دور السيانوبكتريا في الترب الملوثة بالمخلفات النفطية والمزروعة بالحنطة نوع نور *Triticum aestivum*

نهاد عبد محمد

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة تكريت، تكريت، جمهورية العراق

الملخص:

تضمنت الدراسة الحالية قياس بعض العوامل الفسلجية الناتجة من تلوث التربة بمخلفات النفط وبتراكيز مختلفة والمزروعة بالحنطة نوع النور للفترة من ٢٠٠٥ – ٢٠٠٦ مضافا إليها بعض أنواع السيانوبكتريا المثبتة للنيتروجين الجوي.

تبين خلال الدراسة أن المخلفات النفطية أظهرت اتجاهين متناقضين في النبات هي زيادة سرعة الإنبات من جهة ، قابلها سلبا تناقص استطالة النبات عن الحالة الطبيعية مقارنة مع مجموعة السيطرة. إذ أن تركيز كلوروفيل– b كان اقل تحسسا للملوثات من كلوروفيل – a عند تركيز ٨٠٠٠ جزء من المليون (ppm) كما استنتجنا أيضا أن زيادة كمية السيانوبكتريا في التربة الملوثة أثرت سلبا في زيادة كمية النيتروجين الجوي المثبت والمؤثر في العمليات الفسلجية للنبات.

المقدمة:

نتيجة سوء استهلاك ونقل النفط أدى إلى تلوث مساحات واسعة من الأراضي الزراعية والغير زراعية والمسطحات المائية بالمنتجات النفطية والنفط الخام ، ومن البديهي أن النفط الخام يتضمن مركبات هيدروكاربونية ذات خصائص مختلفة في الترتيب الكيميائي وهي (الالكانات alkanes مثل methane , ethane والاروماتية aromatics مثل benzene) كما يحتوي النفط الخام على مركبات هيدروكربونية أخرى غير حلقية مثل الكبريت ،نتروجين ، أوكسجين ، إضافة إلى أعداد ضئيلة من المعادن الثقيلة مثل الكادميوم ، الزئبق ، النيكل ، الصوديوم ، البوتاسيوم والفناديوم(١). وعلى ضوء ما سبق يمكن استخدام بعض النباتات كمرحلة من مراحل المعالجة البايلوجية لتنظيف موقع التلوث ، إلا أنها تتطلب وقت أطول ومن الممكن أيضا أن تخزن هذه الملوثات في الأوراق النباتية ثم تتحلل الأوراق بعد سقوطها في التربة لتعيد الملوثات دورتها مرة ثانية.

تشير كثير من الدراسات إلى استعمال النباتات العشبية والبقولية في التنظيف النباتي للملوثات النفطية الهايدروكاربونية (2 ,3) . لذا فأن نتيجةً لحصول التلوث في الأراضي التي تسبب مخاطر بيئية كبيرة هدفت هذه الدراسة إلى استصلاح الأراضي الزراعية الملوثة وإزالة التلوث منها ، ولكون الأراضي المحروثة والمزروعة تكون أسرع في الاستصلاح من الأراضي المتروكة بوراً. كما وإن السيانوبكتريا تلعب دور مهم في زيادة مغذيات التربة والذي يؤدي إلى زيادة في نمو النباتات إضافةً لما لها من دور في تحلل المخلفات النفطية.

المواد وطرائق العمل:

استخدمت في هذه التجربة بذور الحنطة صنف نور و جلبت البذور من مركز أباء للأبحاث الزراعية / تكريت وهي مصدقة ومرقمه من بنك البذور العراقي.

تم اخذ تربة حقلية من حقل زراعي في محافظة صلاح الدين وعلى عمق (٢٠ سم) ثم نعمت بشكل جيد وبعد ذلك تم تحليل التربة لمعرفة عدد من الصفات الكيميائية والفيزيائية (4) . وكما موضح في الجدول (١).

جدول(١): الصفات الفيزياوية والكيميائية لتربة الدراسة والمخلف النفطي

ت	الصفة	التقدير
١	الرمل (%)	%27
٢	الغرين(%)	%٥٤
٣	الطين(%)	%١٩
٤	النسجة	مزيجية غرينية
٥	المادة العضوية	%٤,٩
٦	درجة تفاعل التربة(pH)	٧,٢
٧	درجة التوصيل الكهربائي (EC) ديسي سيمنز/ م	٢,٥٠
٨	المواد الذائبة (TSS)	1.6
9	اللزوجة عند ١٠٠	١٧ انتي ستوك
10	نقطة الوميض	٢١٠
11	الكثافة	٠,٨ غم / سم^3
12	الرطوبة	٢٠٠

وتم وزن ٢ كغم من التربة والمحددة صفاتها مسبقا ومررت من خلال منخل قطر ثقوبه ٢ ملم .

ومزجت معها المخلفات النفطية والموضحة صفاتها في جدول (1) وحسب التراكيز التالية:

١- إضافة (٩,٦) مل من المادة الملوثة لكل ٢ كغم تربة ليصبح التركيز (٤٠٠٠ppm) ملغم / لتر.

٢- إضافة (١٨,٢) مل من المادة الملوثة لكل ٢ كغم تربة ليصبح التركيز (٨٠٠٠ppm) ملغم / لتر.

٣- إضافة (٢٨,٨) مل من المادة الملوثة لكل ٢ كغم تربة ليصبح التركيز (١٢٠٠٠ppm) ملغم/ لتر.

ثم مزجت هذه المخلفات النفطية جيدا مع التربة لتشمل جميع أجزاء التربة وتعتبر عملية المزج هذه بمثابة حرث للتربة لأنه كما معروف أن عملية زرع البذور تحتاج إلى تربة محروثة (5).

وبعد ذلك أخذ (١٢) أصيص وبواقع (٣) مكررات لكل تركيز وكل أصيص يحتوي على (٢ كغم) تربة وزرع فيه (٦) بذرات من الحنطة .مع مجموعة أخرى بدون معاملة والتي تمثل مجموعة السيطرة . ومن ثم أضيف (٥ غم) من السيانوبكتريا المثبته للنتروجين الجوي نوع (*Anabaena Sp & Nostoc Sp.*) لكل أصيص معامل بالمخلفات النفطية ، وتم ري الأصص بمياه النهر غير المعاملة لمحاولة تلافي تأثر نمو السيانوبكتريا بالكلور المستخدم في معالجة المياه.

وخلال فترة النمو تم إجراء بعض القياسات الفيزياوية والكيميائية للنباتات ومنها:

قياس الدالة الحامضية .

تم قياس الدالة الحامضية لمستخلص التربة المائي (١:٣) بعد ضبط ومعايرة الجهاز وحسب الطريقة التي أوردها (6) .

قياس سرعة الانبات.

تم حساب سرعة الإنبات(Germination Speed) حيث اتبعت طريقة (7) لقياس سرعة إنبات البذور(٢، ٤، ٦، ٨، ١٠، ١٢، ١٤، ١٦) يوم من بدء الزراعة وخضعت النتائج للقانون التالي:

$$\text{سرعة الإنبات} = \frac{\text{عدد النباتات النابتة في العد الأول}}{\text{عدد الأيام منذ الزراعة حتى هذا العد}} + \frac{\text{عدد النباتات النابتة في العد الثاني}}{\text{عدد الأيام منذ الزراعة حتى هذا العد}} + \text{الخ}$$

القياسات التي أجريت على النباتات قبل وبعد الحصاد:

١- ارتفاع النبات (سم) : تم قياس ارتفاع النبات عن سطح التربة كل ١٥ يوم حتى شمل أقصى ارتفاع يصله النبات باستخدام المسطرة .

٢- عدد الأوراق الكلي في النبات : تم حساب عدد الأوراق الكلي للأشطاء كافة بالعد المباشر وذلك عند النضج.

٣- عدد الاشطاء/ نبات : حسبت عدد الاشطاء / نبات بالعد المباشر وذلك عند النضج .

٤- عدد السنابل / نبات : تم حساب عدد السنابل في كل نبات بالعد المباشر.

٥- طول السنابل / سم: استخدمت المسطرة لقياس طول السنبلة حتى طرفها البعيد دون سفا.

٦- وزن السنبلة /غم : وزنت السنبلة كاملة باستخدام الميزان الالكتروني واجري القياس لجميع سنابل نباتات المعاملة الواحدة .

٧-الوزن الجاف للمجموع الخضري: تم تقدير وزن المادة الجافة للأجزاء العليا للنبات بجمع المجموع الخضري في أكياس ورقية وتجفيفها في فرن كهربائي مثبت بدرجة (٧٥) مئوية لمدة (٤٨) ساعة وحتى ثبات الوزن .

٨- الوزن الجاف للمجموع الجذري: تم تقدير وزن المادة الجافة للأجزاء السفلى للنبات بجمع المجموع الجذري في أكياس ورقية وتجفيفها في فرن كهربائي مثبت بدرجة (٧٥) مئوية لمدة (٤٨) ساعة وحتى ثبات الوزن .

تقدير الكلوروفيل في الأوراق (ملغم /غم):

قدر الكلوروفيل حسب طريقة (Mac Kinney, 1941) وكما جاء في (8) .

إذ تم أخذ ٠,٢ غم من الأوراق النباتية وتم سحقها مع ٢٠ مل أستون بتركيز ٨٠% بواسطة هاون خزفي ثم اجريت عملية طرد مركزي على بسرعة ٣٠٠٠ دورة/ دقيقة لمدة خمسة دقائق . أخذ الراشح وأكمل الحجم إلى ٢٠ مل أسيتون ثم قرأت الامتصاصية عند طول موجي ٦٦٣ ، ٦٤٥ نانوميتر باستخدام جهاز المطياف نوع shimadzn spectrophotometer . وحسب تركيز الكلوروفيل من المعادلة آلاتية :

$$Chl.b=22.9(A645)-4.68(A6630)*v/100w$$
$$Chl.a = 12.7(A663)-2.699(A645)*v/100*$$
$$Chl\ (a+b)=(Chl.a)+(Chl.b)$$

إذ تمثل v الحجم النهائي للمستخلص .

W الوزن الطري بالغرامات للنسيج النباتي .

وأجريت عملية القياس لثلاثة مكررات من كل معاملة وأخذت الأوراق من جميع نباتات المعاملة الواحدة .

التحليل الإحصائي:

أجري التحليل الإحصائي بموجب إختبار (F) وعلى مستوى معنوية 0.05 و 0.01 (9) .

النتائج والمناقشة:

يوضح الجدول (2) أن زيادة تراكيز المخلفات النفطية أدت إلى زيادة في سرعة الإنبات أكثر مما هو عليه في مجموعة السيطرة وهذا ما أكده (10) عند استعمال نبات الذره. فقد يكون السبب في سرعة الإنبات هو كما أشار إليه (11) إن تلوث التربة بالنفط يحفز نمو النبات وعلل ذلك السبب زيادة وفرة النتروجين في التربة الملوثة بالنفط. ونتيجة لاستخدام بعض أنواع السيانوبكتريا المثبتة للنتروجين الجوي في التجربة. أدى إلى زيادة في نسبة النتروجين لذلك حصلت زيادة في سرعة الإنبات.

جدول (2): يبين مواعيد الإنبات (يوم)

تاريخ الزرع	السيطرة	4000 ppm	8000 ppm	12000 ppm
٢٢/١١/٠٥	٣/١٢/٠٥	٢/١٢/٠٥	٣٠/١١/٠٥	٢٩/١١/٠٥

أما فيما يتعلق في زيادة نمو النبات وكما موضح في الجدول (٣). نلاحظ أن زيادة تركيز المخلفات أدى إلى انخفاض في طول النبات وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها (12).

جدول (٣): يبين ارتفاع النباتا ت (سم)

التاريخ	السيطرة	4000 ppm	8000 ppm	12000 ppm

٠٦/١/١٢	٦,٦	٧,٥	٦	٥,٨
٠٦/١/٢٧	١٣,٦	١٣,٢	١٣	١٢,٢
٠٦/٢/١٢	٢٧,٧	٢٥,٥	٢١,٥	١٦,٨
٠٦/٢/٢٧	٣٤,٤	٣٤,٠	٢٥,٣	١٩,٥
٠٦/٣/١٢	٣٦,٨	٣٤,١	٢٦,٢	٢٠,٠
٠٦/٣/٢٧	٤٧,٨	٣٥,٦	٢٧,٥	٢١,٥

أما زيادة نسبة النتروجين المثبت من قبل السيانوبكتريا أدى إلى زيادة نسبة الامونيا المتكونة في التربة والتي أدت إلى نقص في طول النبات وكما موضح في الصورة (١).

صورة (١): بعد (٣ اشهر) من الزراعة

وهذا ما أكده (13) والذي أشار إلى وجود تأثير معنوي للسماد النتروجيني في إحداث ارتفاع أو نقص في طول النبات ويزداد هذا النقص مع زيادة تركيز الامونيا.وأيضا ما أكده (14) أن النبات لا ينجح في النمو في المواقع التي يكون فيها تركيز النفط عالياً. وقد يعود سبب انخفاض طول النبات إلى التأثيرات السمية لتراكيز العالية للعناصر الثقيلة والتي تتواجد عادة في المخلفات النفطية والتي أدت إلى انخفاض في طول المجموع الخضري للنبات وهذا ما فسره (15) وايضاً ما أكده (16). أن المعادن الثقيلة تلعب دور قوي في أنتاج الاندول وحامض الخليك والذي بدوره يؤثر في عملية تكوين الأحماض الامينية وبالتالي فأنها تؤثر على نمو واستطالة الخلايا ، أظهرت نتائج التحليل الإحصائي بموجب اختبار (F) بعدم وجود فروق معنوية بين مجموعة السيطرة والمجموعات الأخرى وعلى مستوى معنوية 0.05 و 0.01 .

من المعلوم أن للزنك دور كبيرالتاثير في عدد من الجوانب الفسلجية والكيمياوية للنبات فاذا كانت نسبة الزنك بمستوى (٠,١ أو ٠,٢) ملي مول/كغم تربة سوف تؤدي إلى زيادة نمو النبات ولكن إذا زادت عن هذه المستويات وحسب تراكيز العنصر سوف يؤدي إلى انخفاض في مستوى النمو للنبات (17).

وكما موضح في الجدول(٤) نلاحظ أن نتائج تركيز ppm٤٠٠٠ كانت مقاربه لمجموعه السيطرة وذلك قد يكون بسبب تركيز الزنك عن بقية التراكيز لهذا نلاحظ كلما زاد التركيز انخفض معدل النمو.

أما الانخفاض في الحاصل والكاربوهيدرات (البذور) للنبات قد يكون بسبب وجود الكادميوم في المخلفات النفطية (18). علماً انه وجود تركيز(٠,١ أو ٠,٢) ملي مول / كغم من الكادميوم في التربة يؤدي إلى انخفاض في مستوى الماء النسبي وفي الحاصل والكاربوهيدرات (17) وبما أن تركيز الكادميوم في المخلفات عالي فانه اثر سلباً في النتائج المثبتة في جدول (٤).

جدول (4): يبين بعض الصفات المظهرية لنباتات الحنطة صنف(نور)

الصفة	السيطرة	4000 ppm	8000 ppm	12000 ppm
عدد الأوراق	12	9.5	8	7
عدد الاشطاء	1.5	1	1	1
عدد السنابل	6	6	6	3
وزن السنبلة / غم	0.5	0.09	0.03	0.03
طول السنبلة / سم	6.3	4.3	2.7	2.2
الوزن الجاف للمجموع الخضري / غم	3.5	2.6	1.2	0.7
الوزن الجاف للمجموع الجذري / غم	1.07	0.49	0.61	0.26

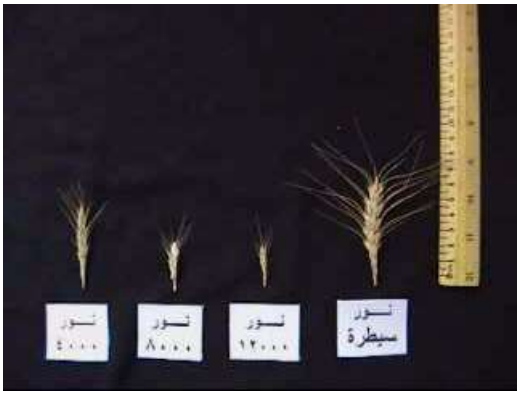
وايضاً يتفق مع ما أشارت أليه (17) إلا أن وجود العناصر الثقيلة (الرصاص ، الزنك ، الكادميوم والنيكل) بتراكيز عالية في التربة سوف يؤدي إلى انخفاض معنوي في عدد الاشطاء .

وايضاً اتفق مع ما ذكره (10) من أن النفط الملوث للتربة يعمل على منع دخول الهواء إلى التربة ويؤدي ذلك إلى اختناق النبات وبالتالي يسبب نموها بشكل ضعيف .

وقد يعود السبب في جميع هذه التغيرات والاضطرابات هو الاضطرابات في هرمونات النمو وعلامات التسمم مثل ضعف النبات وتقزمه (19) أظهرت نتائج التحليل الإحصائي بموجب اختبار (F) بعدم وجود فروق معنوية بين مجموعة السيطرة والمجموعات الأخرى وعلى مستوى معنوية 0.05 و 0.01 .

أما انخفاض المجموع الجذري قد يعود سببه كما ذكره (20) إلى أن احتواء المخلفات النفطية على العناصر الثقيلة يؤدي إلى تراكم هذه العناصر في الأنسجة النباتية للجذور مما يؤدي إلى انخفاض في معدل النمو للجذور ، وايضاً اثر سلباً في طول السنابل ووزنها وكما موضح في الصورة (٢).

صورة (٢): تبين طول السنابل بعد الحصاد



أما انخفاض كميه الكلوروفيل a كما موضح في الجدول (٥) قد يكون سببه اختزال صفائح الكرانا بتأثير المعادن الثقيلة والتي تعمل أيضاً على تحطيم البروتوبلاست للنبات (19) وهذا يتفق أيضاً مع ما أكده

(21) بأنَّ المعادن الثقيلة تؤدي إلى تثبيط نمو البلاستيدات في أوراق نبات الحنطة.

جدول (٥): يبين كمية الكلوروفيل (a &b)في نبات الحنطة نور

نوع الكلوروفيل	السيطرة	4000 ppm	8000 ppm	12000 ppm
كلوروفيل a	٠,٩٦١	٠,٧٢٢	٠,٩٠١	٠,٨٣٧
كلوروفيل b	٠,٩٦٢	٠,٨٥٣	٠,٩٣٨	٠,٦٨٣

أما كمية كلوروفيل b فنلاحظ أن تركيزه في ٨٠٠٠ppm مقارب إلى مجموعة السيطرة قد يعود كما ذكر من قبل (22).

ان كلوروفيل b اقل حساسية بتاثيرة بالنفط مما هو عليه في كلوروفيل a ، وقد يكون السبب هو ان مركبات النفط الطياره التي يمتصها النبات تخرج من ثغور الأوراق مثل مركب naphthalene الطيار والذي يؤثر سلباً في كمية الكلوروفيل (23) .

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي بموجب اختبار (F) بعدم وجود فروق معنوية بين مجموعة السيطرة والمجموعات الأخرى وعلى مستوى معنوية 0.05 و 0.01 .

وايضاً استغلال السيانوبكتريا ظروف التربة اللاهوائية وبسبب انخفاض الأوكسجين منها نتيجة لتلوث بالمخلفات أدى الى زيادة نسبه النتروجين وسبب الظروف اللاهوائية أدى الى تكوين كمية كبيرة من الامونيا والتي أثرت سلباً في كمية الكلوروفيل.

لهذا نوصي بحرث الترب الملوثة بالمخلفات النفطية ولفترات متعاقبة لغرض تهويتها والتخلص من أثار العناصر الثقيلة قبل زراعتها. وايضاً إعطاء الأحياء المجهرية فرصة أطول لتقليل تركيز العناصر.

المصادر:

1. Baxendell, G.W. (199٢) phytoremediat: on the world 1(12) 260 – 263.
2. Qiu, X; Leland, T.W; Shah, S.I; Sorensen, D.L and Kendall, E. W. (1997). "Field study: Grass remediation for clay soil contaminated with polcyclic aromatic hydrocarbons" in phyto remediation of soil and water contaminates, 186-199. E.L kruger, T.A Anderson, J,R. Coats(eds), Washington, D.C., American chemical society.
3. Reillay, K.A., Banks, M.K. and schwab, A.P. (1996) Organic chemical in the environment: dissipation of polycyclic aromatic: hydrocarbons in the rihzosphiry. Joun. Of Environment 25: 122- 219.
4. Black, C.A. 1965. Methods of soil analysis part 2.Chemical properties No.9 in the Series Agronomy Amer. Soc. Agron .Madison Wisconson U.S.A.
5. Farrell, S.,Hillard, and Mccurdy, M.(2002). Unassisted and enhanced remediation studies for onshore oil spill: concept development. Louisiana Tech. University. Technical Report Series

٦.غلوم ، عبد الأمير (١٩٧٧). تأثير موعد وكثافة الزراعة على الصفات الكمية والنوعية للفاصوليا الخضراء *Phaseolus vulgaris* . رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد– العراق.

7. Richard, I.A. (1969). Diagnosis and improvement of saline and alkali Soil. V. S. Dep. Agri. Hand book.

٨.هرمز ، غريبة هرمز دانيال (٢٠٠٢). دور درجات الحرارة وبعض مثبطات تصنيع البروتين في تحمل نبات الحنطة *Triticum aestivum* L. للبرودة . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل .

٩.الغرابي ، سليم اسماعيل و سيفي ، علي محمد صادق (١٩٨٥) مباديء الإحصاء ، مطبعة جامعة بغداد .

10. Udo ,E.J.,and A.A.A. fayemi. (1975). The effect of Oil pollution of soil on germination,growth and nutrient uptake of Corn.J. Environ. Qual. 4 :537-540.
11. Don, p.p. (1987). Differential responses of perennial salt marsh plant, to Oil pollution ph.D. thesis. London. Imperial College of Science and Technology.

١٢. الطائي ، داوود سالم عيدان عبد النبي (٢٠٠٥).تحديد قابلية بعض النباتات المحلية على مقاومة وإزالة النفط الخام من التربة ،رسالة ماجستير ،كلية العلوم –الجامعة المستنصرية .

١٣. الدليمي ، مؤيد يونس (١٩٩٨) تأثير المحتوى الرطوبي والنتروجين للتربة في النمو الجذري والخضري والحاصل ومكوناته لخمس أصناف من الحنطة، أطروحة دكتوراه، كلية التربية– جامعه الموصل.

14. Lee,E. and Banks, M,K., (1993).Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation : A microbial study ,J. Environ.Sci. Health A28,2187-2198.
15. Veselov ,D.; Kudoyarova , G.; Symonyan , M and Veselov, st (2003) Effect of Cd on ion uptake, Transpiration and cytoinin. Content in wheat seedlings. J Bulg plant physiol.,353-359.
16. Sinna ,S ; Gupta, M. and Chandra, p(1997)Oxidative stress induced by iron In: Hydrilla Verticality (I.f) royle :response of antioxidants. Ecotoxicology and environmental safe ., 38:286-291 .

١٧.الطائي ، فرح صبحي صالح (٢٠٠٦). دراسات بيئية عن الاستجابات الفسلجية لنباتات الحنطة النامية في ترب ملوثة ببعض العناصر الثقيلة ، رسالة ماجستير ،كلية التربية –جامعة الموصل ..

١٨. هوجز، لورنت(١٩٨٩).ترجمه محمد عمار الراوي وعبد الرحيم محمد عشير. التلوث البيئي – جامعة بغداد.

19. Vassilev ,A. (2003) Physiological and agroecological aspects of cadmium interactions with Barley plants :Anoverview .J Central European Agriculture . 4(1):65-75.
20. Hall,J .L.(2002).Cellular Mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. J.Exp.Bot.,53(366):1-11.
21. Mesmar, M.N and Jaber, K(1991) The toxic effect of lead on seed germination, growth,

23. Wiltse, C. C., Rooney, W.L., Chen, A., Schwab, A.P. and Banks, M.K. (1998), "Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among alfalfa genotypes, " J.Env. Qual.27, 169-173.
chlorophyll and protein contents of wheat and Lens. ACTA. Biol .Hung.,42(4):331-344.
22. Vassilev,A and Yordanov , I (1997) Reductive analysis of factors limiitinc growth of cadmium-treated plants:A review .J Bulg plant physiol.,23(3-4):114-133.

The role of cyanobacteria in the pollutant soil of remnants oil and cultured by wheat *Triticum aestivum* type Noor seeds

Nihad Abid Mohammed

Department of Biology, College of Science, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

Abstract:

The present study measured some of physiological factors resulting from the pollution of the soil by different concentrations of oil residue and planted with the wheat type Noor, from 2005 – 2006 and it is added some types of nitrogen fixing cyanobacteria.

From this study a result has been show that oil residues affected in two contrasted points. The first effect led negatively to the prolonged plant to the normal situation compared with the control group. Chlorophyll-b are less sensitive upon the pollution than the Chlorophyll-a in concentration 8000 ppm and we have also inferred that the increase in quantity of cyanobacteria was affected negatively because it causes the increase on nitrogen fixing which has an impact on the physiology operations of the plant.