التفاعل بين الكائنات الدقيقة

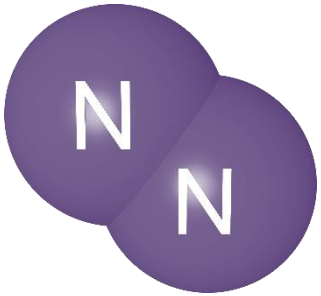
المعمل الثامن

الجوهره العباد – نوره الكبيسي

2016

تثبيت النيتروجين

Nitrogen Fixation



❖ عنصر النيتروجين N_2

- أحد العناصر الغذائية الهامة لحياة الكائنات الحية، فهو يدخل ضمن المكونات الأساسية لبرتوبلازم الخلايا (تركيب البروتينات و الإنزيمات و الأحماض النووية)، لذلك فهو مهم لخصوبة التربة و الإنتاج الزراعي، و أي نقص في هذا العنصر يؤدي إلى ضعف و نقص المحصول الزراعي.

- يكوّن النيتروجين 79% من حجم الهواء الجوي، في حين لا تحتوي الصخور و التربة على هذا العنصر.
- على الرغم من وفرته في الجو إلا أن الكائنات الحية – خصوصاً النبات – لا يستطيع الإستفادة منه بصورته الغازية N_2، و هي صورة خاملة لا يستفيد منها النبات. لذلك لابد من تحويله إلى صورة معدنية قابله للإمتصاص من قبل النبات.

- يسهل فقد النيتروجين من التربه، و ذلك إما عن طريق :
  - التطاير.
  - التغسيل بالماء أثناء الري.
  - استهلاك المحاصيل الزراعيه.
- لكن يُعوض هذا النقص بإضافة النيتروجين في صورة عضوية أو معدنيه.

- تعرف العملية التي يتم فيها تحويل النيتروجين الخامل في صورته الغازية N_2 إلى نيتروجين صالح للإستخدام من قبل الكائنات الحية بإسم عملية **تثبيت النيتروجين الجوي Nitrogen Fixation.**

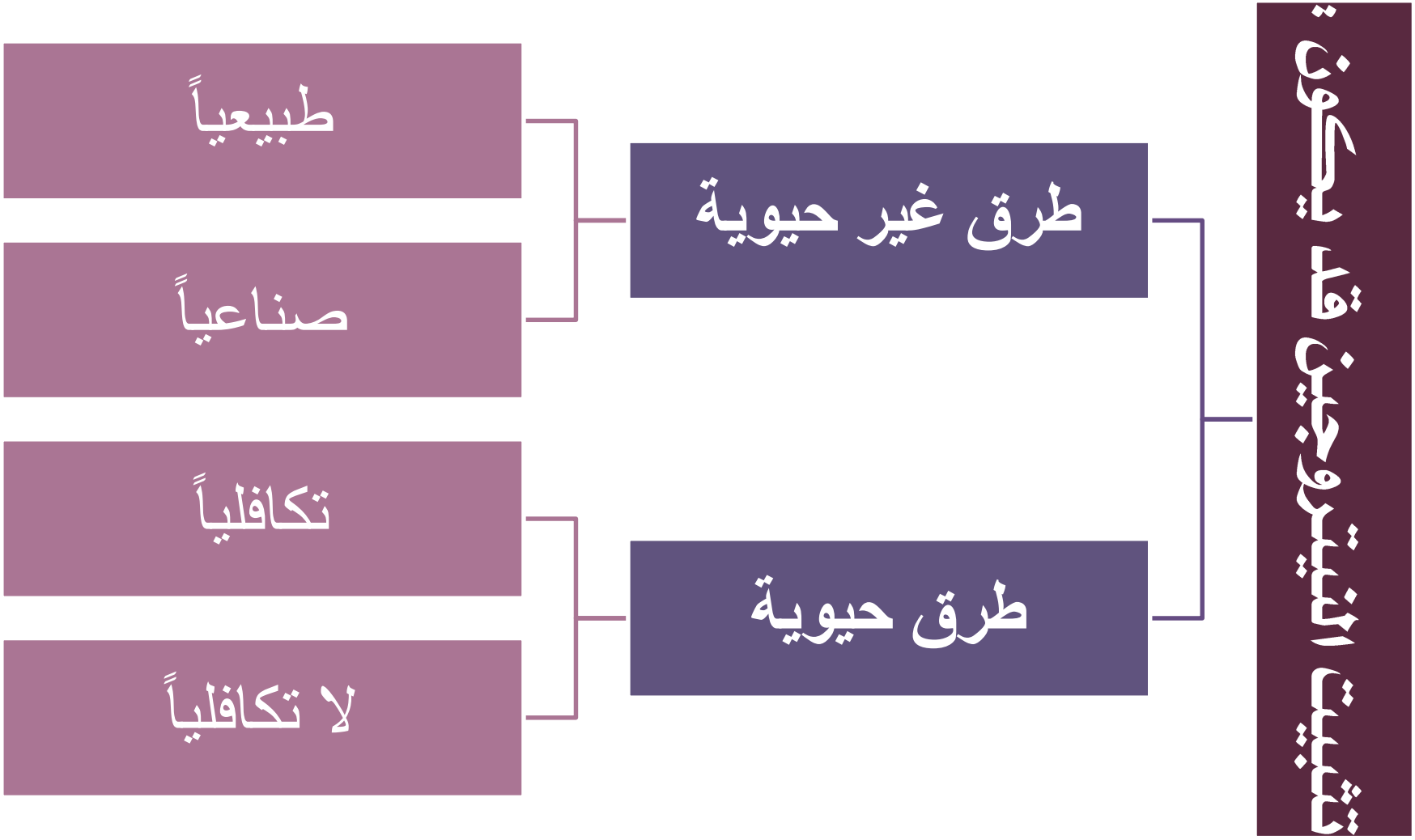
تثبيت النيتروجين الجوي

Nitrogen Fixation

❖ تعريفها

- هي عملية يتم فيها تحويل غاز النيتروجين الجوي من صورته الخاملة، إلى مركبات نيتروجينة قابلة للاستخدام من قبل الكائنات الحية كالنترات، و الأمونيا و النشادر.

$$N_2 + H_2 \rightarrow 2NH_3$$


طريقة التخلص من البيض الفاسد
طرق غير حيوية
طرق حيوية
طبيعياً
صناعياً
تكافلياً
لا تكافلياً

أولاً : الطرق الغير حيوية

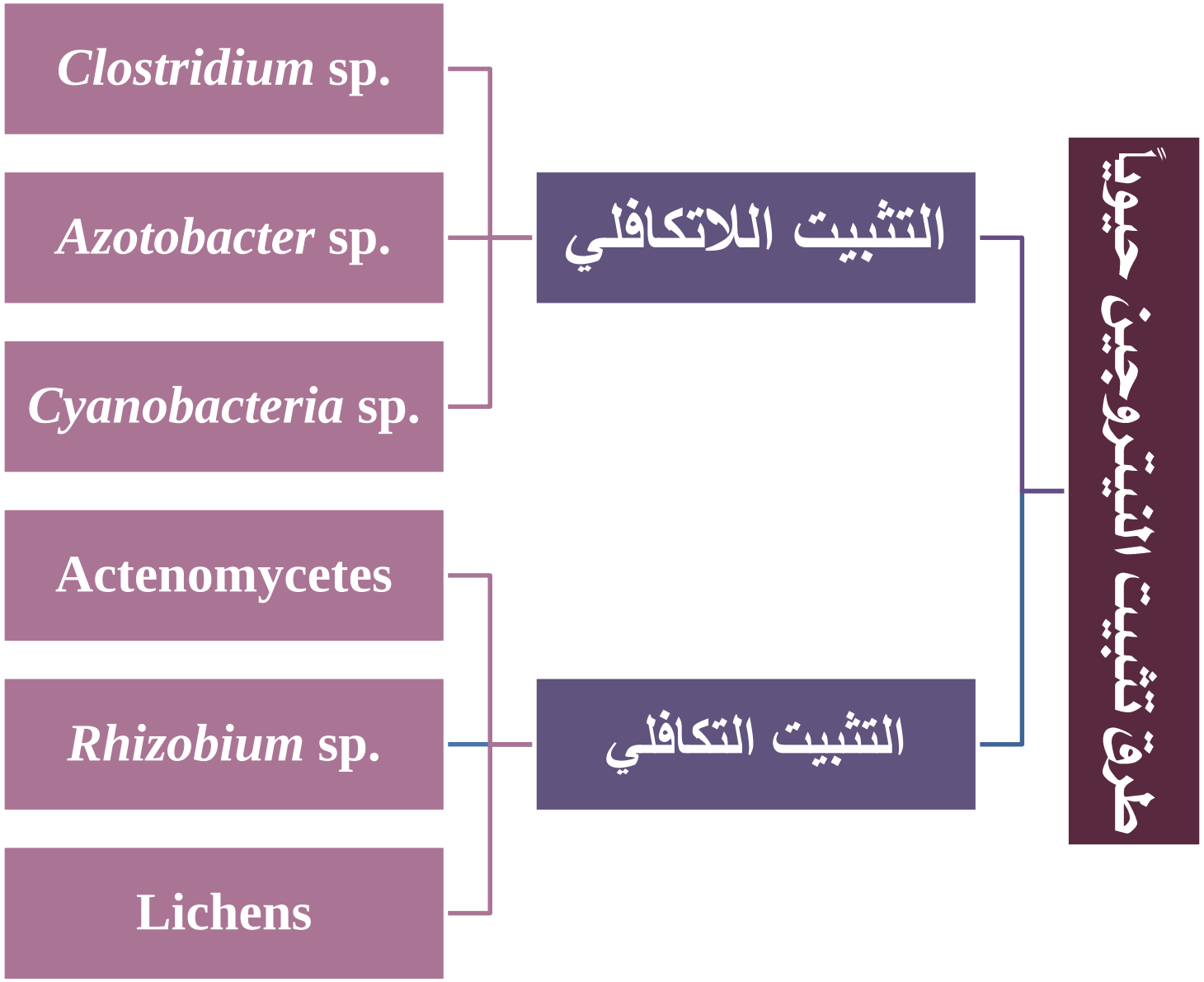
الطرق الطبيعية	الطرق الصناعية
قد تحدث نتيجة : 1. حدوث الشرارة الكهربائية أثناء عملية البرق مما يؤدى إلى أكسدة غاز النيتروجين، وتصل هذه الأكاسيد إلى الأرض مع المطر. 2. تساعد الأشعة فوق البنفسجية على اتحاد النيتروجين مع الهيدروجين الموجود فى الجو و ينتج عن ذلك تكوّن الأمونيا.	يحدث عن طريق تفاعل يعرف بإسم Haber - Bosch reaction حيث يتفاعل النيتروجين الجوى N_2، مع الهيدروجين H_2، في وجود عامل محفز (**أوكسيد الحديد**)، تحت ضغط و درجة حرارة مرتفعة (500م°) و ينتج عن ذلك الأمونيا. يعتبر هذا التفاعل أساس إنتاج الأسمدة النيتروجينية

- كمية النيتروجين الجوى المثبتة كيميائياً (طبيعياً وصناعياً) قليلة جداً بالمقارنة بالكمية المثبتة بيولوجياً.

❖ ثانياً : الطرق الحيوية

- يطلق عليها اسم **(التثبيت الحيوي)**، و هو تحويل النيتروجين الغازي في الغلاف الجوي إلى نيتروجين عضوي يدخل فى تركيب المركبات النيتروجينية العضوية.

- تتلخص هذه العملية بقدرة أنواع مختلفة من الكائنات الدقيقة المتخصصة على اختزال النيتروجين الجوى و تحويله إلى NH_3 تحت الظروف العادية من الضغط ودرجة الحرارة، و بالتالى يتحول إلى مركب عضوي.
- لذلك نجد أن الكائنات الدقيقة تقوم بدور هام فى تحديد طبيعة دورة النيتروجين فى الأرض، حيث تتحكم فى تحويل جزيئات النيتروجين الجوى إلى نيتروجين عضوى. تعتبر هذه الطريقة أهم الطرق فى زيادة محتوى الأرض من النيتروجين.


طرق تثبيت النيتروجين حيوياً
التثبيت اللاتكافلي
التثبيت التكافلي
Clostridium sp.
Azotobacter sp.
Cyanobacteria sp.
Actenomycetes
Rhizobium sp.
Lichens

1. التثبيت اللاتكافلي Non symbiotic N-Fixation

- تقوم به كائنات حرة المعيشة فى التربة الزراعية Free-living organisms سواءاً وجد النبات أو لم يوجد، و إن كان بعضها ينشط أكثر فى وجود النبات و إن لم يكن يعتمد عليه، و بالتالى يكون هذا التثبيت غير تكافلياً.

- يتم فيه تحويل النيتروجين الغازي بواسطة هذه الكائنات إلى نيتروجين عضوى داخل أجسامها، و بعد موت هذه الكائنات و تحلل أجسامها يتحول إلى نيتروجين ميسر للنبات نتيجة **لعملية المعدنة**.

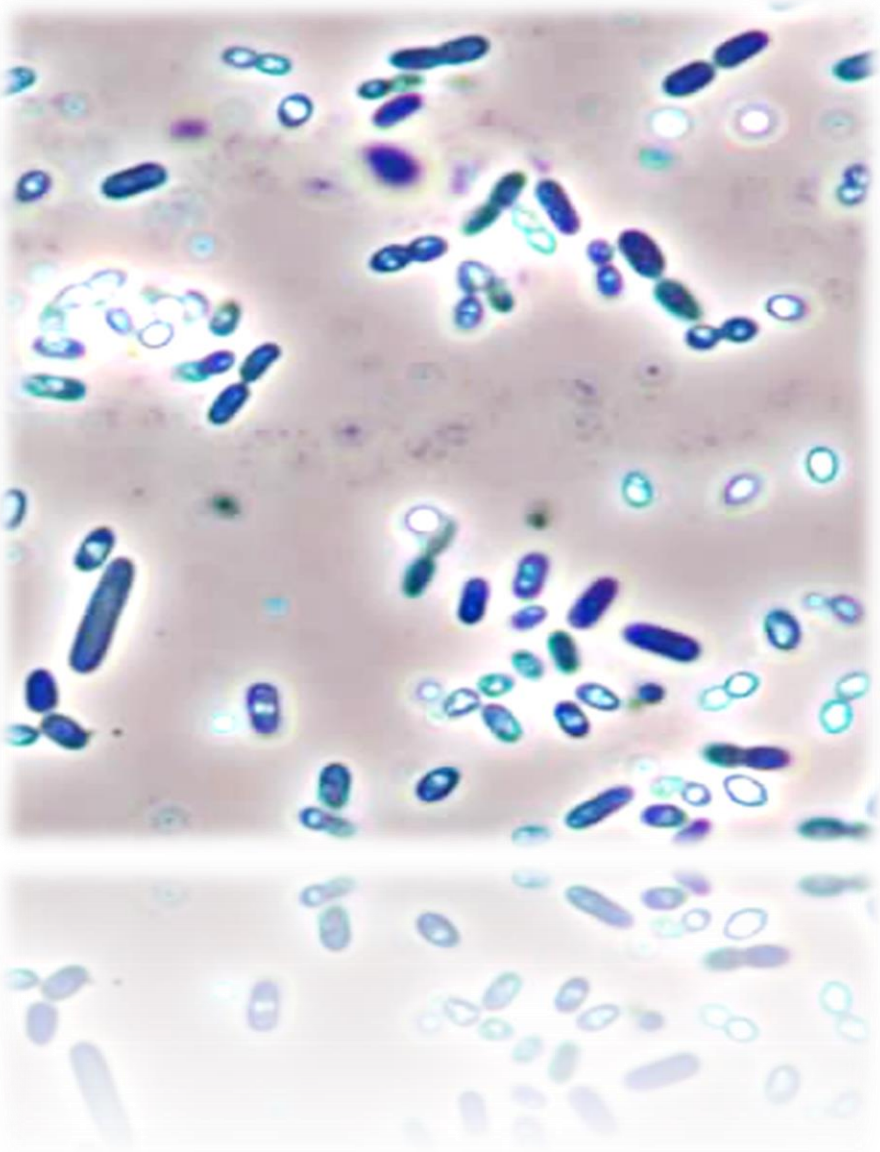
معدنة النيتروجين العضوى
Nitrogen mineralization

هي العملية التي يحدث بها تحلل لجزء من محتوى النيتروجين العضوي في الأراضي، حيث يكون ناتج التحلل هو الأمونيا Ammonification.

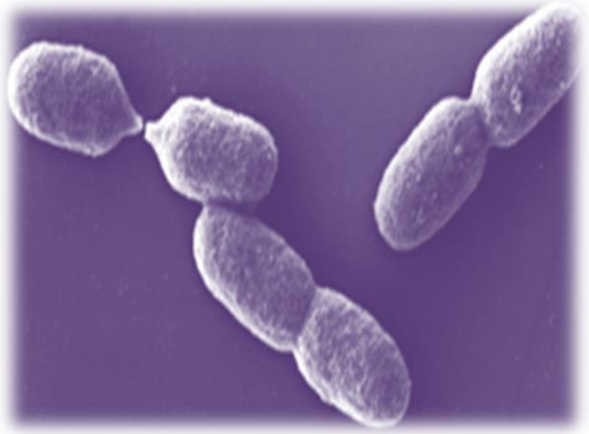
التثبيت الحيوي الغير تكافلي

الطريقة	الوصف
***Clostriudium* sp.**	بكتيريا لا هوائية، لها القدرة على تثبيت النيتروجين في الأراضي الحامضية ذات pH أقل من 6.
Cyanobacteria	من أجناس *Nostoc*، *Anabaena*، *Gloecapsa* ، توجد تحت ظروف بيئية واسعة المدى . لديها حويصلات مغايرة تحتوي على انزيم النيتروجينيز الذي له دورهام في عملية التثبيت.
***Azotobacter* sp.**	بكتيريا هوائية، وتنتشر هذه البكتيريا فى جميع أنواع الأراضى ماعدا الحامضية ذات pH أقل من 6.

- من الجدير بالذكر أن كمية النيتروجين المثبتة بواسطة البكتيريا الحرة أقل من تلك التى تُثبت بواسطة البكتيريا التكافلية.



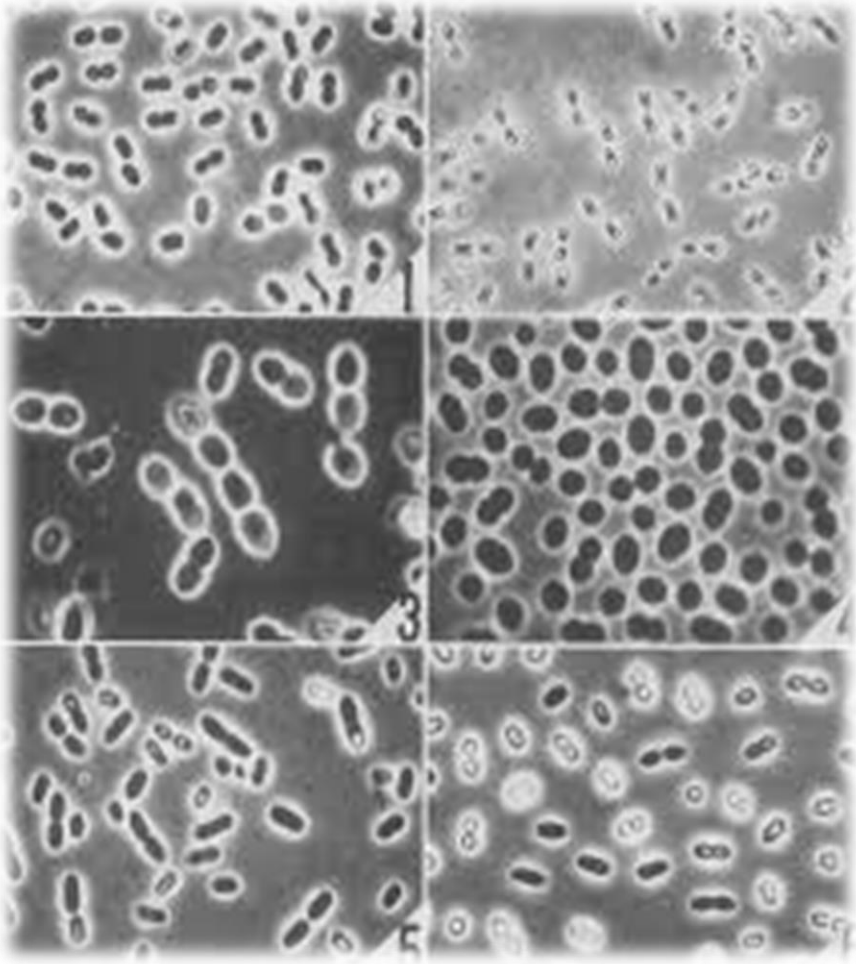
Azotobacter

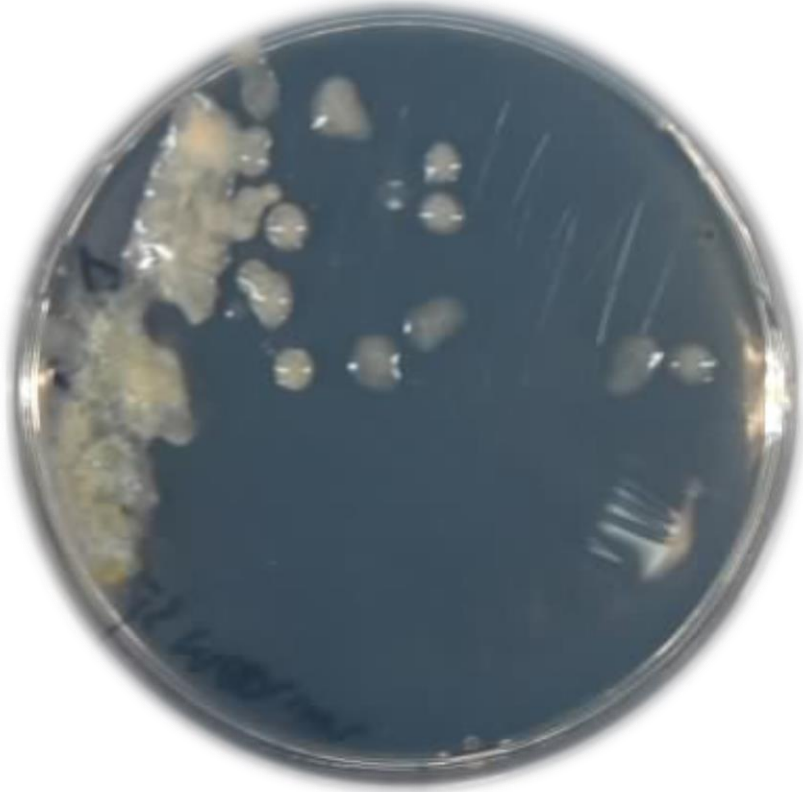


❖ خصائصها

- بكتيريا هوائية إجباراً.
- سالبة لصبغة جرام.
- شبه كروية أو بيضاوية.
- توجد مفردة أو في أزواج.
- كبيرة الحجم طولها 5 – 7 ميكرومتر، و عرضها 3 – 4 ميكرومتر.
- درجة الحرارة المناسبة لنموها 30 – 35 م°.

- محاطة بغلاف هلامي سميك (capsule)، وجوده يجعل من الصعب الحصول عليها بصورة نقية.
- تعيش في بيئة خالية من النيتروجين وتحتاج في البيئة إلى مصادر كربونية حتى تنمو بصورة جيدة فيها مثل : السكروز .
- تحتاج لعنصر P – Ca – K.
- تحتاج إلى رطوبة وتهوية ورقم pH مناسب (6 - 8)
- تتناسب كمية النيتروجين المثبتة مع كمية نمو الميكروب.



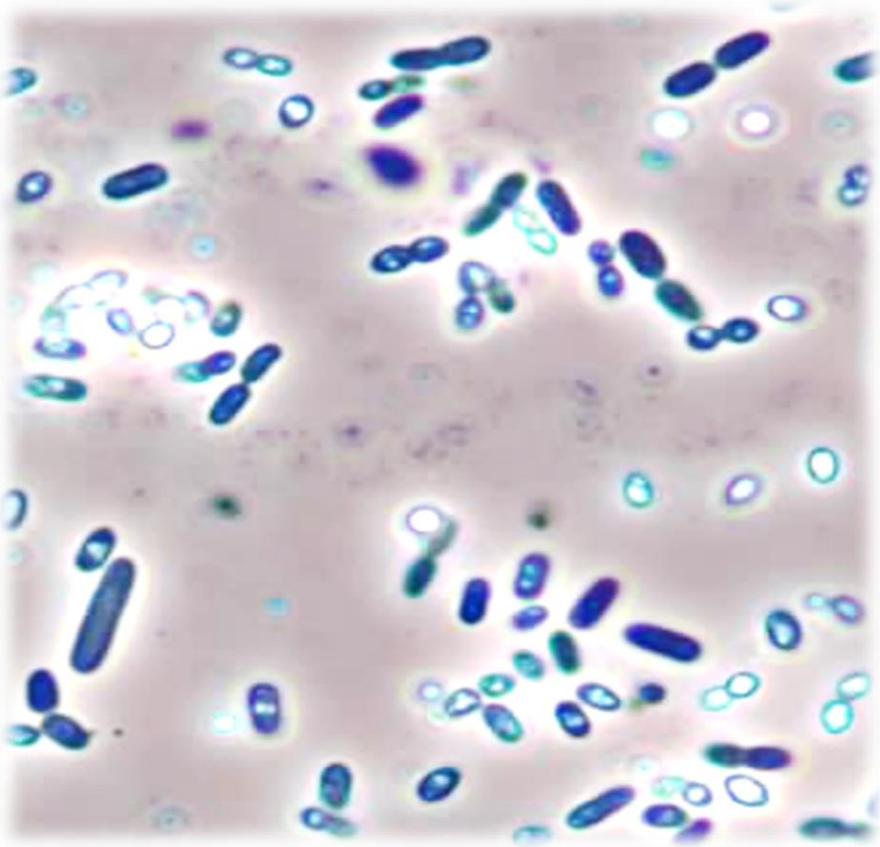


- الأزوتوباكتر **ليس** لها القدرة على تحلل السليلوز و المواد العضوية المعقدة، لذلك فهو يعيش معيشة تعاونية مع ميكروبات التربة الأخرى التي تحلل هذه المواد لتنتج السكريات و الأحماض العضوية و غيرها التي تستعملها الأزوتوباكتر كمصدر للطاقة. في المقابل تستطيع أن تثبت النيتروجين الجوي في التربة لتستفيد منها ميكروبات التربة الغير مثبتة للنيتروجين.

- تحلل الأزوتوباكتر **المانيتول** و تستخدمه كمصدر كربوهيدراتي، كما تفرز اثناء نموها مواد نيتروجينيه تساعد على نمو أنواع أخرى من الميكروبات الزراعيه مما يساهم في خصوبة التربة.

يعيش الأزوتوباكتر تعاونياً مع:

- **Cyanobacteria**
  - تمدها الطحالب بما تحتاجه من المواد الكربوهيدراتيه، في حين تعمل الأزوتوباكتر على تزويد الطحلب بالمواد النيتروجينية.
- ***Clostridium* sp.**
  - تقوم الازوتوباكتر بسحب الأوكسجين من الوسط المحيط فتستطيع *Clostridium* أن تنمو، و في المقابل يستفيد الأزوتوباكتر من الأحماض العضوية التي تنتج عن *Clostridium* كمصدر للطاقه.



التطبيق العملي

❖ البيئة المستخدمة

- بيئة Waksman base medium no. 77، و هي بيئة خالية من مركبات النيتروجين، و تحتوي على المانيتول بدلاً من الجلوكوزكمصدر للكربوهيدرات، لأن الجلوكوز يحفز نمو البكتيريا اللاهوائية.

❖ الأدوات

- ظروف التعقيم.
- عينات تربة زراعية خصبة.
- ماصات معقمة سعة 1 مل.
- دوارق سعة 50 مل.
- قطارات.
- بيئة Waksman base medium no. 77.

طريقة العمل

يعبأ 25 مل من البيئه في دوارق ثم تعقم

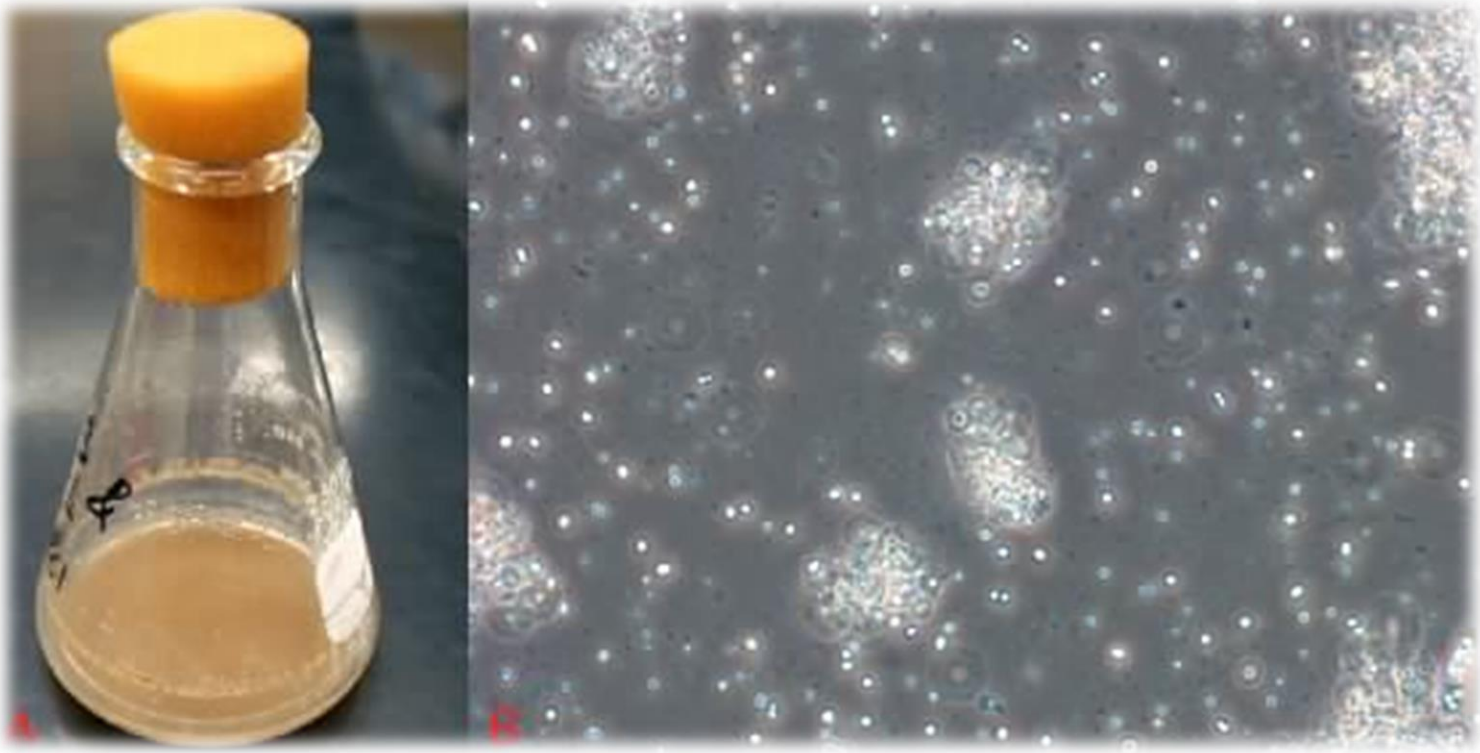
يحضر محلول التربة الزراعيه بإضافة 1مل إلى 25 مل ماء معقم، حيث يرج جيداً ثم يتركب ليترسب.

تلقح البيئة بـ 1 مل من محلول التربة.

تحضن الدوارق لمدة أسبوع عند درجة حرارة 25م°، حيث يتم ملاحظة النمو على السطح بعد 3 أيام تقريباً.

يحضر منها غشاء بكتيري ويصبغ بصبغة جرام و تفحص الشريحة بالعدسة الزيتية.

- يظهر النمو على هيئة غشاء هلامي على سطح البيئة، لذلك يراعى استخدام القطاره عند فحص العينة من هذا الغشاء.



نهاية المعمل..

alalabbad@ksu.edu.sa

nalkubaisi@ksu.edu.sa