كفاءة عزلات بكتريا الازوتوباكتر في تثبيت النتروجين الجوي تحت ظروف الإجهاد الملحي*

نجوى رحيم سعيد

أ.م .د عبد الزهرة طه ظاهر

قسم علوم التربة والموارد المائية / كلية الزراعة / جامعة البصرة / العراق

الخلاصة

عزلت بكتريا الازوتوباكتر من عينات التربة والرايزوسفير ذات ايصالية كهربائية مختلفة ومن مناطق مختلفة من محافظة البصرة باستخدام وسط السكروز الخالي من النتروجين وتم اختبار قدرتها على النمو في التراكيز الملحية المختلفة ١%و٢و٣%و٤%و٥%و٦%و٧%و٨%و٩%و١٠%، بإضافة ملح NaCl الى الوسط الزرعي الخالي من النتروجين ثم خططت العزلات على الوسط الصلب المائل وحضنت بدرجة حرارة ٢٨ م لمدة ثلاثة أيام كذلك قيست كفاءة هذه العزلات في تثبيت النتروجين الكلي في الوسط الملحي الاخير الذي نمت فية العزلة والتركيز الذي قبلة أظهرت النتائج ان العزلة A24 استطاعت النمو عند تركيز الملحي ١٠% اما العزلات A5وA22 فقد نمت عند التركيز ٩% . وتميزت العزلة A24 في تثبيت النتروجين بمعدل ٧,٤٢و٥,٤٦ملغم N.لتر$^{-1}$ عند التراكيز ٩%و١٠% على التوالي في حين تمكنت العزلات A5وA22في تثبيت كمية من النتروجين قدرها ٦,١٦و ٥,٣٢ملغم N.لتر$^{-1}$ عند التركيز الملحي ٩% على التوالي .

الكلمات المفتاحية : ازوتوباكتر ، تثبيت النتروجين ، التحمل الملحي ، البكتريا الرايزوسفيرية المشجعة لنمو النبات

المقدمة

تعاني الكثير من مناطق العالم من مشكلة التملح ، فثلث الأراضي الزراعية حول الكرة الأرضية متأثرة بالملوحة (Qadir *et al.*,2000) تؤثر ملوحة التربة على نمو النبات بعدة طرق منها التأثير الضارة لملوحة ماء الري الذي يؤدي الى تراكم الاملاح في التربة والتي تعمل على اختزال العناصر

*البحث مستل من رسالة طالب الماجستير للباحث الاول

الجاهزة ،وتأخر الانبات وبطئ معدل النمو والذبول المبكر و تقزم النبات (Nawadkar *et al.*,2015).

توجد العديد من الطرق المستخدمة في استصلاح الترب الملحية منها الكيميائية والفيزيائية والحيوية تتضمن الطرق الحيوية استخدام أجناس بكتيرية متحملة للملوحة مثل جنس بكتريا الازوتوباكتر حرة المعيشة في التربة ، والمثبتة للنتروجين وهي من البكتريا الرايزوسفير المشجعة لنمو النبات rhizobacteria Pant growth Promoting (PGPR) والتي تعمل على زيادة معدل انبات ونمو الجذور والانتاج والمساحة الورقية (Ashraf *et al.*,2011) .

اذ ان التلقيح بهذه البكتريا يؤدي الى زيادة مقاومة النبات للملوحة من خلال انتاج الهرمونات المختلفة وتجهيز العناصر الغذائية، فضلاً عن انها تعمل على زيادة نمو النبات وتحسين اداءة تحت الشدود الملحية مما يؤدي زيادة الإنتاج (Shin *et al.*,2016)

اشار (Abd El –Ghany *et al.*,2015) ان بكتريا الرايزوسفير المشجعة لنمو النبات تضم اجناس عديدة منها Agrobacterium و Alcaligenes و Arthrobacter و Azotobacter و Bacillus و Pseudomonas و Rhizobium و Bradyrhizobium و Erwinia و Enterobacter و Cellulomonas و Flavobacterium و Streptomyces و Xanthomonas هذه الاجناس ذات اهمية في العمليات الحيوية والكيميائية والتي تشمل عملية التثبيت الحيوي للنتروجين واذابة المعادن . اذ ان التلقيح بهذه البكتريا يؤدي الى زيادة مقاومة النبات للملوحة من خلال انتاج الهرمونات المختلفة وتجهيز العناصر الغذائية، فضلاً عن انها تعمل على زيادة نمو النبات وتحسين اداءة تحت الشدود الملحية مما يؤدي زيادة الإنتاج (Shin *et al.*,2016)

ان بكتريا الازوتوباكتر لها القدرة على تثبيت النتروجين الجوي حيوياً و تجهيز الحديد من خلال السايديروفورات والفسفور الذائب والزنك وافراز البرولين والسكريات المتعددة وافراز حامض السلسليك وبذلك تعمل على تحسين نمو النبات في ظروف الاجهاد الملحي 0mer (*et al.* ,2016) .

أشار (Nawadkar *et al.*,2015) ان عزلات بكتريا الازوتوباكتر ذات قدرة على النمو بتراكيز ملحية تصل الى ٧%من ملح NaCl .

اشار (Bouchotroch *et al.*, (2001) ان تحمل العزلة البكتيرية للضغط الازموزي العالي قد يعود الى امتلاكها ميكانيكية تمكن الخلية من خلالها تقليل تأثير الضغط الازموزي وذلك من خلال

افرازها لمواد المقاومة الازموزية مثل السكريات المتعددة الخارجية والحامض الاميني البرولين التي ترفع الضغط الازموزي داخل الخلية لغرض مجابهة ارتفاعه خارج الخلايا وبذلك تعمل على حماية الخلية من خلال ما يسمى بالOsmo protection .

يهدف البحث الى عزل بكتريا الازوتوباكتر من بعض الترب الملحية وقياس كفاءتها في تثبيت النتروجين الجوي في الوسط الزرعي الحاوي على تراكيز ملحية مختلفة .

المواد وطرق العمل

جمعت عينات التربة والرايزوسفير للنباتات النامية في ترب ذات ملوحة مختلفة من عدد من المناطق التابعة لمحافظة البصرة ومن العمق ٥- ١٠ سم من سطح التربة ووضعت في أكياس بلاستيكية معقمة ونقلت الى المختبر الجدول (١) .

جدول (١) مناطق اخذ عينات التربة

التسلسل	المنطقة	النبات المزروع	الايصالية الكهربائية بوحدة dsm^{-1}	رمز العزلة
١	ابو الخصيب	الجت	9.16	A2
٢	ابو الخصيب	الجت	٩,١٦	A5
3	القرنة	الذرة الصفراء	٠,٧٧	A8
4	الفاو	تربة	١٧	A12
5	ابو الخصيب / السبيليات	تربة	١٠	A15
6	كرمة علي	تربة	٥٠,١	A18
7	كرمة علي	تربة	٥٠,١	A19
8	كرمة علي	عينة ماء	٣٠	A21
9	هارثة	عينة تربة	٦٣,٤	A22
10	كرمة علي	عينة تربة	٥٠,١	A23

*البحث مستل من رسالة طالب الماجستير للباحث الاول

11	كرمة علي	نبات القصب	٥١,٥	A24

عزل بكتريا الازوتوباكتر

عزلت بكتريا الازوتوباكتر من عينات التربة والمياه على وسط Sucrose Minerial salt الخالي من النتروجين اذ اخذت ١٠ غم من عينات التربة او تربة الرايزوسفير او ١٠ مل من عينة المياه واضيفت الى ٩٠ مل من ماء الحنفية المعقم ورجت لمدة ١٠ دقائق وحضرت سلسلة التخافيف من 10^{-1} الى 10^{-6}، نشر ١مل من التخافيف في اطباق بتري معقمة واضيف لها الوسط الزرعي المنصهر بعدها حضنت الاطباق بدرجه حرارة ٢٨م ولمدة أربعة أيام وعند ظهور مستعمرات بكتريا الازوتوباكتر تم إعادة تخطيطها على نفس الوسط الزرعي الصلب مرتين للحصول على مستعمرات نقية حفظت المستعرات النقية على نفس الوسط الزراعي المائل (Sharma,2003) وبهذه الطريقة تم الحصول على ١١ عزلة لبكتريا الازوتوباكتر والمؤشرة رموزها في الجدول (١) وتم تشخيص عزلات بكتريا الازوتوباكتر الى الانواع التابعة لها بدراسة صفاتها المجهرية والزرعية والكيموحيوية حسب Jimenez *et al.*,2011) و Holt *et al.*,1994)

تحمل عزلات بكتريا الازوتوباكتر للتراكيز الملحية

حضر الوسط الزرعي Sucrose Minerial salt المائل الحاوي على تراكيز ملحية بنسبة ٠% و١% و٢% و٣% و٤% و٥% و٦% و٧% و٨% و٩% و١٠% لملح NaCl لقحت الأوساط الزرعية المائلة بعزلات بكتريا الازوتوباكتر النقية بواسطة اللوب وحضنت بدرجة حرارة ٢٨ م° لمدة ثلاثة أيام ان نمو البكتريا على الوسط الزرعي الحاوي على ملح NaCl تؤخذ كنتيجة موجبة Akhter *et al.*,2012)

كفاءة عزلات بكتريا الازوتوباكتر في تثبيت النتروجين الجوي في الاوساط الملحية

حضر وسط السكروز السائل الخالي من النتروجين والمعامل بتراكيز مختلفة من ملح NaCl الى حد التركيز الذي اعطي نتيجة موجبة لأختبار تحمل الملوحة وكذلك التركيز الملحي الذي قبلة مع وضع أوساط غير معاملة بملح NaCl كعينة مقارنة ،لقحت الأوساط ب ١مل من لقاح عزلات بكتريا الازوتوباكتر بتركيز ٥ × 10^{-8} خلية بكتيرية. مل$^{-1}$ ثم رجت الأوساط باليد وضعت في الحاضنة بدرجة حرارة ٢٨م لمدة ١٢ يوم وبعدها وضعت في الحمام المائي وعلى درجة حرارة٦٠ م لغرض التجفيف ثم هضم الوسط بالخليط الحامضي ٩٦% حامض الكبريتك المركزو ٤% حامض البيركلوريك (Bremner,1970) بعدها قدر النتروجين الكلي في الوسط بطريقة كلدال حسب (FAO,2008).

النتائج والمناقشة

اوضحت النتائج ان عزلات البكتريا المختبرة لم تتمكن من النمو في وسط بيرك ووسط البيتون بينما استطاعت النمو في درجة ٣٧ م ° واوساط ١% كلوريد الصوديم و ٠,١ فينول وقادرة على انتاج الكتاليز والاوكسديز ، وانها قادرة على استغلال المصادر الكاربونية (السكروز والكلوكوز والفركتوز والمانتول والسترات لكنها لم تستطيع استغلال الراميnوز وان جميع العزلات حللت الجيلاتين عدا العزلتين A21,A12 واختزلت النترات عدا العزلات A15,A21,A19 وحللت النشأ عدا العزلتين A19 و A15 وهذة المواصفات تتطابق مع الصفات الزرعية والمجهرية والكيموحيوية للنوع A .chroococcum (Jimenez *et al.*,2011) الجدول (٢،٣،٤)

كذلك اختلفت العزلات البكتيرية التابعة لبكتريا الازوتوباكتر في قدرتها على النمو في الأوساط الزرعية الحاوية على التراكيز الملحية المختلفة فقد تمكنت العزلة A24 من النمو في اعلى تركيز ملحي ١٠% لتمثل ٩,٠٩ % من العزلات، في حين استطاعت العزلات A15 و A19من النمو في تركيز ٢% كحد اعلى وتراوحت بقية العزلات في نموها بين هذين التركيزين كذلك استطاعت عزلات بكتريا الازوتوباكتر A5 و A22 و A24 من النمو في الأوساط الزرعية الحاوية على التركيز ٩% لتمثل نسبة ٢٧,٣% من مجموع العزلات جدول(٥) .

هذه النتائج تتفق مع توصل اليه (Akhter *et al.* 2012) من ان بعض سلالات بكتريا الازوتوباكتر تستطيع تحمل التركيز الملحي ١٠%

جدول (٢) الصفات الزرعية لعزلات بكتريا الازوتوباكتر

رمز العزلة	حافة المستعمرة	الشكل	اللمعان	الشفافية	القوام	اللون	قطر المستعمرة (ملم)
A2	كاملة الحافة	محدبة	لماعة	غير شفافة	لزجة	حليبي	٧
A5	كاملة الحافة	محدبة	لماعة	شفافة	لزجة	عديمة اللون (مائية)	٨
A8	كاملة الحافة	محدبة	لماعة	شفافة	لزجة	عديمة اللون (مائية)	٨
A12	كاملة الحافة	محدبة	لماعة	غير شفافة	جلاتيني	تميل للبياض	٥
A15	كاملة الحافة	مسطحة	لماعة	غير شفافة	جلاتيني	أبيض	٦
A18	كاملة الحافة	محدبة	لماعة	شفافة	لزجة	عديمة اللون (مائية)	٣
A19	غير كاملة	قبية	لماعة	شفافة	لزجة	عديمة اللون (مائية)	١
A21	كاملة الحافة	محدبة	غير لماعة	غير شفافة	لزجة	عديمة اللون (مائية)	١
A22	كاملة الحافة	محدبة	لماعة	شفافة	لزجة	عديمة اللون (عديمة اللون)	٤
A23	كاملة الحافة	مسطحة	لماعة	غير شفافة	جلاتيني	عديمة اللون (مائية)	٤
A24	كاملة الحافة	قبية	لماعة	شفافة	لزجة	عديمة اللون (مائية)	٢

*البحث مستل من رسالة طالب الماجستير للباحث الاول

جدول (٣) الصفات المجهرية لعزلات بكتريا الازوتوباكتر

رمز العزلة	صبغة كرام	الحركة	شكل الخلايا	تكوين الحويصلة	تجمع الخلايا
A2	سالبة	متحركة	كروية	مكونة للحويصلة	سلاسل
A5	سالبة	متحركة	عصوية	مكونة للحويصلة	ازواج
A8	سالبة	متحركة	عصوية	مكونة للحويصلة	ازواج
A12	سالبة	متحركة	دائري	مكونة للحويصلة	سلاسل
A15	سالبة	متحركة	عصوية	مكونة للحويصلة	مفردة
A18	سالبة	متحركة	كروي	مكونة للحويصلة	سلاسل
A19	سالبة	متحركة	دائرية	مكونة للحويصلة	ازواج
A21	سالبة	متحركة	عصوية	مكونة للحويصلة	مفردة
A22	سالبة	متحركة	دائرية	مكونة للحويصلة	ازواج
A23	سالبة	متحركة	عصوية	مكونة للحويصلة	سلاسل
A24	سالبة	متحركة	كروي	مكونة للحويصلة	سلاسل

*البحث مستل من رسالة طالب الماجستير للباحث الاول

جدول (٤) الاختبارات الكيموحيوية لعزلات بكتريا الازوتوباكتر

رمز العزلة	النمو في درجة حرارة ٣٧ °م	النمو في ١% كلوريد	النمو في ٠,١ % فينول							استهلاك المصادر الكاربونية						
									اختزال النترات	السكروز	الكلوكوز	الفركتوز	الرامينوز	المانتول	السترات
A2	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+
A5	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+
A8	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+
A12	+	+	+	–	–	–	+	+	+	+	+	+	–	+	+
A15	+	+	+	–	–	+	–	+	–	+	+	+	–	+	+
A18	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+
A19	+	+	+	–	–	+	–	+	–	+	+	+	–	+	+
A21	+	+	+	–	–	–	+	+	–	+	+	+	–	+	+
A22	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+
A23	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+
A24	+	+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+

(+) نتيجة موجبة (ـ) نتيجة سالبة

*البحث مستل من رسالة طالب الماجستير للباحث الاول

جدول (5) نمو عزلات الازوتوباكتر في تراكيز مختلفة من ملح NaCl

رمز العزلة	تراكيز ملح NaCl%										
	Control	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A2	++++	++++	+++	++	−	−	−	−	−	−	−
A5	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	−
A8	+++	++	+	++	++	+	+	+	+	−	−
A12	++	++	++	++	+	−	−	−	−	−	−
A15	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
A18	++++	++++	+++	++	++	+	−	−	−	−	−
A19	++	++	++	−	−	−	−	−	−	−	−
A21	++	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
A22	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	−
A23	++	++	++	++	+	+	+	+	−	−	−
A24	++++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+

+ وجود نمو − عدم وجود نمو

أوضحت النتائج ان العزلة A2 كانت أكفا العزلات في تثبيت النتروجين بمعدل ١٥,٨٢ ملغم .لتر$^{-1}$ في معاملة المقارنة غير المعاملة بملح NaCl في حين اعطت العزلةA8 اقل معدل لتثبيت النتروجين الجوي ٥,٨١ ملغم .لتر $^{-1}$ كذلك يلاحظ ان العزلات المختلفة قد تباينت في كفاءتها في تثبيت النتروجين الجوي في الاوساط المعاملة بملح NaCl اعتماداً على صفة التحمل الملحي لكل عزلة فالعزلاتA24, A22,A5 ثبتت النتروجين الجوي بمعدل ٧,٤٢،٥,٣٢،٦,١٦ ملغم .لتر$^{-1}$عند المستوى الملحي ٩% على التوالي . كذلك فأن العزلة A24 استطاعت النمو في المستوى الملحي ١٠%وتثبت النتروجين الجوي بكمية ٥,٤٦ ملغم لتر $^{-1}$ جدول (٦). هذه النتائج تتفق

مع وجد حسن (٢٠١٣) ان بكتريا الازوتوباكتر المتحملة للملوحة استطاعت ان تنمو في وسط تركيزة الملحي ٦% وتثبت النتروجين بكمية٦,٧٠ ملغم N . غم $^{-1}$.

وجد (2009) Kizilkaya, ان بكتريا الازوتوباكتر استطاعت ان تثبت النتروجين بمعدل ٣,٥٠-٢٩,٣٥ مايكروغرام N. مللتر $^{-1}$ في الوسط الزرعيAshby

جدول (٦) كفاءة عزلات بكتريا الازوتوباكتر في تثبيت النتروجين في الوسط الزرعي الحاوي على تراكيز مختلفة من ملح Nacl

رمز العزلة	معدل النتروجين الكلي المثبت في عينة المقارنة غير المعاملة NaCl (ملغم .لتر $^{-1}$)	معدل النتروجين الكلي المثبت في التركيز الملحي قبل الأخير الذي نمت فيه العزلة (ملغم .لتر $^{-1}$)	معدل النتروجين الكلي المثبت في التركيز الملحي الأخير الذي نمت فيه العزلة (ملغم .لتر $^{-1}$)
A2	15.82	15.12	9.24
A5	13.16	6.58	6.16
A8	5.18	٦,٨	5.04
A12	7.28	7.7	6.02
A15	13.72	8.4	6.02
A18	6.74	٦,٠	5.6
A19	١5.76	11.38	11.06
A21	12	4.62	8.12
A22	10.08	7.56	5.32
A23	10.1	6.3	5.6
A24	7.28	7.42	5.46

*البحث مستل من رسالة طالب الماجستير للباحث الاول

الاستنتاجات

1- اختلفت عزلات بكتريا الازوتوباكتر في صفة تحملها للتراكيز الملحية المختلفة واستطاعت العزلات A5 و A22 و A24 من النمو بالتركيز ٩% NaCl .

٢- اختلفت عزلات بكتريا الازوتوباكتر في تثبيت النتروجين في الاوساط الزرعية المعاملة بملح NaCl وتميزت العزلات A5 و A22 و A24 في تثبيت اكبر كمية من النتروجين في التركيز الملحي ٩% .

المصادر

حسن ،كريم عبيد (٢٠١٣).دراسة نمو البكتريا المتحملة للملوحة ومقدرتها في تثبيت النتروجين الجوي في اوساط ملحية ،مجلة ديالى للعلوم الزراعية ٥(٥):٢٤٠-٢٤٥.

-Abd-Ghany , T.M.; Masrahi , Y.S.; Mohamed , A.; Abboud, A.; Alawlaqi, M.M. & Elhussieny N. (2015). Maize (*Zea mays L.*) growth and metabolic dynamics with plant growth promoting rhizobacter under salt stress. J. Plant Pathol. Microbiol.,6(9): 2-9.

Akhter, M. S. ;Hossain, S.J. ;Hossain ,S. A. &Datta ,R.K.(2012). Isolation and characterization of salinity tolerant Azotobacter SP. Greener J.Biol.Sci.,2(3): 043-051.

Ashraf, M. A. ; Rasool, M. & Mirza, M.S. (2011).Nitrogen fixation and indole acetic acid potential of bacteria isolated from rhizosphere of sugarcane (*Saccharum officinarum L.*).Adv. in Biol. Res.,5(6):348-355.

Bouchotroch ,S.;E.Quesada ;A .D. Moral; I. Liamas and V .Bejar (2001) Halomonas maura sp. Nov., anovel moderately halophilic ,exopolysaccharide producing bacterium .Int.J.Syst.Evol.Microbiol.51:1625-1632.

Bremner ,J.M.(1970).Regular Kjeldahl Methods. In: A. L. Page; R. H. Miller and D.R. Kenny (1982) (eds.) Methods of Soil Analysis Part 2,2nd .ASA. Inc. inadison , Wisconsin, U.S.A. 1309pp.

FAO (2008) Environment Assesmement of Irrigation and Drainage project paper 53.

Holt ,J.G.; N.R. Kreig ; P.H. Sneath; J. Staley and S.T. Williams (1994).Bergeys Manual for Determinative Bacteriology .9th ed. Williams and Wilkins U.S.A.P.93,151-155.

Jimenez, D. J. ;J .S. Montana and M.M. Martinez (2011). Characterization of free nitrogen fixing bacteria of genus Azotobacter in organic vegetable-grown Colombian Soil. Brazilian Journal of Microbiology.42:846-858.

Kizilkaya, R.(2009). Nitrogen fixation capacity of Azotobacter spp. strains isolated from soils in different ecosystems and relationship between them and microbiological properties of soils. J.Environ.Biol.,30(1): 73-83.

Nawadkar, R.B., Jadhav, D. B. & Shaikh, N.R.(2015).Isolation of Azotobacter spp. from saline soil and its application on wheat (*Tritium aestivum*) plant for future use in reclamation of saline soil with wheat plant. Res. J. of Life Sci. Bioinformatics Pharmaceutical and Chem. Sci., 1(2):62-73.

Omer,A.M.;Emara,H.M.;Azoghlout, R.; Abdel. R.; Momen ,M.O.& Dawwan, G.H.(2016). Potential of Azotobacter salinesris as plant growth promoting rhizobacteria under saline stress conditions. Res. J. of pharmaceutical, Biol. and Chem. Sci.,7(6):2572-2582.

Qadir, M. ;Ghafoor, A. &Mustafa ,G.(2000).Amelioration strategies for saline soils :areview land Degrad .Dev.,11:501-521.

Sharma, A.K.(2003).Bioferilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios ,India.

Shin, W. ;Siddikee, M.M.; Joe, B. A.;Selvakumar,G.;Kany ,Y.;Jeo ,S., Samaaddar, S.; Chatterjee, P.; Walitang ,D.; Canratana ,M. & Sa, T. (2016). Haloterlant plant growth promoting bacteria mediated salinity stress ameliorate in plant .Korean J. Soil Sci.Fert.,49(4):355-367.

nitrogen fixation Efficiency of Azotobacter isolates under saline conditions .

Najwa Raheem saeed **Abd Al-Zahra Taha Thaher**

Dept. Soil Sci. And Water Res.,Coll. Agric. Univ. Basrah, IRAQ

Summary

Azotobacter bacteria were isolated from different soil and rhizosphere samples with different electrical conductivities, from various regions of Basrah govemorate using nitrogen free sucrose medium and determined their ability to grow in various saline concentrations were 1%,2%,3%,4%,5%,6%,7%,8%,9%and10%,by adding NaCl salt to the nitrogen free medium.The isolates were streaked on the slanted medium and incubated at 28° c for three days. The efficiency of these isolates in nitrogen fixation was also measured in last saline medium when the isolate grown .The results showed that A24 isolate was able to grow at a salinity concentration of 10% .A5 and A22 were also grew in 9% concentration.A24 isolate was fixed the nitrogen in amount 7.42 and 5.46 mgN.L^{-1} at concentrations of 9% and 10% respectively ,while A5 and A22 isolate fixed 6.16 and 5.32 mg N.L^{-1} at saline concentration of 9% respectively.

Key word : Azotobacter ,Nitrogen Fixation ,salt tolerance , Pant growth Promoting rhizobacteria