



A new simple method for the enumeration of nitrifying bacteria in different environments.

PLANT SOIL ENVIRON., 58, 2012 (1): 49-53

طريقة بسيطة لتقدير مجموعة بكتيريا النيتريته (البكتيريا المؤكسدة الأمونيا الى نترات) في التربة و الأوساط البيئية المختلفة.

Kh. Elbanna^{1,2}, R.M. El-Shahawy¹, K.M. Atalla¹

¹Department of Agricultural Microbiology, Faculty of Agriculture, Fayoum University, Fayoum, Egypt

²Department of Biology, Faculty of Applied Sciences, Umm Al-Qura University, Makkah, Kingdom of Saudi Arabia

الهدف والجديد في البحث:

في هذا البحث تم إستحداث طريقة بسيطة وسهلة وغير مكلفة وسريعة كبديل للطرق التقليدية (التي تستخدم فيها مواد كيميائية خطيرة كالداي فينيل أمين وحمض السلفونيليك) في تقدير أعداد بكتيريا النيتريته (بكتيريا أكسدة الأمونيا الى نترات) والتي تضم جنسين هامين هما *Nitrosomonas* و *Nitrobacter* والتي يعتبر تواجدها في التربة دلالة على مدى خصوبتها، حيث تقوم هذه المجموعة البكتيرية بأكسدة الأمونيا الناتجة من تحلل السماد العضوي الى نيتريت ثم الى نترات وبالتالي تحفظها من الفقد بالتطاير مما يزيد من خصوبة التربة وإستفادة النبات منها. وتعتمد هذه الطريقة في الكشف بالإستدلال على تغير لون مجموعة من الأدلة المستخدمة كنتيجة لنمو هذه المجموعة البكتيرية وتكوين حامض النيتروز وحمض النيتريك من أكسدة الأمونيا، حيث تنشط بكتيريا الـ *Nitrosomonas* المؤكسدة للأمونيا الى نيتريت (حمض النيتروز) اولا ثم تنشط بكتيريا الـ *Nitrobacter* والتي تؤكسد النيتريت الى نترات (حامض نيتريك) مما يؤدي إلى تغير لون الأدلة المستخدمة وتم حصر الأنايبب الموجبة التي تغيرت ألوانها وتقدير الأعداد بإستخدام جداول العد التقريبي (Cochran).

ملخص البحث:

في هذه الطريقة تم إستخدام مجموعة من ادلة الـ pH ذات حساسيات مختلفة بإضافتها الى البيئة المعدنية المتخصصة التي تستخدم في عد هذه المجموعة. ومن الأدلة التي أستخدمت في هذه الدراسة:

methy orange (MO), bromocresol green (BCG), methyl red (MR), bromothymol blue (BTB), and phenol red (PhR) وتم تقييم هذه الطريقة الجديدة كبديل للطريقة التقليدية (والتي يستخدم فيها مواد كيميائية خطيرة كالداي فينيل أمين وحمض السلفونيليك) التي تستخدم في تحديد وعد هذه المجموعة البكتيرية الهامة.

وفي هذه الطريقة تم إجراء العد بإستخدام طريقة الـ MPN حيث تم عمل تخفيفات من عينات مختلفة من التربة وكذلك السماد العضوي ومخلفات الصرف الصحي، بالإضافة إلى إستخدام مزرعة مختلطة من بكتيريا النيتريته لقياس دقة النتائج وتلقيح البيئة المعدنية المتخصصة المعدلة بإضافة مجموعة من أدلة الـ pH كل على حدة) مقارنة بالطريقة التقليدية التي يستخدم فيها الداي فينيل أمين وحمض السلفونيليك في الكشف عن أعداد هذه المجموعة البكتيرية. وبعد إنتهاء فترة التحضين على درجة الحرارة المناسبة تم الكشف عن نمو هذه المجموعة البكتيرية الهامة.

واسفرت نتائج هذه الدراسة الى ما يلي:

أولاً: ان حساسية ودقة هذه الطريقة الجديدة والتي تعتمد على تغير لون الادلة كنتيجة لنمو هذه المجموعة البكتيرية المكونة للأحماض المسؤولة عن تغيير لون الأدلة وصلت الى مئات أضعاف الطريقة التقليدية

ثانياً: ان حساسية وسرعة تغير لون الادلة عند عد بكتيريا *Nitrosomonas* (Ammonia oxidizers) والتي تؤكسد الأمونيا الى نيتريت كان أعلى من المجموعة الثانية *Nitrobacter* التي تؤكسد النيتريت الى نترات والتي تسمى Nitrite oxidizers.

ثالثاً: كما وجد ان من أفضل الادلة في الدقة والحساسية هو دليل الـ Phenol red حيث سجل حساسية مئات الأضعاف مقارنة بالطريقة التقليدية.

وخلاصة هذه الدراسة أنه يمكن إستخدام هذه الطريقة السهلة والبسيطة والغير مكلفة والحساسة (والتي تعتمد على تغير لون الادلة) كبديل للطريقة التقليدية التي يستخدم فيها مواد كيميائية خطيرة على صحة الإنسان، وأفضل من الـ PCR من حيث التكلفة في حصر وتقدير اعداد هذه المجموعة البكتيرية الهامة في التربة والتي يعتبر وجودها في التربة دلالة هامة على درجة خصوبتها لما لها من دورا هاما في تحول الأمونيا الناتجة من تحلل المادة العضوية الى نترات وبالتالي حفظها من التطاير عن طريق تحولها الى نترات والتي تعتبر أفضل صور النيتروجين التي يفضلها النبات في الإمتصاص. كذلك يمكن استخدامها في حصر وتقدير أعداد هذه المجموعة من البكتيريا في الأوساط البيئية المختلفة.