staley وزملاؤه ،1986 ؛ Cappuccino وShermank ،1992) تم التعرف على العزلات البكتيرية.

النتائج والمناقشة:

تم عزل عشر عزلات فطرية وبكتيرية من الترب المشبعة بماء الجفت، ومن ماء الجفت، ومن أسطح أوعية حفظ الزيتون، (ست عزلات قطرية وأربع عزلات بكتيرية).

كانت العزلات الفطرية قادرة على النمو في وسط مرتفع المعدل من المركبات الفينولية، أظهرت العزلات اختلاف في اللون والحواف والارتفاع وواستناداً إلى مواصفات العزلات في الجدول (22)، ومقارنتها بمفاتيح تصنيف الفطريات يمكن أعتبار هذه العزلات تنتمي إلى الأجناس والأنواع التالية:

جدول (22) تحديد هوية العزلات الفطرية المعزولة من ماء الجفت

رقم العزلة	هوية الفطر	قطر المستعمرة	لون الوجه العلوي	لون الوجه السفلي	الحوامل البوغية والأبواغ
1	*Penicillium sp*	20-80مم	أبيض قطني يصبح عفني مع التقدم	كريمي	االحوامل البوغية على شكل مكنسة الابواغ كروية صغيرة
2	*Mucor. nircinelloides*	90 مم	بني لرمادي داكن	كريمي لزيتوني	الاكياس البوغية كروية عديمة اللون ثم تصبح بني داكن الحوامل الأكياس البوغية منحنية شفافة والابواغ وحيدة الخلية كروية
3	*Aspergillus flavos*	90مم	لون أصفربيضاء من الداخل	كريمي فاتح	الحوامل البوغية كروية الابواغ كروية
5	*Aspergillus sclerotiorum*	70±2.0ملم	أسمر مائل للبني في البدية تصبح بنية	أصفر أو برتقالي داكن مائل للبني	كاملة الميسليوم مقسمة-الرأس الكوندي عمودي والحويصل كروي شكل الابواغ الكوندية شبه كروي-سطح الأبواغ أملس
8	*Alternaria sp*	45-50 مم	أسود رمادي	كريمي	تتفرع الحوامل الكوندية منها مفردة شفافة شكلها بيضوي مقسمة
9	*paecilomyces sp*	90مم	أسمر باهت +سمراء	بني لأخضر زيتوني	تتفرع الحوامل الكونيدية يشكل غير متناظر وغير متماثل الابواغ متراصة يشكل سلاسل متعرجة شبه كروية وتصبح برميلية مع التقدم بالعمر

توافقت هذه النتائج مع ما توصل إليه موسى وآخرون (2015)من العزلات الفطرية.

العزلات البكتيرية الناتجة من الترب الملوثة:

تم تعريف البكتيريا بالمقارنة مع الخصائص الواردة في دليل برجي Bergey, s manual (Sneathوزملاؤه 1989 و Staley وزملاؤه، 1986,و Cappuccino و Sherman, 1992) تبين أن العزلات البكتيرية تتبع للأجناس التاليةحسب أرقامها: العزلة الرابعة تنتمي لجنس *Acinetobacter sp* والعزلة السادسة *Azotobacter sp* والعزلة السابعة هي *Pseudomonas sp* والعزلة العاشرة هي*Bacillus sp* تتوافق العزلتين الرابعة والسابعة مع (محمد والعبيدو، 2019).

جدول (23) تحديد هوية العزلات البكتيرية

الرقم	شكلها	الغرام	الإبواغ	كاتلاز	أوكسيداز	أختبار الحركة	أحمر الميثيل	Vogues	ستارت	يوريا	غلوكوز	لاكتوز	سكروز	توصيف العزلة
4	عصوي قصيرة	−	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	−	Acinetobacter sp
6	عصوي ثنائية	−	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	Azotobacter sp
7	عصوية	−	+	+	+	+	+	−	+	+	−	−	−	*Pseudomonas* sp
10	عصوي	+	+	+	+	+	+	−	+	+	−	−	−	Bacillus sp

اختبار قدرة السلالات المعزولة على تحليل المركبات الفينولية:

يظهر الجدول (24) معدل المركبات الفينولية المتبقية، حيث تم حساب المعدل التي استطاعت كل عزلة على حده تحليلها، ونسبة التحلل مقارنة بمعاملة الشاهد (حيث كان الهدف من التعقيم، هو إظهار القدرة الحقيقة للعزلة المضافة بعد القضاء على كافة أشكال الأحياء الدقيقة الأخرى، التي يمكن أن تكون فعالة في تحلل المركبات الفينولية، أما غير المعقمة فلدراسة التحلل الذي يمكن أن يحدث بشكل طبيعي، لوجود أحياء دقيقة محددة

موجودة في ماء الجفت وقادرة على تحليل المركبات الفينولية فيه وربما يمكنها أن تنشط في الظروف المواتية لها).

أظهرت النتائج أن المتحلل من المركبات الفينولية في ماء الجفت المعقم، أقل من ماء الجفت غير المعقم، أي أن الأحياء الدقيقة الموجودة في ماء الجفت (غير المعقم) استطاعت تحليل المركبات الفينولية بنسبة 7.78 %، وتفوقت العزلة الفطرية الأولى معنوياً على باقي العزلات في قدرتها على التخفيض من نسبة المركبات الفينولية في ماء الجفت (معقم وغير معقم) وكانت أكثر فعالية في التحلل في ماء الجفت غير المعقم، وربما يعود السبب إلى تأزر الأحياء الدقيقة الموجودة أصلا في ماء الجفت مع العزلة المضافة، أو لمشاركة هذه الأحياء في عملية التحلل. وتم حساب التفاعل بين المجموعتين احصائياً ليتم أختيار الأجناس المتفوقة معنوياً في كلا المجموعتين معاً. يظهر فيه تفوق العزلة الأولى معنوياً على كافة العزلات ثم العزلة الفطرية الثالثة والعزلتان البكتيريتان السابعة ثم العاشرة. بلغت نسبة التحلل في العزلة الفطرية الأولى*Penicillium sp* في التجربة الأولى (غير المعقم) مقارنة بمعاملة الشاهد المعقم 66.66% بينما بلغت في ماء الجفت المعقم 56.35% وتليها معنوياً العزلة الفطرية ذات الرقم (3) الجنس *Aspergillus flavos* في ماء الجفت غير المعقم حيث بلغت نسبة التحلل49.32% وفي ماء الجفت المعقم48.58% وتليها العزلة البكتيرية السابعة جنس*Pseudomonas sp* التي تفوقت ظاهرياً على العزلة الثالثة في ماء الجفت المعقم حيث بلغت نسبة التحلل51.89% ثم العزلة العاشرة هي*Bacillus sp* التي بلغت نسبة التحلل فيها 48.69 %، كما كان هناك فروق معنوية واضحة في قدرة باقي العزلات.

الجدول (24) قدرة العزلات الفطرية والبكتيرية على تحليل من المركبات الفينولية من ماء الجفت

التفاعل بينهما	معقم			غير معقم			اسم العزلة	الرقم
	%	المتحلل من المركبات الفينولية	معدل المركبات الفينولية في ماء الجفت	%	المتحلل من المركبات الفينولية	معدل المركبات الفينولية الموجودة		
4.55a	56.35	4.17a	3.23	66.66	4.93 a	2.47	**Penicillium sp**	1f
2.063cd	27.42	2.03 c	5.37	28.33	2.10 de	5.30	**Mucor.**	2f
3.737b	48.85	3.61 ab	3.79	49.32	3.65 b	3.57	**Aspergillus flavos**	3f
1.569 e	13.07	0.97 d	6.43	29.32	2.17 d	5.23	**Acinetobacter sp**	4b
1.732 de	10.29	0.76 de	6.64	36.52	2.70 c	4.70	**Aspergillus sclerotiorum**	5F
0.714 f	7.89	0.58 de	6.82	11.40	0.84 g	6.56	**Azotobacter**	6b
3.632b	51.89	3.84 ab	3.56	49.11	3.63 b	3.77	**Pseudomona sp**	7b
0.918 f	0.28	0.02 e	7.38	24.53	1.81 ef	5.59	**Alternaria s**	8f
2.501 c	40.70	3.01 b	4.39	26.89	1.99 def	5.41	**paecilomyces s**	9f
2.673 c	48.69	3.60 ab	3.80	23.54	1.74 f	5.66	**Bacillus sp**	10b
0.288 g	0.00	0.00 e	7.10	7.78	0.58 g	6.82	شاهد	11
		0.8567			0.3413		l.s.d.	
		22.3			8.4		Cv	

الفصل الرابع

تأثير الاحياء الدقيقة المعزولة محلياً في تحسين الخصائص الخصوبية والحيوية للترب الملوثة بماء الجفت

المبرراتJustifications :

إن صعوبة معالجة ماء الجفت وتوفرها بكميات كبيرة دفعت أصحاب معاصر الزيتون إلى صرف هذه المياه بشكل عشوائي، الأمر الذي أثر سلباً في خصائص التربة والمياه السطحية والمياه الجوفية، وفعالية المعالجة الحيوية، لذا كان من الضرورة أختبار فعالية السلالات لمعزولة محلياً مع بعض المغذيات في تحسين خصائص التربة الخصوبية والحيوية.

الأهداف Objectives:

1.دراسة فعالية اضافة الملقح البكتيري في تحسين بعض الخصائص الخصوبية للتربة المضاف إليها كميات كبيرة من ماء الجفت والمركبات الفينولية والتعداد الحيوي والخصائص الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح.

2.دراسة فعالية اضافة الملقح الفطري في تحسين بعض الخصائص الخصوبية للتربة والمركبات الفينولية والتعداد الحيوي والخصائص الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح.

3.دراسة فعالية اضافة الآزوت ومخلفات الأبقار مع الملقح البكتيري والفطري في تحسين بعض الخصائص الخصوبية للتربة والمركبات الفينولية والتعداد الحيوي والخصائص الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح لتربة معاملة بنسب مئوية عالية من ماء الجفت.

المواد والطرائق:

1التربة: تم تنفيذ تجربة حقلية في محطة بحوث قرحتا التابعة لإدارة بحوث المحاصيل –

الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، أخذت عينة مركبة وعشوائية من التربة تم تجفيفها ثم نخلها بمنخل ذو أقطار 2 مم ووزنها وحفظها بالبراد للتحليل.

2.ماء الجفت: استخدم نفس ماء الجفت الوارد في الباب الثاني الفصل الثاني.

أضيف للتربة قبل الزراعة بمعدل 400 م^3/هـ.

3.الملقح البكتيري والفطري: استخدمت العزلات التي أثبتت فعاليتها في تخفيض المركبات الفينولية في ماء الجفت في الفصل الثالث وهي سلالتي البكتيريا (*Bacillus*–*Pseudomonas*) وسلالتي الفطور (*Penicillium*–*Aspergillus*) تم إضافة كل من الملقح الفطري المحتوي على العزلات الفطرية المتأزرة بشكل منفصل عن الملقح البكتيري المحتوي على الأجناس البكتيرية المتأزرة مع بعضها بعد اكثارهما على بيئة الأغار المغذي السائلة (NB). أضيفت العزلات السابقة مع مياه الري وتم توزيعها بشكل متساوي بما يعادل 200 مل لكل معاملة علماً أن التعداد الحيوي لـ 1مل 8 × 10^8 من البكتيريا و4× 10^4 من الفطور.

4.مخلفات الأبقار: أستخدمت نفس مخلفات الأبقار غير المخمرة الوارد توصيفها في الفصل الرابع الباب الأول المتوفر في المحطة وتم اجراء التحاليل اللازمة لها أضيف بمقدار29 طن/هكتار.

5.الآزوت: وأضيف على شكل يوريا بقدر احتياج القمح للتسميد الآزوتي أي ما يعادل (20 طن/هـ) بهدف تأمين التغذية للأحياء الدقيقة.علماً أن الازوت هنا أضيف لبعض المعاملات وهو مختلف عن السماد الذي أضيف للتجربة بكافة معاملاتها حسب التوصية.

تصميم التجربة: صممت التجربة بحيث احتوت على 10معاملات بثلاثة مكررات لكل معاملة، وبلغت مساحة القطعة التجريبية 6 م^2(3*2).

رمزت المعاملات بالرموز كما في الجدول (25):

الجدول (25) رموز معاملات التجربة

الرقم	رمز المعاملة	المعاملات
1	S	شاهد تربة مزروعة بدون ماء جفت
2	SO	تربة غير مزروعة + ماء جفت بدون معالجة
3	SO1	تربة مزروعة +ماء جفت بدون معالجة
4	SOB	تربة مزروعة + ماء جفت+ ملقح بكتيري
5	SOF	تربة مزروعة + ماء جفت+ ملقح فطري
6	SOMN	تربة مزروعة + ماء جفت+ مخلفات أبقار + آزوت
7	SOBN	تربة مزروعة + ماء جفت +ملقح بكتيري+ آزوت
8	SOFN	تربة مزروعة + ماء جفت+ ملقح فطري+ آزوت
9	SOBNM	تربة مزروعة +ماء جفت +ملقح بكتيري+ مخلفات أبقار + آزوت
10	SOFNM	تربة مزروعة+ ماء جفت+ ملقح فطري+ مخلفات أبقار + آزوت

أضيف ماء الجفت بمقدار 400 م^3/هـ، وتم خلطه بالتربة بشكل جيد وزرعت حبوب القمح بكميات 200 كغ / هـ. ثم أضيفت الأسمدة المعدنية NPK وفقاً لتوصية وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي (الزعبي وزملاؤه، 2013) بكميات تعادل 40 كغ N/هـ على شكل نترات الأمونيوم 33.5 % و 20كغ/هـ K_2O على شكل كبريتات البوتاسيوم 50%. لم يضاف السماد الفسفوري لارتفاع محتوى التربة من هذا العنصر. وتم تقديم الاحتياج المائي للمحصول بطريقة الري التكميلي، وكانت الزراعة بتاريخ /2018/1/6.

تم حصاد القمح بتاريخ 2018/6/6 حيث قطفت السنابل بعد عدها، ووضع كل معاملة في كيس على حده، وتم حساب أطوال النباتات ووزنها، وأخذت عينات تربة من كل معاملة لإجراء التحاليل الكيميائية.

طرائق التحليل للتربة وماء الجفت والسماد العضوي:

ذكرت كافة طرائق التحليل من تربة ونبات في الفصل الرابع الباب الأول والمركبات الفينولية وتقدير أعداد الأحياء الدقيقة

(المكروبيولوجية) في التربة والتحليل الإحصائي في الفصل الثاني الباب الثاني.

النتائج والمناقشة:

خصائص ماء الجفت المستعمل في التجربة: تم توصيفه في الفصل الأول

مخلفات الابقار: استخدمت نفس مخلفات أبقار الموصفة في الفصل الرابع الباب الأول

الخصائص الخصوبية للتربة: تم توصيفها في الفصل الرابع الباب الأول.

1.تاثير معاملات المعالجة في تحسين بعض الخصائص الخصوبية للتربة بعد الزراعة:

يظهر الجدول(26) انخفاض معنوي في درجة (pH) التربة المضاف لها ماء الجفت 7.82 مقارنة بمعاملة الشاهد 8.28، وهذا يتوافق مع نتائج Dakhli (2009)، بدران (2011) والعيسى وعباس (2016) ، وذلك بسبب الطبيعة الحامضية لماء الجفت، كما أدت المعالجة الحيوية للتربة لزيادة معنوية لدرجة (pH) التربة عن المعاملة SO1 (المضاف لها ماء الجفت والمزروعة) وبشكل متفاوت بين المعاملات وقد يكون سبب الانخفاض في pH بعض المعاملات المعالجة مقارنة بالأخرى لنشاط البكتيريا و الفطور وانتاجها بعض الاحماض العضوية، وربما يعود السبب لانطلاق غاز ثاني أكسيد الكربون أثناء قيام البكتيريا بتفكيك المركبات الفينولية في التربة وانحلاله بالماء لتشكيل حمض الكربون، مما يخفض من درجة الـpH، كما ان إضافة ماء الجفت أدت إلى زيادة في ملوحة التربة في المعاملات المضاف لها ماء الجفت بفروق معنوية حيث بلغت 0.43 دسيسيميز/م في التربة الملوثة المزروعة مقارنة بمعاملة الشاهد 0.37 وهذا يتوافق مع kokkora وزملاؤه (2015)، حيث يعود السبب لارتفاع أملاح الصوديوم في التربة، في حين

أدت معـاملات المعالجـة لخفـض ملوحـة التربـة فـي التربـة وبشـكل متفـاوت بـين هـذه المعـاملات، كمـا يلاحـظ زيـادة النسـبة المئويـة للمـادة العضـوية فـي المعاملـة المضـاف لهـا مـاء الجفت بـدون معالجـة SO1 1.79 % مقارنـة بمعاملـة الشـاهدS 1.29% وذلـك بسـبب ارتفـاع محتـوى مـاء الجفـت مـن المـادة العضـوية ومنهـا المركبـات الفينوليـة، وهـذا يتوافـق مـع مـا توصـل إليـه بـدران (2011)، ولـم يكـن هنـاك فـروق معنويـة فـي محتـوى التربـة مـن المـادة العضـوية فـي المعـاملات المعالجـة، مقارنـة بمعاملـة التربـة غيـر المعالجـة، كـان الانخفـاض ظاهريـاً فـي معـاملات المعالجـة، و ربمـا يعـود ذلـك لتحلـل جـزء مـن المـادة العضـوية وتفككهـا بالأحيـاء الدقيقـة المتزايـد عـددها فـي معـاملات المعالجـة بـالملقح الفطـري أو البكتيـري. كمـا يلاحـظ زيـادة معنويـة فـي محتـوى التربـة مـن الآزوت الكلـي فـي المعاملـة المضـاف لهـا مـاء الجفـت SO1 مقارنـة بمعاملـة الشـاهد، وربمـا يعـود السـبب لارتفـاع محتـوى مـاء الجفـت مـن المـادة العضـوية. كمـا يلاحـظ عـدم وجـود فـروق معنويـة فـي المعـاملات المعالجـة مقارنـة بمعاملـة التـرب الملوثـة بمـاء الجفـت، حيـث ارتفعـت فـي المعـاملات المضـاف لهـا مخلفـات الأبقـارو الملقحـات، التـي يمكـن أن تحتـوي علـى كائنـات حيـة تقـوم تثبيـت الآزوت الجـوي فـي التربـة، وربمـا تسـبب انخفـاض معـدل المركبـات الفينوليـة فـي زيـادة هذه الأحياء في التربة.

الجدول (26): تأثير معاملات المعالجة بالعزلات الفطرية والبكتيرية في بعض الخصائص الخصوبية للتربة الملوثة بماء الجفت

المعاملات	Ph	ECe عجينة مشبعة	مادة عضوية	الآزوت الكلي	متاح P_2O_5	متاح k_2O
		دسيسيمنز/م	%		مغ/كغ	
S	8.28 [a]	0.37 [b]	1.29 [b]	0.11[b]	48.20 [bc]	322.10 [e]
SO	7.82 [d]	0.45 [a]	1.80[a]	0.11[a]	38.00[d]	300.7 [e]
SO1	7.82 [d]	0.43 [a]	1.79 [a]	0.13[a]	40.00[d]	308.7 [e]
SOB	8.18 [bc]	0.30 [cd]	1.64 [a]	0.11 [b]	44.33 [cd]	384.3 [cd]
SOF	8.11 [bc]	0.34 [bc]	1.77[a]	0.13 [a]	45.30 [cd]	363.0 [d]
SOMN	8.13[bc]	0.24 [e]	1.72 [a]	0.13 [a]	44.63 [cd]	394.3 [bc]
SOBN	8.13 bc	0.24 [e]	1.62 [a]	0.12 [ab]	45.10 [c]	405.3 [abc]
SOFN	8.19 b	0.37 [b]	1.68 [a]	0.12 [ab]	45.17[cd]	402.7 [bc]
SOBNM	8.09 c	0.26 [de]	1.71 [a]	0.13 [a]	54.87[ab]	415.1 [ab]
SOFNM	8.13 bc	0.16 [f]	1.73[a]	0.14[a]	61.33 [a]	434.3 [a]
LSD 0.05	0.08522	0.05179	0.2561	0.01371	4.234	15.92
% cv	0.6	9.6	9.8	5.6	7.2	12.2

يدل اختلاف الأحرف يدل على وجود فروق معنوية على مستوى 5%

لوحظ أيضاً انخفاض معنوي لمحتوى التربة من الفسفور والبوتاسيوم المتاحين في معاملة التربة الملوثة بماء الجفت مقارنة بمعاملة الشاهدS، كما أدت الزراعة إلى تحسين محتوى التربة من هذين العنصرين مقارنة بالتربة غير المزروعة، وأدت المعالجة الحيوية إلى تحسين محتوى التربة من الفسفور والبوتاسيوم المتاحين، وكانت الفروق ظاهرية بين معاملات المعالجة وحققت المعاملة SOFNM، أعلى محتوى مقارنة بباقي معاملات المعالجة وقد يعود السبب لزيادة التعداد الحيوي في المعاملة من جهة وقدرة بعض هذه الأحياء على معدنة المادة العضوية المضافة للتربة سواء من ماء الجفت أو من السماد الحيواني المضاف

وتحويل الفسفور والبوتاسيوم إلى الشكل المتاح وتلي هذه المعاملة معاملة SOBNM وهذا يتوافق مع ما توصل اليه Montemurro وزملاؤه (2004) ، Mechri وزملاؤه (2011) ، Chaari وزملاؤه (2014) , kokkora وزملاؤه (2015) .

2.**نتائج التعداد الحيوي:** يلاحظ من الجدول (27) انخفاض أعداد الكائنات الحية الدقيقة (البكتيريا والفطريات) في الترب المضاف لها ماء الجفت مقارنة بمعاملة الشاهد. كما يلاحظ تفوق التربة المزروعة ظاهرياً على التربة غير المزروعة، من حيث محتواها من الفطور والبكتيريا.

يلاحظ انخفاض أعداد الفطور في المعاملة SO1 من 6.13 لـ 2.03 ألف وحدة مكونة للمستعمرة الفطرية في /1/غ من التربة ويعود السبب لاضطراب النشاط الحيوي نتيجة للتأثير السلبي للمعدل العالية من ماء الجفت على خصائص التربة ولزيادة معدل المركبات الفينولية التي أدت لتثبيط الفطور وهذا يتوافق مع طوشان وزملاؤه (2010) و Mechri وزملاؤه (2008) وD,Anibale وزملاؤه (2004).

أدت المعالجة الحيوية لزيادة في أعداد الفطريات نتيجة لتحسين الوسط الملائم لنموها، حيث يمكن ان تعمل الملقحات البكتيرية والفطرية على تفكيك المركبات الفينولية ذات التأثير المضاد للفطريات وتسهيل تحللها من قبل الفطريات الموجودة في ماء الجفت، وهذا يتوافق مع نتائج Aissam وزملاؤه (2007). أدت إضافة المغذيات، من آزوت ومخلفات أبقار، إلى زيادة في أعداد الفطريات نتيجة تأمين الوسط الملائم لنموها من مادة عضوية ومواد مغذية وهذا يتوافق مع العيسى وعباس (2016). إن سلوك البكتيريا يماثل سلوك الفطريات، حيث أدت إضافة ماء الجفت إلى التقليل من أعدادها في المعاملة SO1 /1.86/ مليون وحدة مكونة للمستعمرة بكيرية في 1غ تربة، مقارنة بمعاملة الشاهد S /4.76/ مليون وحدة مكونة

للمستعمرة بكيرية في 1غ تربة وذلك ربما يعود للتأثير المثبط للمركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت في البكتيريا وهذا يتوافق مع استنتاجات (Di Serio وزملاؤه،2008 ;Abidو Sayadi ،2006) .

الجدول (27) التعداد الحيوي للفطور والبكتيريا

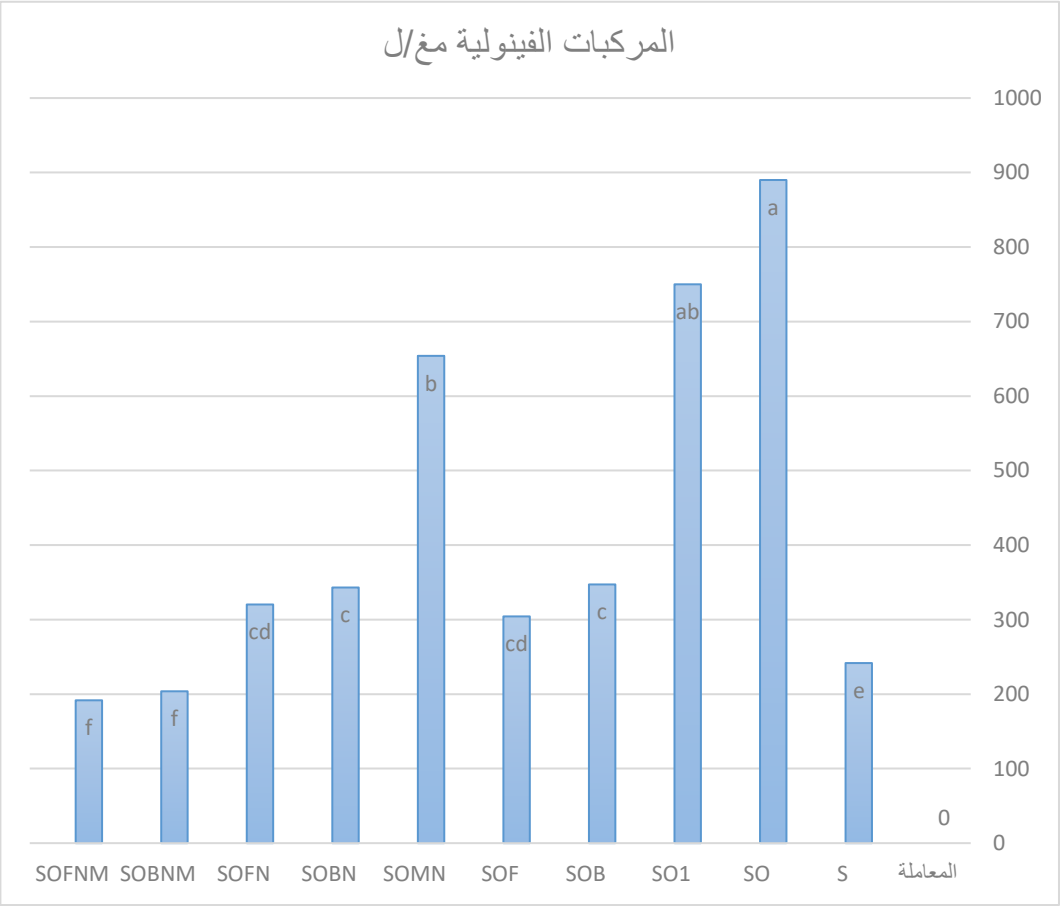
العينة	فطور ألف	بكتيريا مليون
	وحدة مكونة للمستعمرة وفي 1 غ من التربة	
S	6.13 b	4.76 b
SO	1.83 fg	1.56 de
SO1	2.03 fg	1.86 de
SOB	2.26 efg	2.93 de
SOF	4.56 cd	1.63 de
SOMN	3.20 def	2.46 cd
SOBN	3.56 de	3.73 b
SOFN	5.53 bc	2.43 cde
SOBNM	5.53 bc	6.56 a
SOFNM	8.20 a	3.57 bc
LSD	1.494	0.6918
%cv	20.5	13.5

إن اختلاف الأحرف في العمود الواحد يدل على وجود فروق معنوية على مستوى 5%.

-أدت المعالجة الحيوية لزيادة في أعداد البكتيريا في التربة، وربما يعود السبب في ذلك إلى تحسين الوسط الملائم لنمو لهذه البكتيريا، حيث تعمل الملقحات البكتيرية والفطرية على تفكيك المركبات الفينولية ذات التأثير المضاد للفطريات وتسهيل تحللها وهذا يتوافق مع Aissam وزملاؤه (2007). أدت إضافة المغذيات من آزوت ومخلفات أبقار إلى زيادة في أعداد البكتيريا وبفروق معنوية نتيجة تأمين الوسط الملائم لنموها وتكاثرها من مادة عضوية

ومواد مغذية وهذا يتوافق مع (العيسى وعباس، 2016; Mekkiوزملاؤه ،2018) وتفوقت معنوياً المعاملة SOBNMعلى كافة المعاملات.

3.محتوى التربة من المركبات الفينولية: يلاحظ من الشكل (13) زيادة محتوى التربة من المركبات الفينولية معنوياً في المعاملة المضاف لها ماء الجفت (400 م^3/ هـ) عن الشاهد، وهذا يتوافق معDella وزملاؤه (2001), Sierra وزملاؤه (2001), Assas وزملاؤه (2002), Fiorentiono وزملاؤه (2003), Isidori وزملاؤه(Mekki2005وزملاؤه(2007) و Rachid وزملاؤه (2015). خفضت معالجة التربة بالملقحات الفطرية والبكتيرية من محتوى التربة من هذه المركبات وبشكل معنوي مقارنة بمعاملة التربة غير المعالجة وحققت المعاملتين SOBNMوSOFNM أقل محتوى من المركبات الفينولية، وهذا يتوافق مع Piperidou وزملاؤه (2000) وكبيبو وزملاؤه (2011) حيث عملت هذه الأحياء المعزولة من ماء الجفت المتكيفة مع هذا الوسط والمضاف لها مخلفات أبقار والآزوت على تأمين الكربون العضوي اللازم لنموها من تحليل المركبات الفينولية وبالتالي انخفض محتوى التربة منها وقل الآثر السلبي لماء الجفت على التربة.



شكل (13) محتوى التربة من المركبات الفينولية

4.تأثير معاملات المعالجة على الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح:

1.4.طول النبات(سم): يلاحظ من الجدول (28) انخفاض معنوي لارتفاع النبات في معاملة التربة الملوثة بماء الجفت على الشاهد s وربما يعود السبب لانخفاض محتوى التربة من العناصر المعدنية اللازمة لزيادة طول الساق في التربة بشكل متاح، في حين أدت المعالجة الحيوية للتربة إلى زيادة معنوية لارتفاع النبات حيث حققت المعاملةSOFNM أعلى طول للنبات تليها المعاملات SOBNMو SOBNو SOFNوSOF وبفروق ظاهرية وربما يعود

السبب لتحسين الخصائص الخصوبية للتربة في هذه المعاملات المضاف لها الملقحات البكتيرية والفطرية.

2.4. طول السنبلة (سم): يلاحظ انخفاض معنوي في طول السنبلة في التربة الملوثة بماء الجفت مقارنة بمعاملة الشاهد، أدت معالجة التربة إلى تحسين في طول السنبلة في العاملة SOBNM التي بلغ فيها طول السنبلة لـ 7.2سم ومقارنة بطول السنبلة في التربة الملوثة التي بلغ طول السنبلة فيها لـ 1.77سم ثم المعاملات SOFNM وSOBN وSOFN وSOF و SOB وربما يعود ذلك لتوفر العناصر الغذائية الضرورية لنمو واستطالة السنبلة نتيجة تحسن خصائص التربة الحيوية والخصوبية.

3.4. وزن 1000 حبة (غ): تعود الزيادة في وزن الحبة إلى زيادة معدل توريد المادة الجافة من الأوراق والسيقان إلى الحبوب خلال وحدة الزمن، مما يؤدي إلى زيادة درجة امتلاء الحبوب، ومن ثم زيادة وزن الألف حبة (كيال وزملاؤه، 2004)، وبالتالي فإن زيادة طول الساق وتحزين المدخرات في الأوراق يساعد في زيادة وزن الألف حبة، وإن التفوق المعنوي لوزن الألف حبة في المعاملاتSOFNM و SOBNMوSOFN وSOBN و SOBوSOF على معاملةSO1 يؤكد ذلك.

4.4. وزن القش (كغ/هـ): انخفض وبشكل معنوي وزن القش في معاملة SO1 الملوثة بماء الجفت مقارنة بمعاملة الشاهد وبباقي معاملات المعالجة ، كما تفوقت معنوياً كافة معاملات المعالجة على المعاملة SO1 غير المعالجة ويلاحظ فروق ظاهرية بين معظم معاملات المعالجة في حين تفوقت المعاملتين SOFNM SOBNMمعنوياً على باقي المعاملات.

5.4. الإنتاجية (كغ/هـ): يلاحظ من الجدول (28) انخفاض معنوي للانتاجية في المعاملةSO1 مقارنة بمعاملة الشاهد من جهة، وهذا يتوافق مع ما توصل اليه Mahajan

و Tuteja(2005) كسيري ،(2007) Hanifi و El Hadrami (2008) و مع باقي معاملات المعالجة من جهة أخرى حيث أدت المعالجة الحيوية لتحسين انتاجية محصول القمح وبفروق معنوية عن معاملة الترب الملوثة وحققت بعض المعاملات انتاجية تماثل الشاهد أي أن الترب استعادت خصوبتها، وفي حين تفوقت معنوياً المعاملتين SOBNM و SOFNM ، على كافة المعاملات، حيث بلغ متوسط الإنتاجية فيها من 5356 ،5285 كغ/هـ على التتالي.

الجدول (28) تأثير معاملات المعالجة على الصفات الشكلية والإنتاجية لمحصول القمح

	طول النبات	طول السنبلة	وزن 1000حبة	وزن القش كغ/هـ	الانتاجية كغ/هـ
	سم		كغ/هـ		
S	64.33 bc	4.47 c	76.67 ab	9001 a	3517 c
SO1	41.6 e	1.77 d	38.67 b	2655 e	1173 e
SOB	76.00 cd	4.44 c	60.00 ab	8456 b	3067 c
SOF	93.33 ab	4.42 c	60.00 ab	7952 c	2020 d
SOMN	63.33 d	5.53 b	63.33 a	8030 b	2019 d
SOBN	88.33 abc	5.20 b	53.33 ab	8242 b	4069 b
SOFN	89.00 abc	5.26 b	60.00 ab	8520 b	4925 b
SOBNM	80.67 bc	7.20 a	60.00 ab	9012 a	5285 a
SOFNM	99.33 a	6.94 a	56.67 b	9852 a	5356 a
LSD 0.05	14.42	0.76	12.8	1020.2	916.0
%cv	10.6	8.9	56.67 ab	11.8	20.4

اختلاف الأحرف يدل على وجود فروق معنوية على مستوى 5%.

الفصل الخامس:

الاستنتاجات:

1.أدت إضافة ماء الجفت بمعدل (100 م^3/هـ) لتحسين معنوي في خصوبة التربة حيث أرتفعت قيم المادة العضوية والأزوت الكلي والمعدني والفسفور والبوتاسيومالمتاحين بشكل معنوي مقارنة بمعاملة الشاهد وبباقي المعاملات.

2.يعتبر إضافة ماء الجفت بمعدل يزيد على (200 م^3/هـ) ملوثاً للتربة حيث أدى لخفض مؤشرات خصوبة التربة باستثناء المادة العضوية (بسبب تراكم المركبات الفينولية).

3.تفوقت العزلات الفطرية *Aspergillus flavos,,Penicillium sp* والعزلات البكتيرية *Pseudomonas sp* ، *Bacillus sp* المعزولة من ماء الجفت والترب الملوثة به على بقية العزلات بتفكيك المركبات الفينولية.

4.أدت إضافة الملقحات الفطرية والبكتيرية إلى تحسين خصائص التربة الخصوبية والحيوية

التوصيات:

1. يوصى باضافة ماء الجفت بنسب مئوية لا تزيد عن 100 م ^{3}/هـ كمخصب للترب الزراعية لتأثيره الإيجابي على خصائص التربة المختلفة.

2. يوصى بمعالجة الترب الملوثة بماء الجفت باضافة الملقحات البكتيرية والفطرية المعزولة محلياً والقادرة على النمو والتكاثر في ماء الجفت.

الاستنتاجات العامة:

1.أدى تلوث التربة بالملوثات العضوية (النفط وماء الجفت) إلى انخفاض معنوي للأزوت الكلي والفسفور والبوتاسيومالمتاحيين كما انخفض التعداد الحيوي والموشرات الإنتاجية لمحصول القمح.

2.أدت المعالجة الحيوية للترب الملوثة بالنفط وماء الجفت بعزلات محلية من الفطور والبكتيريا المعزولة من أوساط ملوثة مسبقاً إلى تحسين خصائص التربة الخصوبية والحيوية والإنتاجية.

التوصيات العامة:

1. يوصى بمعالجة الترب الملوثة بالنفط عند المعدل 75غ نفط/ 1كغ تربة ومعالجة الترب الملوثة بماء الجفت عند زيادة معدله عن 100م^3/هـ باستخدام طرائق المعالجة بالأحياء الدقيقة المتأقلمة مع ظروف منطقة الدراسة.
2. يوصى بإضافة المخلفات الحيوانية كمخلفات الأبقار والأزوت لتسريع عمليات المعالجة.

المقترحات:

1. الاهتمام بتهوية التربة بتنفيذ عمليات الحراثات المتكررة والتمشيط للمواقع الملوثة لتنشيط عمليات الأكسدة الحيوية في التربة.
2. دراسة الأثر المتبقي من للتلوث النفطي في التربة مستقبلاً بدراسة محتوى التربة من المعادن الثقيلة والمركبات الهيدروكربونية المتبقية في التربة.

3. يوصى بالتوصيف الدقيق للعزلات الفطرية والبكتيرية التي اثبتت كفاءتها في معالجة الترب على مستوى النوع واقتراح متابعة الدراسة بإضافة ملقحات فطرية وبكتيرية مجتمعة.

المراجع :

- **الإبراهيم، أنور، وحسام النائب، ومحمد غادري، و منى عاشور (2007)** تأثير إضافة ماء الجفت وتفل الزيتون في الأراضي الزراعية، ورشة العمل الدولية، دمشق، سورية
- **الابراهيم، أنور، وحسام النائب، ومحمد غادري (2008)** أثر استخدام ماء الجفت في الأراضي الزراعية المزروعة بالقمح على خصائص التربة والإنتاج. مركز البحوث الزراعية، إدلب.
- **أبو نقطة، فلاح، محمد سعيد الشاطر (2011).** خصوبة التربة والتسميد الجزء النظري، جامعة دمشق، صفحة 328-236.
- **إياد، عباس (2018).** إدارة قاعدة البيانات في نظام الـ GIS لاختيار مواقع بحيرات تجميع مياه الجفت الناتجة عن معاصر الزيتون، جامعة تشرين-المجلة الهندسية المجلد 40 العدد 3 ص 68-69.
- **بدران، أمجد(2011)** تأثير إضافة مستويات مختلفة من ماء الجفت في بعض الخصائص الخصوبية والإنتاجية لتربة مزروعة بالحمضيات، رسالة دكتوراه، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.
- **بن روينا، بشير (2007).** تأثير إضافة ماء الجفت على الزيتون والبندورة, ورشة العمل الدولية، دمشق، سورية، (43).
- **تكريتي، صلاح الدين ، عبير القائد، سحاب ابراهيم (2009).** المعالجة الأشعاعية للمياه الناتجة عن عصر الزيتون للتخلص من الملوثات العضوية تقريرعن دراسة علمية حاسوبية قسم الهندسة النووية ص 12 .

- **حسين ، أمل، شذا سلمان (2008)** كفاءة البكتيريا المعزولة المحلية Pseudomonas Aeruginosaو Serratia Ficaria في معالجة مياه الصرف الصحي البترولية ، المجلة العراقية لتكنولوجيا الحياة (1) 7: 96- 109
- **كيال حامد (2004)** انتاج محاصيل الحبوب والبقول،الجزء النظري، جامعة دمشق
- **حربا، نزار (2010).** دراسة تأثير حجم الحبة ووزنها في بعض الخصائص الفينولوجية والمورفولوجية عند بعض أصناف القمح القاسي تحت ظروف المنطقة الساحلية. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية-سلسلة العلوم البيولوجية, 32(3).
- **الحمادي، ايمان(2014)** قدرة العزلات البكتيرية السائدة في الترب الملوثة بالمشتقات النفطية على التحلل الحيوى .Annals of Agric. Sci Vol. 52(3) 0419-1110 Moshtohor, 407-418
- **حميد, محمود, ريتا منصور(2012).** معالجة الأضرار البيئية لماء الجفت باستخدام التهوية , 221 - 211 pp 2 .Vol. (32) No. Minia J. of Agric. Res. Develop . 2012 .
- **الخطيب، احمد (2004).** تلوث التربة. مصر: المكتبة المصرية، صفحة 45.
- **دحدل، عادل، ابراهيم فضول، اياد عيسى.(2014).** تحليل الأثار البيئية الناجمة عن الأزمة الراهنة تلوث البيئة في قطاع النفط أسبوع العلم البيئي، دمشق، سورية.
- **الرحماني، محمد (2007).** نتائج تجارب إضافة ماء الجفت على العنب. ورشة العمل الدولية، دمشق، سورية، 41 صفحة
- **الزعبي، محمد منهل، وأنس الحصني، وحسان درغام (2013)** طرائق تحليل التربة والنبات والمياه والأسمدة. البحوث العلمية الزراعية، دمشق.

- **سلوم، محمد غسان، عدنان نظام (2010).** البيئة التطبيقية والتلوث (الجزء النظري) منشورات جامعة دمشق كلية العلوم عام صفحة 345.
- **شحاته، حسن (2000).** البيئة والتلوث والمواجهة. القاهرة. ص 2
- **الشحادات، محمد(2010)** استخدام مخلفات عصر الزيتون في درعا، خطوة جديدة للحفاظ على البيئة وتطوير قطاع الزراعة بالمحافظة.SANA
- **شفيق، شذا (2010)** التأثير التأزري لنبات الفصَة Medicago sativa والفطر Aspergillus niger في معالجة التلوث النفطي في التربة. مجلة كلية التربية العدد الثالث صفحة 360 جامعة المستنصرية، العراق
- **الطائي، ميسون، نداء شهاب حمد، جولان جبار صاحب البكري (2016)** دراسة إمكانية إزالة الهيدروكربونات النفطية وبعض الملوثات في مياه المخلفات النفطية لمصفى النجف 1–باستعمال الفطريات المفردة، مجلة جامعة بابل العلوم الصرفة والتطبيقية /العدد (1) المجلد (24) :2021
- **طوشان، حياة وحسان كور، ومحمد زين الدين نعمة، وقمر شراباتي(2010)** . تأثير ماء الجفت في كثافة بعض الكائنات الحية الدقيقة لتربة مزروعة بالحمص (Cicer arietimum L.). المجلة العربية للبيئات الجافة 5(1):77–69.
- **عبود، محمد (2001)** كتاب التلوث النفطي، مجلة قاسيون دمشق.
- **العبيدي، أمل علي. (2005)** العوامل المؤثرة في التحلل الحيوي لمياه مخلفات وحدة المعالجة في مصفى الدورة بغداد رسالة ماجستير كلية العلوم جامعة بغداد
- **العمر مثنى عبد الرزاق (2001)** العدوان الثلاثيني والحصار الاضرار البيئية والصحية، كلية بغداد، العراق.

• **العويد، ياسين حسين وسمي الجبوري (2017)** دراسة استهلاك هيدروكربونات بعض انواع النفط الخام بالفعل الانفرادي والتآزري لفطرين Fusarium moniliforme و Aspergillus flavus مجلة تكريت للعلوم الصرفة

• **العويد، ياسين حسين (2008).** الفعل الانفرادي والمشترك لبعض العزلات البكتيرية على التحلل الحيوي لنفط خام كركوك المتوسط، مجلة علوم الرافدين، المجلد 19، العدد 1، ص 101،110.

• **العيسى، عبد الله. (2007):** ميكروبيولوجيا التربة، منشورات جامعة البعث، كلية الزراعة.

• **العيسى، عبد الله، ومنال عباس(2016).** تأثير ماء الجفت والسماد العضوي والآزوتي على المؤشرات البيولوجية للتربة المزروعة بالفول السوداني، المجلة الأردنية في العلوم الزراعية، المجلّد 12، العدد 1 ص –96–98.

• **كبيبو، عيسى، وعبد العزيز بو عيسى، وأمجد بدران (2011).** دراسة تأثير إضافة مستويات مختلفة من ماء الجفت مع التسميد على بعض الخصائص الكيميائية لتربة مزروعة بالحمضيات وعلى إنتاجها، مجلة جامعة دمشق العلوم البيولوجية. المجلد (33). العدد(5)

• **كسيري، سونيا (2007)** نتائج تجارب اضافة ماء الجفت على العنب والزيتون ضمن نطاق نشاطات مشروع، ورشة العمل الدولية، دمشق، سورية.

• **محمد، سيراؤوس، قصي العبدو(2019)** التفكك الحيوي للفينول باستعمال سلالات جرثومية محلية (مؤتمر الدولي لاعادة اعمار) كلية العمارة –جامعة البعث –سورية.

• **محمد، فتحية (2015)** التعديات على حقول النفط في ظل الأزمة وأثاره السلبية على البيئة مؤتمر "المنتدى العلمي البيئي لتحليل الأثار البيئية الناجمة عن الأزمة الراهنة".

• **مشروع الأمن الغذائي في البلدان العربية ايكبا (المركز الدولي للزراعة الملحية).2009،** كتيب مشروع الأمن الغذائي في البلدان العربية.البحوث العلمية الزراعية، دمشق.

• **مطر، غازي. مالح. (2009)** مصادر ومخاطر التلوث النفطي والاجراءات الكفيلة للحد من تاثيراته على البيئة والتربة في العراق، الجامعة المستنصرية ،كلية الهندسة، قسم الهندسة البيئية 3: 712– 686

• **موسى، كرم وأميمة ناصر وحسن جنيدي (2015)** عزل وأختيار أفضل العزلات الفطرية من ماء الجفت الطازج لاستخدامها في المعالجة الحيوية، مجلة جامعة تشرين للبحوث **والدراسات العلمية –سلسلة الغلوم الأساسية، 37(5):85-75**

• **ناصر، أميمة ؛ عيسى كبيبو , هيثم شاهين (2009)**المعالجة البيولوجية للنفايات. رسالة دكتوراة في جامعة البعث. أسبوع العلم 49 مؤتمر إدارة النفايات الصلبة و السائلة في سورية الواقع و آفاق التطوير. مجلس التعليم العالي 9–11 تشرين الثاني 2009 كلية الهندسة المدنية بجامعة البعث.

• **ناصر، أميمة. (2007)** مساهمة في دراسة المعالجة البيوكيمائية للمياه الناتجة عن معاصر الزيتون لإنتاج الغاز الحيوي. رسالة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة تشرين.

• **النائب، حسام(2011).** أثر إضافة مخلفات عصر ثمار الزيتون في الاراضي الزراعية على بعض الخصائص الكيميائية والفيزيائية والحيوية والإنتاجية للتربة. رسالة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة تشرين.

• **نشأت، عصام حميد ودلالي، نائل كامل(1998).** تأثير بعض المشتقات النفطية على خصائص تربة متماسكة، المؤتمر العلمي الأول لكلية الهندسة الجامعة المستنصرية.

• **هيفا، سوسن وإيهاب أحمد، ومازن البودي، وبنان قشعور (2016)** تأثير إضافة ماء الجفت على بعض خصائص التربة وعلى محتواها من بعض العناصر الصغرى وفي نوعية نبات البندورة المزروع في البيت البلاستيكي. مجلة جامعة البعث. المجلد 38. العدد 46 . 153-127.

• **الياس، نهى هرمز (1987).** فعالية البكتيريا المكسرة للنفط الخام في خور الزبير. رسالة ماجستير. مركز علوم البحار كلية العلوم جامعة البصرة.

- **Abid, N., Sayadi, S.(2006)** Detrimental effects of olive mill wastewater on the composting process of agricultural wastes. Waste Manag.26 (10):1099 -1107.
- **Abramovitch, R., and Capracotta. A. (2003).** Remediation of waters contaminated with pentachlorophenol. Chemosphere 50: 955-957
- **Achal, V., Kumari, D., and Pan, X. (2011)** Bioremediation of chromium contaminated soils by a brown rot fungus, Gloeophyllum sepiarum. Journal of Microbiology 6, 166-171.
- **Adekunle, A. A, and Adebambo, O.A. (2007).** Petroleum Hydrocarbon Utilization by Fungi Isolated from Detarium Senegalense (J. F Gmelin) Seeds.
- **Agu, K. C., Edet, B. E., Ada, I.C., Sunday, A. N and Chidi, O.B.(2018).** Isolation and Characterization of Microorganisms from Crude oil Polluted Soil in Kwata, Awka South, Nigeria. American Journal of Life Science Researches, 3:46-59

- **Aissam, H., Penninckx, M and Benlemlih, J. (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.
- **Akpoveta, O. V., Felix, E., Weltime, M. O., Ize-iyamu, O. K., and Daniel, E. E (2011)** Microbial Degradation and its Kinetics on Crude oil Polluted Soil, Research Journal of Chemical Sciences. Vol: 1(6), 8-14.
- **AL- Ghamdi, A. Y. (2011).** Investigation the ability of five fungal species to utilize Gasoline as sole carbon source. Egypt. Acad. J. biology. Sci., 3 (1): 7-12.
- **Al-Nasrawi, H. (2012).** Biodegradation of Crude Oil by Fungi Isolated from Gulf of Mexico, Bioremediation & Biodegradation, 2:3
- **Al-Azaawi, D.F.(2000).** Proposed remediation for soil polluted with some petroleum products. Ms.C Thesis, Coll. of Engin. Al-Mustansiriya Univ
- **Al-Dhabaan, F. A. (2019). Morphological, biochemical and molecular identification of petroleum hydrocarbons biodegradation bacteria isolated from oil polluted soil in Dhahran, Saud Arabia. Saudi journal of biological sciences, 26(6), 1247-1252.**
- **Alfarawati, A., Adnan, A., Nizam, A., and Nizar, I.(2013).**Quantitative analysis phenolic compounds in Syrian olive mill

wastewater by spectrophotometry and HPLC, Egyptian Journal of Pure and Applied Science 38:361-365.

- **Ali, M.F., M-Ridha, M.J. and Taly, A.H. 2018.** Optimization Kerosene Bio-degradation by a Local Soil Bacterium Isolate Klebsiella pneumoniae Sp. *Pneumonia, J Pure Appl Microbiol*, *12*(4), pp.2049-2057.
- **Al-Janabi J. D. M. (2008).** Appreciation survey of natural biodegradation of crude oil which cause soil contamination and trying to diagnose the bacterial species which cause this biodegradation Education collage, Tikrit University
- **Almamoori, A. M., Saleh M. M and Salman, J.M. (2018)** Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons polluted soils using augmentation by inoculating with bacteria (Pseudomonas aeruginosa) and fungi (Penicillium expansum). Mesop. environ. j., Special Issue E.; 185-196
- **Amirante, P and F. Pipitone (2002):** Re-use of the by-products of olive growing andolive oil production, Olivae no. 93, October
- **Andrade, M.L., E.F., Covelo, F.A. Vega, and Marcet, P. (2004).** Effect of the Prestige Crude oil spill on salt marsh soils on the coast of Galicia (Northwestern Spain). Journ. Environ. Qual. 33, 2103 – 2110.
- **Aprill, W. S. and Sims, R. C. (1990).** Evaluation of the the use ofprairie grass for stimulation PAH treatment in soil.Chemosphere.20:253-265.

- **Asep, H., and Sanro, T. (2013).** Crude oil and n-Octadecane degradation under saline conditions by Fusarium sp., F092. Journal of Environmental Science and Technology 6, 29-40.
- **Assas, N., Ayed, L. Marouani, L and Hamdi M..(2002).** Decolorizat-ion of fresh and stored-back olive mill wastewaters by Geotrichum candidum Process Biochem,38:361-365.
- **Ayadi, H. (2002).** Antioxidants from olives, Tunisia Centre de biotechnologie de Sfax (CBS), Volume 10: Examples Of The Development Of Pharmaceutical Products From Medicinal Plants, P 101-108.
- **Ayotamuno, M.J., Kogbara. R. B., Ogaji, S.O.T and Probert, S.D. (2004)** Bioremediation of a crude oil polluted agricultural soil at Port Harcourt, Nigeria.
- **Balice, V. G., Boari, O., Cera and Abbaticchio, P (1982)** acque di vegetazione. Nota 1. Inquinamento, ng. 7-83. 49-53.
- **Bamforth, S.M. 2005.** Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions., J Chem Technol Biotechnol 80: 723-736.
- **Benka - Coker, M.O and Ekundayo, J. A. (1995).** Effect of a crude oil spill on soil physic-chemical properties of a spill site in the Niger Delta area of Nigeria. Environ. Monitor. Assess. 36: 93 -104.
- **Bhupathiraju, V.K., Krauter, P., Holman, H. Y. N., Conrad, M. E., Daley, M.E, Daley, P.F., Templeton, A.S., Hunt, J.R., Hernandez,**

M., and Alvarez-Cohen, L. (2002). Assessment of in-situ biorem-ed-iation at a refinery wastecontaminated site and an aviation gasoline contaminated site, Journal of Biodegradation 13: 79-90.

- **Boldu-Prenafeta, F. X., Ballerstedt, H., Gerritse, J and Grotenhuis, J. T. C. (2004)** Bioremediation of BTEX hydrocarbons: effect of soil inoculation with the toluene-growing fungi Cladophialopora sp. Strain T1. Biodegradation. 15 (1): 59–65.
- **Borja, R., Garrido, E.S., Martinez, L., Cormenzana. R.A., and Marti, A. (1993)** Kinetic study of anaerobicdigestion of olive mill wastewater previously fermented with Aspergillus terreus. Process Biochem., 28: 397-404.
- **Cappuccino, J. G., and N. Sherman (1992).** Biochemical activities of microorganisms. Microbiology, A Laboratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Co. California, USA, 188-247
- **Casa, R., A. D'Annibale., F. Pieruccetti., S.R. Stazi., G. Sermanni., and B. Lo Cascio (2003):** Reduction of the components m olive-mill wastewater by an enzymatic treatment and its impact on durum wheat (Triticum durum Desf.) germimbility. Chemosphere. 50: 959-966.
- **CFC/IOOC. (2007).** International Seminar: Olive by-products valorization for sustainable, environmentally friendly olive culture. 6th September, 2007 Damascus, Syria. Organised by: Project Executive

Agency Olive Team, ENA-Meknes, Morocco and General Commission for Scientific Agricultural Research Department, Syria.

- **Chaari, L., Elloumi, N., mseddi, S., Gargouri, K., Bourouina, B., Mechichi, T and Kallel, M. (2014).** Effects of Olive Mill Wastewater on Soil Nutrients Availability, International Journal of Interdisciplinary and Multidisciplinary Studies, Vol 2, No.1, 183 -. 175.
- **Chaari, L., Elloumi, N and Gargouri, K. (2013).**Evolution of several soil properties following amendment with olive mill wastewater, Desalin. Water Treat: 1-7.

- **Chaillan,F., Chaineau,C.H., Point,V., Saliot, A and Oudot, J. (2006).** Factors inhibiting bioremediation of soil contaminated with weathered oils and drill cuttings Environ, 37: 1490 -1497.
- **Chaudhry, S., Luhach, J., Sharma, V. and Sharma, C., (2012).** Assessment of diesel degrading potential of fungal isolates from sludge contaminated soil of petroleum refinery, Haryana. *Res J Microbiol*, *7*(3), pp.182-190.
- **Chien,Y.C .(2012).** Field study of in situ remediation of petroleum hydrocarbon compounds in Syrian olive mill wastewater by spectrophotometry and HPLC, Department of Biology, Faculty of Science, University of Damascus, Syria Egyptian Journal of Pure and Applied Science.

- **Cichelli, A and Cappelletti, G .(2007).** Valorisation of olives residues by spreading on agricultural land: technical assets, Proceed. of Economie Europeana: Prezent.
- **D'Annibale, A., Casa, R., Pieruccetti, F., Ricci, M and Marabottini R. (2004).** Lentinula edodes removes phenols from olive-mill wastewater impact on durum wheat (Triticum durum Desf.) germinability, Chemosphere 54: 887–894.
- **Dakhli, R., Taamallah, H., Nagaz, K and Lamouri, R.(2009).** Olive Mill wastewater valorisation in agriculture –Effects on the soil proprieties and barley yield, "Desert Technology IX " Refereed Paper, Journal of Arid Land Studies. 19: 327- 330.
- **Das, N. and Chandran, P. (2011)** Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. SAGE-Hindawi Access to Research Biotechnology Research International Volume 2011, Article ID 941810, 13 pages doi:10.4061/2011/941810
- **Das, K and Mukherjee, A.K. (2007)** Crude petroleum crude oil biodegradation efficiency of Bacillus subtilis and Pseudomonas aeruginosa strains isolated from petroleum crude oil contaminated soil from North – East India. Journal of Bioremediation and Technology, 98: 1339-1345.
- **Della, G., Monaco, M. P., Pinto, G., Pollio, A and Previtera, L. (2001).** Phytotoxicity of low-molecular-weight phenols from olive mill waste waters, B. Environ. Contam. 67:352-359.

- **Di Bene, C., Pellegrino, E and Debolini, M. (2013).** Short- and long-term effects of olive mill wastewater land spreading on soil chemical and biological properties, Soil Biol. Biochem, 56: 21-33.
- **Di Serio, M. G., Lanza, B. M., Russi, M.R., Iannucci, F., Marfisi, E. P and Madeo, A. (2008).** Effects of olive mill wastewater spreading. on the physico-chemical and microbiological characteristics of soil. International Biodeterioration & Biodegradation, 62(4): 403-407.
- **Ekundayo, E. O and Obuekwe, O. (2000).** Effects Of An Oil Spill On Soil Physico-Chemical Properties Of A Spill Site In A Typic Udipsamment Of The Niger Delta Basin Of Nigeria .Environmental Monitoring and Assessment 60: 235-249.
- **Eneh, O.C. (2011)** A review on petroleum: Sources, uses, processing, Science ,11: 2084-2091.
- **Environmental Protection Agency (EPA). (2016).** Sampling and Analysis Procedure for Screening of Industrial Effluents for Priority Pollutants; EPA: Cincinnati, OH, USA,. Int. J. Environ. Res. Public Health .13, 300 7 of 8
- **Essien, O. E. and John, I. A. (2010).** Impact of crude-oil spillage pollution and chemical remediation on agricultural soil properties and crop growth. J. Appl. Sci. Environ. Management. 14 (4): 147 – 154. c(proceeding of 2nd International conference of science and Art – University of Babylon and Liverpool John Moores University, UK).

- **Farid, A.W. (2012)** Bioremediation Of Oil Contaminated Soil By Axenic And Mixed Cultures Of Bacteria And Fungi, AL- Taqani ,Vol . 25: No. 2
- **Fatuyi, O.E., Oluwatoyin, F.O and Esther, A.E. (2012).** Biodegradation of Bonnylight crude oil by locally isolated fungi products and the environment. from crude oil contaminated soils in Akure, Ondo state. Malaysian ,Journal of Microbiology, Journal of Applied 8: 42-46.
- **Fausto, C., Rossini, C. F., Quarationo, D., Vassilev, N and Fenic, M. (2004).** Reuse of microbially treated Olive Mill wastewater as fertilizer for wheat, Italy, 112.
- **Feria, A.L. (2000).** The generated situation by the OMW in Andalusia. In Actas/Proceedings-Workshop Improlive-2000-Anexo A (Vol. 1: 55-63).
- **Finney, E.E.(1987).** Impacts on soils related to industrial activities:IIIncidental and accidental soil pollution .P.259-280.InH.Barth and P.L Hermite (ed)scientific basis for soil protection in the European Community .Elsevier Applied Science ,London
- **Fiorentiono, A., Gentili, A., Isidori, M., Monaco, P., Nardelli, A., Parella, A., and Temussi, F.(2003).**Environmental effects caused by olive mill wastewaters: Toxicity comparison of low-molecularweight phenol components.
- **Gadd, G. M. (2004).** Mycotransformation of organic and inorganic substrates. Division of environmental and applied biology. Biological

Sciences institute, school of life Sciences. University of Dundee. Scotland. UK. Mycologist, Vol. 18, Part. 2, P. 59-70.

- **Garcia-Ortiz, A., Beltrán, G., Uceda, M., Hermoso, M., González, P., Ordóñez, R. and Giráldez, J.V. (1997).** September. Vegetation water (alpechin) application effects on soils and plants. In III International Symposium on Olive Growing 474 : 749-752)
- **Gayathiri, E., Bharathi,b B., Selvadhas, S., Kalaikandhan, R. (2017)** Isolation, Identification and molecular characterization of hydrocarbon degrading bacteria and its associated genes - a review. Int. J. Pharm. Bio. Sci.;8(2):1010-1019. (B) [Google Scholar]
- **Gunkel, W and Dahlman,G .(1986).** Bacterial degradation of heavy fuel oil in sea water. In: Baltic Sea Environment Proceed-ing. 22, PP : 68 – 80 .Norrkoping, Sweden.
- **Hamdi, M., Kahdir, A., and Garcia, L.J.(1991).**The use of Aspergillus niger for the bioconversion of olivemill waste-waters. Applied Microbiol., 34: 828-831.
- **Hanifi, S and I. El Hadrami. (2008).** Phytotoxicity and fertilising potential of olive mill wastewaters for maize cultivation. Agronomy for Sustainable Development, 28: 313-319. http://dx.doi.org/10.1051/agro:2007
- **Helmenstine ,A.M .(2017).** Chemical Composition of Petroleum. www.thoughtco.com, Retrieved 27-3-2018. Edited

- **Hentati, O., Lachhab, R., Mariem, A and Ksibi, M. (2013).** Toxicity assessment for petroleum-contaminated soil using terrestrial invertebrates and plant bioassays. Environmental monitoring and assessment, 185(4), 2989-2998.
- **Herman, D.C., Leonhard, R.J and Miller, R.M. (1997).** Formation and removal of Hydrocarbon residual in porous media effect of attached bacteria and biosurfactants. *Environmental science & technology*, *31*(5), 1290-1294.] .
- **Hooived, M.; Heederik, D.J.J.; Kogevinas, M.; Boffetta, P.; Needham, L.L.; Patterson, D.G.; Bueno to -de-Mesquita, H.B.(1998).** Second follow-up of a dutch cohort occupationally exposed phenoxy herbicides, chlorophenols, and contaminants. Am. J. Epidemiol., 147, 891-899.
- **Hwabaek, K., Sikkim, H and Mockoh, M. H. (2004).** Effects of crude oil, oil components and bioremediation on plant growth. J Environ. Scien. And Health 39(9):2465-2472.
- **Hytiris, N., Kapellakis, I.E., La Roij, R and Tsagarakis K.P. (2004).** The potential use of olive mill sludge in solidification process, Resour. Conserv. Recycl. 40, 129-139.
- **Iffis, B., St-Arnaud, M. and Hijri, M., (2017).** Petroleum contamination and plant identity influence soil and root microbial communities while AMF spores retrieved from the same plants possess markedly different communities. *Frontiers in plant science*, *8*, p.1381.

- **Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A. and Parrella, A.,(2005).** Model study on the effect of 15 phenolic olive mill wastewater constituents on seed germination and Vibrio fischeri metabolism. *Journal of agricultural and food chemistry*, *53*(21), pp.8414-8417.
- **Jayaraman, S., Manoharan, M.S. and Illanchezian, S., (2008).** In-vitro antimicrobial and antitumor activities of Stevia rebaudiana (Asteraceae) leaf extracts. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *7*(4), pp.1143-1149.
- **Johnson, R.B., Onwuegbuzie, A.J. and Turner, L.A., (2007).** Toward a definition of mixed methods research. *Journal of mixed methods research*, *1*(2), pp.112-133.
- **Kallel, M., Belaid, C., Mechichi, T., Ksibi, M. and Elleuch, B., (2009).** Removal of organic load and phenolic compounds from olive mill wastewater by Fenton oxidation with zero-valent iron. *Chemical Engineering Journal*, *150*(2-3), pp.391-395.
- **Kanaly, R.A. and Harayama, S. (2000).** Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *Journal of bacteriology*, *182*(8), pp.2059-2067.
- **Kathi, S., and Anisa B.K.(2012).** Isolation and Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon degrading soil microbes from automobile workshop sediments. Journal of Environmental Science and Technology, 5, 74-83.

- **Khan, S.R., JI, N.K., Kumar, R.N. and Patel, J.G., (2015)** In vitro study on assessment of petrol, kerosene and diesel degrading potential of indigenous fungal isolates from different petroleum product effected soils. *International Journal of Recent Research and Review*, *8*(1), pp.8-15.
- **Kiama, C.W., (2015).** *Isolation and Characterization of Hydrocarbon Biodegrading Fungi from oil contaminated soils in Thika, Kenya* (Doctoral dissertation, JKUAT).
- **Kokkora, M., Vyrlas, P., Papaioannou, C., Petrotos, K., Gkoutsidis, P., Leontopoulos, S. and Makridis, C., (2015).** Agricultural use of microfiltered olive mill wastewater: effects on maize production and soil properties. *Agriculture and agricultural science procedia*, *4*, pp.416-424.
- **Kucey, R.M.N., Janzen, H.H. and Leggett, M.E., (1989).** Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. In *Advances in agronomy* (Vol. 42, pp. 199-228). Academic Press.
- **Kuhn, W., Gambino, R., Al-Awadhi, N., Balba, M.T. and Dragun, J., (1998).** Growth of tomato plants in soil contaminated with Kuwait crude oil. *Journal of Soil Contamination*, *7*(6), pp.801-806.
- **Lendlein, A. and Langer, R., (2002).** Biodegradable, elastic shape-memory polymers for potential biomedical applications. *Science*, *296*(5573), pp.1673-1676.

- **Leyval, C., Joner, E.J., Del Val, C. and Haselwandter, K., (2002).** Potential of arbuscular mycorrhizal fungi for bioremediation. In *Mycorrhizal technology in agriculture* (pp. 175-186). Birkhäuser, Basel.
- **Lundstedt, S., (2003).** *Analysis of PAHs and their transformations products in contaminated soil and remedial processes* (Doctoral dissertation, Kemi, Umea, Sweden, 55pp
- **Mahajan, S. and Tuteja, N., (2005).** Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics*, *444*(2), pp.139-158
- **Marchand, C., St-Arnaud, M., Hogland, W., Bell, T.H. and Hijri, M., (2017).** Petroleum biodegradation capacity of bacteria and fungi isolated from petroleum-contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *116*, pp.48-57..
- **Martin, A., Borja, R. and Chica, A., (1993).** Kinetic study of an anaerobic fluidized bed system used for the purification of fermented olive mill wastewater. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, *56*(2), pp.155-162.
- **McGill, W.B., (1977).** Soil restoration following oil spills-a review. *Journal of Canadian Petroleum Technology*, *16*(02).
- **Mechri, B., Cheheb, H ., and Boussadia, O. (2011).** Effects of agronomic application of olive mill wastewater in a field of olive trees on carbohydrate profiles, chlorophyll a fluorescence and mineral

nutrient content. Environmental and Experimental Botany ; 71: 184–191.

- **Mechri, B., Mariem, F.B., Baham, M., Elhadj, S.B. and Hammami, M., (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 and Biochemistry*, *40*(1), pp.152-161.
- **Mekki, A., Dhouib, A. and Sayadi, S. (2013)** Effects of olive mill wastewater application on soil properties and plants growth. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture, 2(1), p.15.
- **Mekki, A., Dhouib, A. and Sayadi, S., (2007).** Polyphenols dynamics and phytotoxicity in a soil amended by olive mill wastewaters. *Journal of Environmental Management*, *84*(2), pp.134-140.
- **Mollea, C., Bosco, F. and Ruggeri, B., (2005)** Fungal biodegradation of naphthalene: microcosms studies. *Chemosphere*, *60*(5), pp.636-643.
- **Mohsenzadeh, F., Rad, A. C., & Akbari, M. (2012).** Evaluation of oil removal efficiency and enzymatic activity in some fungal strains for bioremediation of petroleum-polluted soils. *Iranian journal of environmental health science & engineering*, *9*(1), 26.

- **Montemurro, F., Convertini, G. and Ferri, D., (2004).** Mill wastewater and olive pomace compost as amendments for rye-grass. *Agronomie*, *24*(8), pp.481-486.
- **Moreno, J., González-López, J., Martinez-Toledo, M.V., De La Rubia, T., Ramos-Cormenzana, A. and Vela, G.R., (1988).** Growth and nitrogenase activity of Azotobacter vinelandii in the presence of several phenolic acids. *Archives of microbiology*, *150*(2), pp.113-116.
- **Njoku, K.L., Akinola, M.O. and Oboh, B.O., (2009).** Phytoremediation of crude oil contaminated soil: the effect of growth of Glycine max on the physico-chemistry and crude oil contents of soil. *Nature and Science*, *7*(10), pp.79-87.
- **Ojewumi, M.E., Obielue, B.I., Emetere, M.E., Awolu, O.O. and. Ojewumi, O. E. (2018).** A bioremediation study of raw and treated crude petroleum oil polluted soil with Aspergillus niger and Pseudomonas aeruginosa. Journal of Ecological Engineering, 19(2), 226-235. Journal of Ecological Engineering, 19(2), 226-235.
- **Okerentugba, P.O. and Ezeronye, O.U., (2003).** Petroleum degrading potentials of single and mixed microbial cultures isolated from rivers and refinery effluent in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, *2*(9), pp.288-292.vol.
- **Olsen, S.R., and Sommers, L.E.,(1982).** Phosphorus. In: Methods of Soil Analysis, 2nd ed., part 2 (Eds. Page, A.L., R.H. Miller and

D.R. Keeney). Agronomy No. 9. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA. pp. 403–430

- **Ordóñez-Fernández, R., de Torres, M. A. R. R., Márquez-García, J., Moreno-García, M., & Carbonell-Bojollo, R. M. (2018).** Legumes used as cover crops to reduce fertilisation problems improving soil nitrate in an organic orchard. *European Journal of Agronomy*, *95*, 1-13.
- **Ojo, O.A., (2006).** Petroleum-Hydrocarbon Utilization by Native Bacterial Population from A waste Water Canal South West Nigeria. African Journal of Biotechnology. Vol. 5, pp.333-337
- **Osuji, L.C. and Nwoye, I., (2007)** An appraisal of the impact of petroleum hydrocarbons on soil fertility: the Owaza experience. *African journal of agricultural research*, *2*(7), pp.318-324.
- **Paixao, S.M., Mendonça, E., Picado, A. and Anselmo, A.M., (1999)** Acute toxicity evaluation of olive oil mill wastewaters: a comparative study of three aquatic organisms. *Environmental Toxicology*, *14*(2), pp.263-269.
- **Parales, R.E., Parales, J.V., Pelletier, D.A. and Ditty, J.L., (2008).** Diversity of microbial toluene degradation pathways. *Advances in applied microbiology*, *64*, pp.1-73.
- **Paredes, C., Cegarra, J., Bernal, M.P. and Roig, A.,(2005).** Influence of olive mill wastewater in composting and impact of the

compost on a Swiss chard crop and soil properties. *Environment international*, *31*(2), pp.305-312.

- **Patrick, C.Y. Woo.; Antonio, H. Y.; Ngan, Hon-Kit Chui.; Susanna, K. P. Lau And Kwok-Yungyuen (2010).** A Novel Method of Slide Preparation for Preservation of Native Fungal Structures for Microscopic Examination and Long-Term Storage. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 48, No. 9, , 30533061. 17
- **Pepi, M., Altieri, R., Esposito, A., Lobianco, A., Borghini, F., Stendardi, A., Gasperini, S. and Focardi, S.E., (2009).** Effects of amendment with olive mill by-products on soils revealed by nitrifying bacteria. *Chemistry and Ecology*, *25*(4), pp.293-303.
- **Petarca, L., Cioni B., (2011)** Petroleum products removal from contaminated soils using microwave heating. *Chem Eng Trans*, *24*, pp.1033-8.
- **Piotrowska, A., Iamarino, G., Rao, M.A. and Gianfreda, L., (2006)** Short-term effects of Olive Mill wastewater (OMW) on chemical and biochemical properties of a semiarid Mediterranean soil. *Soil Biology and biochemistry*, *38*(3), pp.600-610.
- **Piperidou, C.I., Chaidou, C.I., Stalikas, C.D., Soulti, K., Pilidis, G.A. and Balis, C.,(2000).** Bioremediation of olive oil mill wastewater: chemical alterations induced by Azotobacter vinelandii. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(5), pp.1941-1948.

- **Potin, O., Rafin, C. and Veignie, E., (2004).** Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *54*(1), pp.45-52.
- **Rachid, R ., Kajji, A., and Kaltoum, O.(2015).** Impact of olive mill wastewaters used as fertilizer on soil quality and physiological behavior of coriander, nvironmental Science An Indian Journal Volume 10 Issue 5 ESAIJ, 10(5), [184-190] ISSN : 0974 - 7451
- **Rahman, K.S.M., Rahman, T., Lakshmanaperumalsamy, P. and Banat, I.M., (2002).** Occurrence of crude oil degrading bacteria in gasoline and diesel station soils. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms*, *42*(4), pp.284-291.
- **Rinaldi, M., Rana, G. and Introna, M., (2003).** Olive-mill wastewater spreading in southern Italy: effects on a durum wheat crop. *Field Crops Research*, *84*(3), pp.319-326.
- **Schnoor, J.L., (1996).** *Environmental modeling: fate and transport of pollutants in water, air, and soil*. John Wiley and Sons. Newyork.682
- **Sebiomo, A., Banjo, F.M., Ade-Ogunnowo, F.E. and Fagbemi, F.T., (2017)** Microbial Population, Dehydrogenase and Urease Activities in Soils Polluted with Spent Engine and Diesel Oil. *African Journal of Science and Nature*, *4*, pp.56-65.

- **Sharma, G.P.R.R., (2010).** Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes. *Journal of yeast and fungal research*, *1*(8), pp.157-164.
- **Siciliano, S.D. and Germida, J.J., (1998).** Mechanisms of phytoremediation: biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. *Environmental Reviews*, *6*(1), pp.65-79.
- **Sierra, J., Martı, E., Montserrat, G., Cruanas, R. and Garau, M.A., (2001).** Characterisation and evolution of a soil affected by olive oil mill wastewater disposal. *Science of the Total Environment*, *279*(1-3), pp.207-214.
- **Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R.M., (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
- **Snape, I., Riddle, M.J., Stark, J.S., Cole, C.M., King, C.K., Duquesne, S. and Gore, D.B., (2001).** Management and remediation of contaminated sites at Casey Station, Antarctica. *Polar record*, *37*(202), pp.199-214.
- **Sneath P.H.A, M.E. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt, (1986).** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2. Williams & Wilkins.

- **Staley. J. T, M.P Bryant, N.Pfennig, and J.G. Holt, (1989)** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3. Williams & Wilkins
- **Sabbah, I., Marsook, T. and Basheer, S., 2004.** The effect of pretreatment on anaerobic activity of olive mill wastewater using batch and continuous systems. Process Biochemistry, 39(12), pp.1947-1951.
- **Thavasi, R., Jayalakshmi, S. and Banat, I.M., (2011).** Application of biosurfactant produced from peanut oil cake by Lactobacillus delbrueckii in biodegradation of crude oil. *Bioresource technology*, *102*(3), pp.3366-3372.
- **Thijsse, G.J.E. and Van der Linden, A.C.,(1961).** Iso-alkane oxidation by aPseudomonas Part I.—Metabolism of 2-methylhexane. *Antonie van leeuwenhoek*, *27*(1), pp.171-179.
- **Toledo, F.L., Calvo, C., Rodelas, B. and González-López, J., (2006).** Selection and identification of bacteria isolated from waste crude oil with polycyclic aromatic hydrocarbons removal capacities. *Systematic and applied microbiology*, *29*(3), pp.244-252.
- **Udgire, M., Shah, N. and Jadhav, M., (2015).** Enrichment, isolation and identification of hydrocarbon degrading bacteria. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, *4*(6), pp.708-713.
- **Vavrek, M. C. and Campbell W. J. (2002).** Identification of plant traits that enhance biodegradation of oil. Louisiana Tech. Univer.225

- **Walkley, A. and Black, I.A., (1934).** An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science*, *37*(1), pp.29-38.
- **Yan, J., Jianping, W., Jing, B., Daoquan, W., and Zongding, H. (2006).** Phenol biodegradation by the yeast Candida tropicalis in the presence of m-cresol. Biochem. Eng. J. (29): 227–234.
- **Пиковский, Ю. И. Геннадиев, А. Н. Чернянский С.С. Сахаров Г. Н.** (2003) **Почвоведение,Пиковский Ю. И Проблема диагностики и нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами / -№ 9.** С.1132-1140.

The effect of organic contamination (petroleum oil, Olive Mill Wastewater) on biology, fertility and productivity propertis of soil and its possibility bioremediation

Studied the effect of organic pollutants from human activity (e.g., hydrocarbons in petroleum oil, and phenolic compounds in olive mill wastewater) in Biological properties, fertility and productively of soils and their bioremediations were investigated.

In the petroleum oil-related study, a pot experiment was carried out, in soil artificially contaminated with different rates of petroleum oil (0, 25, 50, 75 and 100 g/kg soil), to study their effects on some soil properties and fertility, number of microorganisms, and wheat productivity.The results showed significant increaseing in soil salinity, organic matter and total nitrogen in the soil. Whereas, the available content of P and K were significantly decreased with increasing rates of petroleum oil. Similarly, total number of bacteria and fungi in the contaminated soil, as well as wheat productivity, were also reduced. Moreover, synergic and individual effects of some fungal and bacterial isolates (isolated from naturally contaminated soils), were tested for *their* potential *ability* to *degrade* petroleum oil in the contaminated agricultural soils. A total of 9 bacterial and 9 fungal genus or species were successfully isolated in a nutrient medium containing petroleum oil as a sole source of carbon. The isolates showed different capabilities in petroleum oil biodegradation. Based on color change indices in the growth medium (Bushnell Hass) and petroleum oil composition (Gas chromatography), the fungal (*Penicillium* sp, *Aspergillius neger* & *Cladosprium* sp.) and bacterial (*Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp & *Micrococcus* sp) genus, showed better performance in petroleum oil degradation as compared
with the other isolated microorganisms, either grown individually or together. Accordingly, a pot experiment was conducted to study the impact of the above mentioned microorganisms on reducing the level of petroleum oil pollution when added in a high rate (100 g oil /kg soil). Results showed that the soil bioremediation resulted in an enhancement of N and P content, total number of the microorganisms. Moreover, wheat yield was also increased by

bioremediation, particularly in the Fungi + N+ cow manure treatment (5.8 ton ha^{-1}) as compared with the control (0.43 ton ha^{-1}).

In the olive mill wastewater-related study, a pot experiment was carried out to investigate the impact of soil amendment with different rate of mill wastewater (0,100, 200, 300 and 400 m^3 ha^{-1}) on some soil properties and fertility, number of microorganisms, phenolic content and wheat productivity. Results showed significant increaseing in soil salinity by increasing rates of mill wastewater. Moreover, the available amounts of P and K, number of microorganisms in addition to wheat productivity were significantly increased at a rate of 100 m^3 ha^{-1} of olive mill wastewater. The higher rates of olive mill wastewater reduced the above-mentioned nutrients. In addition, soil content with phenolic compounds significantly increased with increasing the rates of olive mill wastewater, as compared with the control. A total of 10 isolates were obtained locally that are able to disassemble the phenolic compounds in olive mill water, olive mill wastewater and oil-saturated soils. Such microorganisms were isolated from colonies which appeared on the surfaces of home olive containers. The ability of the isolated microorganisms to degraded the phenolic compounds has been tested in a nutrient medium containing phenolic compounds as a sole source of carbon. The fungal (*Penicillium* sp and *Aspergillus flavos*.) and bacterial (*Bacillus* sp and *Pseudomonas*) spices showed better performance in phenolic compound degradation as compared with the other isolated microorganisms. So, a field experiment was conducted to evaluate the effectiveness of the above mentioned microorganisms in disassembling the phenolic compounds in the soil. The olive mill wastewater was added at a rate of 400 m^3 ha^{-1}. A total of 10 different treatments were used in the field study including: “bioremediations with bacteria and/or fungi, with or without cow manures, with or without nitrogen amendments”. Results showed that the soil bioremediation resulted in a decrease in phenolic compounds and in enhancements of N and P content, total number of the microorganisms (i.e., bacteria & fungi) as well as wheat yield improvement.

Key words: bioremediation, Microorganisms, Petroleum oil, Olive mill wastewater, Soil