

المادة: أحياء التربة المجهرية
أستاذ المادة: أ.م. السيده سهيله جواد كاظم
قسم علوم التربة والموارد المائيه
كلية الزراعة/ جامعة البصرة

العراق

suhailajowad@gmail.com

سنتكلم في هذه المحاضرة عن :

التثبيت البيولوجي للنيتروجين الجوي ويشمل :

- أ- التثبيت اللاتكافلي (الحر) للنيتروجين **Non Symbiotic Nitrogen Fixation**
- ب- التثبيت التكافلي للنيتروجين **Symbiotic Nitrogen Fixation**

سيكون الموضوع في هذه المحاضرة عن التثبيت اللاتكافلي (non symbiotic) للنيتروجين تقوم به الاحياء المجهرية الحرة المعيشة وهي اما هوائية او aerobic مثل الـ *Azotobacter* او لاهوائية (Anaerobic) مثل بكتريا الـ *Clostridium* وكذلك هناك الطحالب الخضراء المزرقة *Cyanobacteria* مثل الـ *Nostoc* وهي منتشرة في مزارع الرز .

طريقة العمل:

سوف ندرس في هذه المحاضرة عزل وعد وتنقية بكتريا *Azotobacter* بسبب كفاءتها في تثبيت النيتروجين الجوي .

1- عزل البكتريا :

تعزل بكتريا الـ *Azotobacter* من التربة باتباع الاتي :

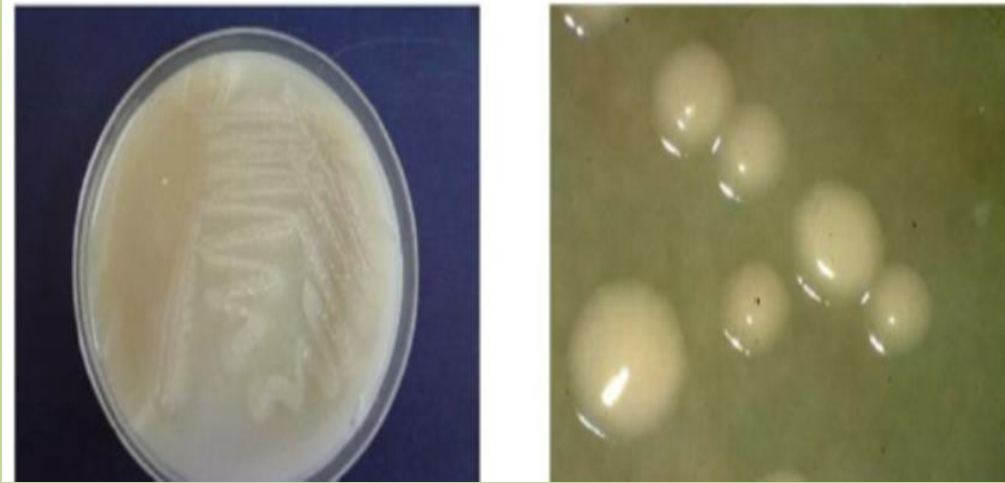
1- يؤخذ 10 غم من العينة المختارة وتضاف الى 90 مل من الماء المقطر المعقم في دورق حجم 250 مل ويرج جيدا هذا يمثل التخفيف 10^{-1} . يعمل تخفيف لغاية 10^{-6}

2- ينقل 1 مل من العالق الى انابيب اختبار تحوي 9 مل من الوسط السائل الخالي من النتروجين Sucrose mineral salts solution (Jensen's media) وبخمس مكررات لغرض العد .

3- تحضن الانابيب على درجة حرارة 28°C لمدة 3-4 يوم النتيجة الموجبة تكون بملاحظة الغشاء البني المتكون على السطح وهو مؤشر لنمو بكتريا الازوتوبكتر

2- تنقية البكتريا:

يحضر الوسط الغذائي sucrose mineral salts agar
يصب في Petri dish الى ان يتصلب ثم يؤخذ جزء من
النمو في الخطوة (1) بواسطة ال Loop ويخطط على
السطح وتكرر هذه العملية عدة مرات .



3- عد البكتريا:

- يتم تقدير اعداد بكتريا الـ *Azotobacter* بطريقة الاحتمال الاكبر (MPN) Most Probable Number حيث تتبع الخطوات من 1-3 (كما في عزل البكتريا) ثم اكمل ما يلي :
- 4- ميز التخفيف الذي اعطى فحص سالب (لم يحصل نمو في اي من انابيب الوسط الغذائي الخمسة) .
- 5- خذ التخافيف الثلاثة قبل الفحص السالب مباشرة . اعطها الرموز P1 وP2 وP3 .
- 6- من جداول خاصة استخراج الرقم الجدولي ثم استخراج العدد من القانون التالي :
- $$\text{CFUgm}^{-1} \text{ soil} = \text{الرقم الجدولي} \times \text{مقلوب التخفيف الاوسط}$$

مثال:

في تجربة لعد بكتريا الـ *Azotobacter* اعطى التخفيف 10^{-6}

فحص سالب اما التخافيف الثلاثة السابقة له مباشرة كانت كما يلي:

$10^{-3} = 4$ أنبوبة من الانابيب الخمسة اعطت فحص موجب (P1).

$10^{-4} = 2$ أنبوبة من الانابيب الخمسة اعطت فحص موجب (P2).

$10^{-5} = 1$ انبوبة من الانابيب الخمسة اعطت فحص موجب (P3).

من خلال قيم P1 و P2 و P3 في جدول خاص بالطريقة نستخرج

الرقم الجدولي وهو في هذا المثال يساوي 0.26 . اما التخفيف

الاطوسط فهو 10^{-4} فيكون $10^4 \times 0.26 = \text{CFUgm}^{-1}\text{Soil}$