الإحياء المثبتة للنتروجين

يتعرض النتروجين في التربة الى فقد مستمر ويتم تعويض هذا النقص عن طريق إضافة الأسمدة العضوية والمعدنية كما يتم تعويض الجزء الرئيسي منه عن طريق تثبيت النتروجين الجوي بيولوجيا

تقسم الإحياء المثبتة للنتروجين الى قسمين

١- إحياء تعايشية Symbiotic

٢- إحياء لاتعايشية non- symbiotic

الإحياء المثبتة للنتروجين لاتعايشيا وتقسم بدورها إلى

١- ميكروبات هوائية Aerobic مثل جنس *Azotobacter* و *Azospirillum*

٢- ميكروبات لاهوائية Anaerobic مثل بعض الانواع الواقعة تحت جنس *Clostridium*

ميكانيكية تثبيت النتروجين الجوي

النتروجين غاز خامل لا تستطيع النباتات الافادة منه الا ان يتحول الى امونيا ، اذ تفرز المكروبات المثبتة للنتروجين إنزيم خاص هو ال nitrogenase ينشط جزيء النتروجين ويعطيه قابلية للدخول في التفاعلات وتعد الامونيا المركب الوسطي الذي يتكون إثناء عملية التثبيت اذ يتحد مع مركب يدعى keto-glutaric acid ليكون الحامض الاميني glutamic acid وهذا بدوره يدخل في تكوين الاحماض الامينية الضرورية في العمليات الحيوية للنبات بوساطة أنزيمات Transaminase

N_2 Atmosphere →(Root nodule -Rhizobium Bacteria →
nitrogenase Enzyme→ NH_3)→Amino acid →plant

- **الاحياء التعايشية Symbiotic**

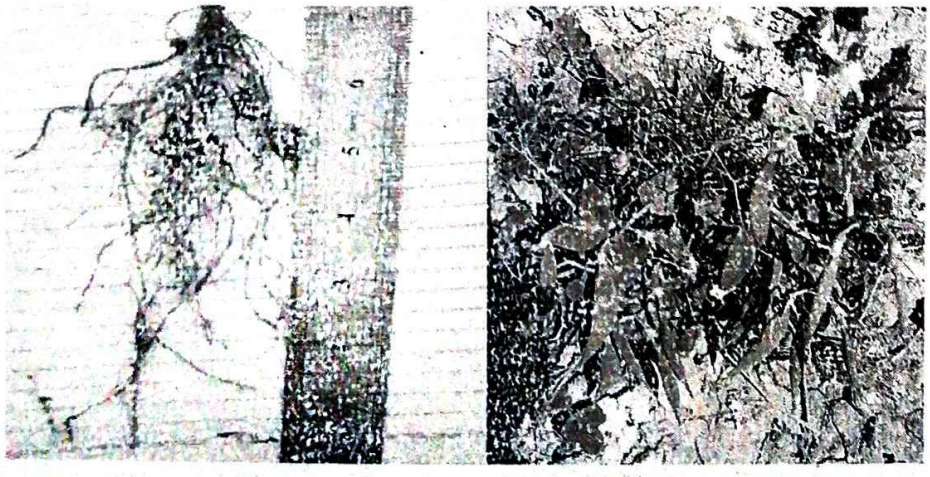
عزل بكتريا العقد الجذرية من النباتات البقولية

للنباتات البقولية اهمية كبيرة من خلال تثبيت النروجين الجوي بفعل البكتريا التابعة لجنس ال*Rhizobium* من خلال معيشة تعاونية مع النبات البقولي ، مكروبات هذا لجنس عصوية سالبة لصبغة غرام غير مكونة للسبورات المكروبات لها القابلية على تثبيت النتروجين فقط اثناء المعيشة التعاونية مع النبات البقولي اذ يمد النبات المكروبات بالكاربوهيدرات اللازمة ويمد المكروب النبات بالنتروجين المثبت .

في غياب النبات البقولي يستطيع المكروب النمو بالتربة ولمدة طويلة او ينمو على الاوساط داخل المختبر وأكن من دون ان يقوم بتثبيت النتروجين .

إن لكل نبات بقولي نوع خاص من ميكروبات الريزوبيا قادرة على تثبيت النتروجين في هذا النبات و هو مايطلق عليه بالتخصص فمثلا نبات البرسيم البكتريا العقدية له *Rhizobium trifolii* وهو غير قادر على تثبيت النتروجين في نبات الجت اذ ان هذا النبات له بكتريا متخصصة هي *Rhizobium meliloti*

فاذا اصيب النبات بالنوع المتخصص فانها تكون عقدا جذرية قادرة على تثبيت النتروجين وتسمى بالعقد الفعالة Effective nodules ويكون لونها وردي ، اما خلاف ذلك فانها تكون عقد غير فعالة Ineffective nodules ووجد بان عند تلقيح نبات بسلالة غير متخصصة به فانه لا يحدث الغزو البكتيري لجذور النبات حتى و ان حدث فانه لا يكون الهيموكلوبين البقولي Leghemoglobin و تسمى العقدة الكاذبة Pseudo nodule و التي تكون غير فعالة و لا تثبت النتروجين الجوي .



طريقة العمل

١- تزال عدة عقد جذرية من نبات بقولي وتغسل بالماء وتوضع في محلول $Hgcl_2$ ٠.١% لمدة خمس دقائق

٢- تنقل بعدها الى دورق حاوي على ١٠-٢٠ ملليتر من الكحول الاثيلي ٩٥% لتعقيمها وقتل المكروبات الأخرى غير المرغوب فيها .

٣- تغمس في دورق آخر حاوي على (مللتر) cm^3 ٩٠ ماء معقم لغسلها .

٤- تنقل العقد إلى أنبوبة اختبار حاوية على $2cm^3$ ماء معقم تكسر العقد بواسطة قضيب زجاجي معقم

٥- ينقل بواسطة اللوب كمية من معلق العقد الجذرية على شريحة زجاجية

٦- توضع على الشريحة قطرات من صبغة غرام لتصبيغ النموذج.

٧- يحضر خمس إطباق معقمة ويوضع في كل طبق cm^3 ١ ماء مقطر معقم .

٨-ينقل بواسطة اللوب كمية من المعلق ويمزج جيدا ثم ينقل الى الطبق الثاني وهكذا الى الطبق الخامس .

٩- يضاف الى كل طبق (مللتر) cm^3 ١٢ من الوسط الغذائي Yeast manitol agar وننتظر حتي يتصلب

١٠-توضع الاطباق في الحاضنة بصورة مقلوبة على درجة حرارة ٢٨ درجة مؤوية لمدة اسبوع

١١-يلاحظ ظهور نمو ابيض لزج يؤخذ منه مسحة بالناقل و يوضع على شريحة زجاجية و تفحص بالمجهر الضوئي .

Yeast Mannitol Agar w/ Congo Red

Yeast Mannitol Agar w/ Congo Red is used for cultivation of *Rhizobium* species.

Composition**

Ingredients	Gms / Litre
Yeast extract	1.000
Mannitol	10.000
Dipotassium phosphate	0.500
Magnesium sulphate	0.200
Sodium chloride	0.100
Congo red	0.025
Agar	20.000
Final pH (at 25°C)	6.8±0.2

**Formula adjusted, standardized to suit performance parameters