المرحلة الثالثة

قسم علوم الحياة

علم الأحياء المجهرية في التربة والمياه
Soil and Aquatic Microbiology

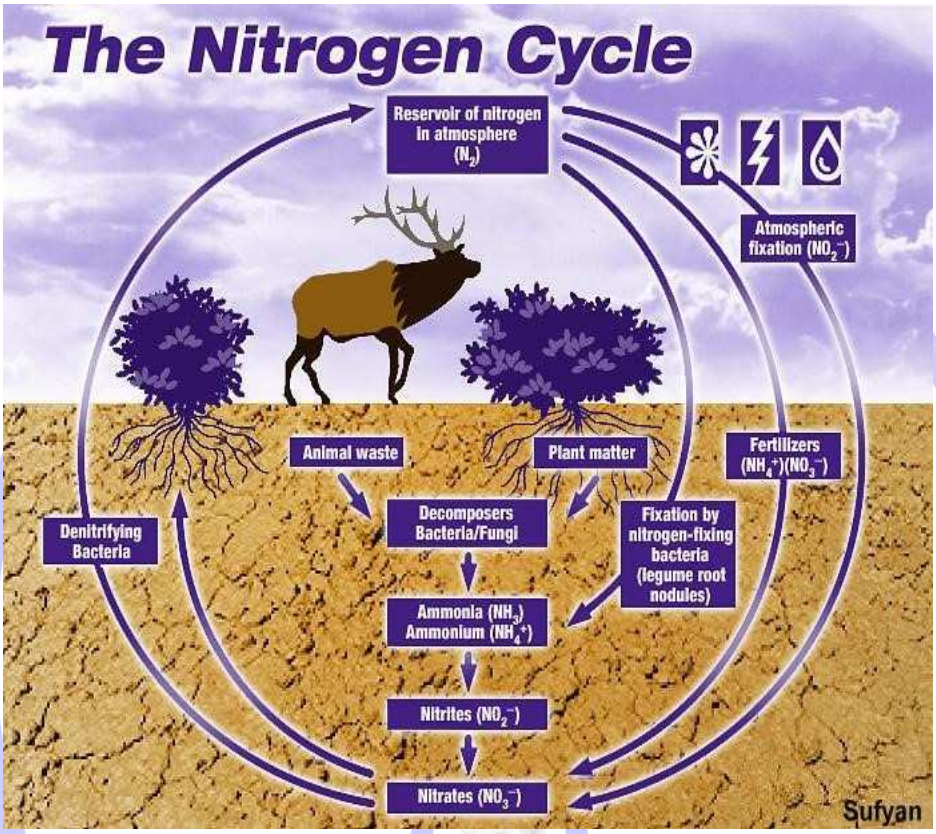
دورة النيتروجين وعلاقتها بمايكروبات التربة:

يعتبر عنصر النيتروجين أحد أهم العناصر التي تدخل في تركيب بروتوبلازم الخلايا الحية فهو يشترك في تكوين الأحماض النووية والأمينية والببتيدات والبروتينات والأنزيمات والهورمونات. ويعد النيتروجين والمركبات التي يشترك في تركيبها أحد أكثر المركبات تعرض ا للتغيرات البايولوجية.

يشكل النيتروجين الجوي حوالي 78% من حجم الهواء وعلى الرغم من ذلك فإن غالبية الأحياء لا تستطيع الإستفادة منه بشكل مباشر بإستثناء بعض الأحياء الدقيقة، لذلك لا بد من تحول النيتروجين من الصيغة الجزيئية N_2 أو NO_2 إلى صيغ أخرى كصيغة الأمونيوم NH_4^+ وذلك بفعل إختزاله، أو إلى صيغة النترات NO_3^- وذلك بتأكسده، وفي كلتا الحالتين فإن هذه التحولات في التربة تحصل بفعل الأحياء الدقيقة. كما تمتص النباتات النيتروجين على شكل NH_4^+ أو NO_3^- حيث تجري بعد ذلك عدة تحولات منها إختزال البروتينات والببتيدات والأحماض النووية والأحماض الأمينية.

يمكن أن يضاف النيتروجين إلى التربة مع مياه الأمطار ومياه الري وعند إضافة الأسمدة النيتروجينية العضوية أو الكيميائية ،ففي حالة الأسمدة العضوية يجب أن تتحلل قبل أن يصبح بإمكان النبات الإستفادة من النيتروجين ،وعند تغذية الحيوانات على النباتات فإن النيتروجين العضوي)على شكل بروتينات وأحماض أمينية ونووية ومركبات أخرى(سوف يمر بعدة تحولات إلى أن يدخل في تركيب الأحماض النووية والأمينية والبروتينات الخاصة بتلك الحيوانات وعند موت وتحلل الحيوانات يعود النيتروجين المرتبط بالمركبات العضوية للإنطلاق مرة أخرى ليتحول إلى مركبات ذائبة في الماء وأخرى غازية يمكن أن تتطاير وتعود إلى الجو ثانية . إن سلسلة التغيرات التي يمر بها النتروجين ضمن الغلاف الجوي ـــ التربة ـــ الأحياء يطلق عليه دورة النيتروجين، والشكل التالي يوضح مخطط لتلك الدورة:

1987 1408
UNIVERSITY OF ANBAR



تثبيت النيتروجين الجوي Nitrogen fixation:

يقصد بتثبيت النيتروجين الجوي تحويل النيتروجين الجوي من N_2 و NO_2 إلى NH_3 أو NO_3 وتحدث عملية التثبيت بعدة طرق من أهمها التثبيت الحيوي:

أولاً: التثبيت الحيوي Biological fixation:

أن كمية النيتروجين المثبتة بهذه الطريقة تفوق كمية النيتروجين المثبتة بالطرق الأخرى، وعملية التثبيت تقوم بها أنواع عديدة من الأحياء الدقيقة التي تمتلك أنزيم النيتروجينيز Nitrogenase حيث يساعد هذا الإنزيم على إختزال النيتروجين الجوي إلى NH_3.

$$N_2 + 3H_2 \xrightarrow{\text{Nitrogenase}} 2NH_3$$

يتركب أنزيم النيتروجينيز من نوعين من البروتينات الأول يحتوي على الموليبديوم Mo والحديد Fe ويسمى (Mo.Fe) بروتين وهو الجزء الأكبر من الأنزيم، أما البروتين الثاني فيطلق عليه Fe-protein ويمثل الجزء الأصغر من الأنزيم.

❖ تشمل الأحياء المسؤولة عن تثبيت النيتروجين الجوي أنواع عديدة من الكائنات الدقيقة أهمها:

أ- أحياء دقيقة حرة المعيشة:

تشمل الـ *Azotobacter* وهي بكتيريا هوائية كبيرة الحجم يتراوح طولها بين 5-7 مايكرون وعرضها بين 3-4 ميكرون ،تتواجد بشكل فردي أو في أزواج تحتوي الخلية في بعض الأحيان على جسم يشبه الفجوة، موجبة لإختبار الكاتاليز، سالبة لصبغة كرام -G بيضوية الشكل كبيرة الحجم تكون مفردة أو في أزواج أو تجمعات غير منتظمة وهي غير مك و نة للسبورات ولا تك و ن كبسولة. وجنس *Klebsiella* الذي يمتاز بالشكل العصوي القصير ويكون سالبا لصبغة كرام. وجنس *Azospirillum* وشكلها حلزوني وهي سالبة لصبغة كرام غير مكونة للسبورات. أما أجناس البكتيريا اللاهوائية الإختيارية التي لها القدرة على تثبيت

النيتروجين هي *Bacillus* و *Entrobacter*. أما أجناس البكتيريا اللاهوائية فتشمل *Clostridium* و *Desulfovibrio*، كما تستطيع الطحالب الخضر المزرقة مثل *Nostoc* و *Anabaena* تثبيت النتروجين الجوي.

ب- أحياء دقيقة تثبت النيتروجين تكافلياً مع كائن حي آخر: وتشمل أنواع عديدة من الأحياء الدقيقة منها:

بكتيريا الرايزوبيوم *Rhizobium* حيث تستطيع تثبيت النيتروجين الجوي في العقد الجذرية لنباتات العائلة البقولية وجنس *Frankia* الذي يعود إلى الأكتينومايسيتات والذي يستطيع تثبيت النيتروجين في العقد الجذرية لنباتات الكازورينا.

ثانياً: تثبيت النيتروجين بالطرق الصناعية:

كما هو موجود عند تصنيع الأسمدة النيتروجينية بطرق هابر بوش Haber Bosch تحت حرارة وضغط عاليين وبوجود عامل مساعد، فيكون الناتج جزيئتين من الأمونيا:

$$N_2 + 3H_2 \xrightarrow[\text{250 ضغط + 500°م}]{\text{أوكسيد الحديد}} 2NH_3$$

ثالثاً: التثبيت بوساطة التفاعلات الكهروضوئية:

كما هو الحال أثناء البرق وسقوط المطر حيث يحدث تفاعل بين $_2N$ و $_2O$.

$$N_2 + 2O_2 \longrightarrow 2NO_2$$

ويذوب $_2NO$ بالماء في طبقات الجو ليك و ن حامض النتريك الذي يسقط على شكل أمطار حامضية)ظاهرة المطر الحامضي(، كما يمكن أن يذوب غاز الأمونيا $_3NH$ الموجود في الهواء الجوي خصوص ا في المناطق الصناعية.

دراسة تثبيت النيتروجين الجوي من قبل الأحياء الدقيقة:

يمكن دراسة تثبيت النيتروجين الجوي من قبل الأحياء الدقيقة أما باستخدام نيتروجين نظير 15)^{15}N(، وتعتبر هذه الطريقة محدودة الإستعمال لكلفتها العالية ،أما الطريقة الثانية فتعتمد على قدرة الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي على تكوين غاز الأثيلين $_2H_4C=CH_2$($_2H$ C) من غاز الأستيلين CH≡CH إعتماد ا على أن الميكروبات التي لها القدرة على إختزال N)$_2N\equiv N$(الذي يحتوي رابطة ثلاثية يمكن أيض ا إختزال جزيء الأستيلين الذي يحتوي على آصرة ثلاثية مع إختلاف وحيد هو تكوين الأمونيا في حالة إختزال النيتروجين الجوي وتكوين الأثيلين في الحالة الثانية، وتعتبر هذه الطريقة سهلة ورخيصة الثمن.

ويعتقد أن عملية تثبيت النيتروجين الجوي بواسطة الميكروبات تك ون مركبات وسطية هي HN=NH ثنائي الآمايد Diamide والهيدرازين $_2H_2N-NH$(Hydrazain.

$$N\equiv N \xrightarrow[\text{Nitrogenase}]{+2H} \underset{\text{ثنائي الآمايد}}{HN=NH} \xrightarrow[\text{Nitrogenase}]{+2H} \underset{\text{هيدرازين}}{H_2N-NH_2} \xrightarrow[\text{Nitrogenase}]{+2H} \underset{\text{أمونيا}}{2NH_3}$$

وبالتالي عند إتحاد الأمونيا الناتجة مع أحماض عضوية يك و ن أحماض أمينية.

$$NH_3 + \text{Glutamate} \xrightarrow[\text{حامض عضوي}]{\text{تمثيل حيوي}} \text{amino acids} \longrightarrow \text{protein}$$

إن عملية إختزال النيتروجين الجوي إلى NH_3 تحتاج إلى طاقة ومصدر هذه الطاقة هو ATP الذي يتحول إلى ADP، وعملية تثبيت النيتروجين الجوي لا تقتصر على الأجناس حرة المعيشة وإنما توجد أجناس تكافلية، ومن أشهر تلك الأجناس *Rhizobium* الذي يعيش متكافلا مع بعض أفراد العائلة البقولية كالفول والبزاليا والفول السوداني والبرسيم ،وعند تنقية *Rhizobium* على أوساط زرعية، تبدو عصوية الشكل قصيرة سالبة لصبغة گرام غير مكونة للجراثيم أثناء نموها داخل العقد الجذرية وهي تفرز منشطات نمو نباتية مثل مشتقات الأندول وحامض الجبريليك والسايتوكاينين. عند عزل الـ *Rhizobium* من العقد الجذرية فإن أشكالها تكون مختلفة وتأخذ الأشكال V, X, L, Y, T وهذه الأشكال تعرف بالبكتيرويد Bacteroides ، ويضم جنس الرايزوبيوم أنواع عديدة متخصصة بنوع معين من النباتات البقولية.

معدنة النيتروجين العضوي Nitrogen Mineralization:

تسمى عملية التحول الحيوي للمركبات النيتروجينية العضوية إلى نيتروجين معدني بالمعدنة، وعملية المعدنة تتضمن خطوتين هما: **النشدرة Ammonification** التي هي عبارة عن تحلل مركبات النيتروجين العضوي وإنطلاق الأمونيا، ثم عملي ة **التآزت Nitrification** وهي أكسدة الأمونيا إلى نترات.

1. **النشدرة Ammonification:** تستطيع العديد من الميكروبات تحليل البروتينات والأحماض الأمينية وتختلف نواتج التحلل تحت الظروف الهوائية عنها تحت الظروف اللاهوائية. تتم عملية تحلل البروتين بوساطة إنزيمات تعرف بـ Proteases التي تفرز من قبل الميكروبات حيث تعمل على تكسير السلسلة الببتيدية لجزيئة البروتين بالتحلل المائي وتكون هذه الإنزيمات على نوعين: Exopiptedases وEndopiptedases.

$$\text{Protein} \xrightarrow{\text{protease}} \text{Polypeptides} \xrightarrow{\text{peptidase}} \text{Amino acid}$$

تستطيع العديد من الميكروبات الإستفادة من الأحماض الأمينية كمصدر للطاقة والكاربون وتتم عملية تكوين الأمونيا بإنتزاع مجاميع الأمين الموجودة في جزيء الحامض الأميني بطرق مختلفة أهمها:

a. نزع مجموعة الكاربوكسيل وتكوين الأمينات Amines التي تتحلل مائيا لتكوين الأمونيا.
b. نزع الأمونيا بالأكسدة وتكوين حامض كيتوني.
c. نزع الأمونيا بالإختزال وتكوين حامض دهني.
d. نزع الأمونيا بالتحلل المائي مع تكوين حامض فيه مجموعة هيدروكسيل.

تحلل اليوريا

تتكون اليوريا في التربة نتيجة تحلل القواعد النيتروجينية في الأحماض النووية كما يمكن أن تضاف للتربة على شكل أسمدة أو في بقايا الحيوانات، واليوريا سريعة التحلل في التربة وتتم بفعل إنزيم اليوريز Urease حسب المعادلة التالية:

$$NH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Urease}} H_2N\text{-}COO\text{-}NH_4 \longrightarrow 2NH_3 + CO_2$$

1987 1408
UNIVERSITY OF ANBAR

2. **عملية التآزت)النترجة(Nitrification:** عملية النترجة تتم على مرحلتين:**الأولى/** هي أكسدة الأمونيا إلى نتريت NO_2 بوساطة مجموعة من الميكروبات أهمها *Nitrosospira, Nitrococcus, Nitrosomonas*.

$$NH_3 + 3O_2 \longrightarrow HNO_2 + 2H_2O + 66 \text{ cal.}$$

أما الخطوة **الثانية/** فتتم بأكسدة النتريت إلى نترات بوساطة *Nitrosospira, Nitrococcus, Nitrobacter* .

$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3 + \text{energy}$$

عملية عكس النترجة Denitrification:

هي عملية إختزال للنترات بوساطة الأحياء المجهرية وتقوم بها عادة أجناس محددة من البكتيريا الهوائية الإختيارية مثل: *Thiobacillus, Pseudomonas, Bacillus, Flavobacterium, Agrobacterium* وفي الغالب تكون هناك عمليات أخرى تنتهي بإنطلاق النيتروجين الجوي، والمخطط التالي يوضح مسار عملي ة عكس النترجة وإنطلاق النيتروجين:

$$\mathbf{NO_3 \longrightarrow NO_2 \longrightarrow NH_3 \longrightarrow N_2}$$

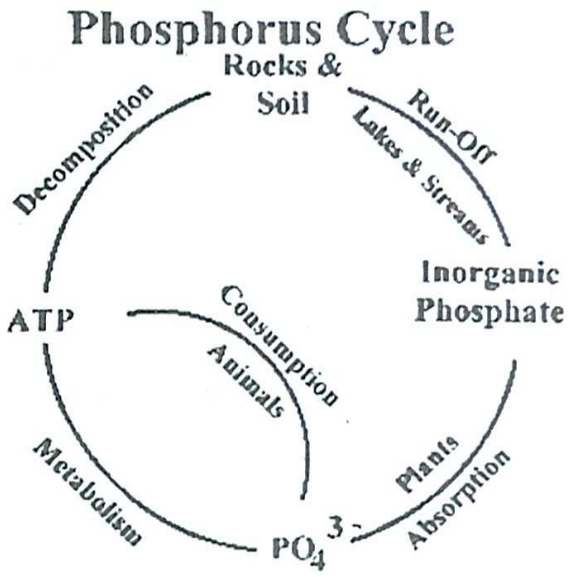
تتم جميع خطوات التفاعل بوجود إنزيمات، فعملية إختزال النترات إلى نتريت تتم بوساطة إنزيم إختزال النترات Nitrate reductase، أما عملية إختزال النتريت فتتم بوساطة إنزيم إختزال النتريت Nitrite reductase. وتلجأ الميكروبات إلى إختزال النترات بهدف أكسدة المواد العضوية للحصول على الطاقة تحت الظروف اللاهوائية.

تتأثر عملية النترجة بظروف التربة فهي تزداد نشاط ا في الظروف اللاهوائية خصوص ا عندما تكون التربة مغمورة بالماء، كما أن وجود نسبة عالية من المواد العضوية في التربة يشجع على عملية إختزال النترات، أما بالنسبة لحموضة التربة فإن معظم الميكروبات المسؤولة على عكس النترجة حساسة للحموضة حيث تنخفض أعدادها في الترب الحامضية، أما الحرارة المثلى فهي بحدود 25°م تقريبا .

دورة الفسفور وعلاقتها بميكروبات التربة:

يعتبر الفسفور من العناصر الأساسية المهمة للكائنات الحية، يوجد الفسفور في التربة وفي الصخور والنباتات والحيوانات والأحياء الدقيقة على شكل مركبات عضوية وغير عضوية .وتلعب الأحياء الدقيقة دور ا مهم ا في التحولات التي تجري على مركبات هذا العنصر وتشمل هذه التحولات إذابة مركبات الفسفور غير العضوي ومعدنة المركبات العضوية للفسفور مع إنتاج الفوسفات غير العضوية وتمثيل الفسفور من قبل النباتات والحيوانات والأحياء الدقيقة وعمليات الأكسدة والاختزال ويمكن توضيح دورة الفسفور بالمخطط التالي:

1987 - 1408
UNIVERSITY OF ANBAR



يعتبر معدن الأباتايت Apatite مصدر الفسفور المعدني في التربة ويتواجد على شكل كلور وفلور وهيدروكسي أباتايت $Ca_5(PO_4).Cl.F.OH$، ويشكل الفسفور العضوي في التربة نسبة)15-85 %(من الفسفور الكلي فيها، وتحتوي أنسجة المحاصيل على نسبة)05.0 -5.0 %(فسفور عضوي والذي يتواجد على صور مركبات عديدة منها الفايتين Phytin الذي يمثل ملح الكالسيوم أو المغنيسيوم لحامض الفايتك Phytic acid والفوسفوليبيدات ،وأحماض نووية وسكريات مفسفرة ومرافقات الإنزيمات كما يمكن أن يتواجد الفسفور داخل الفجوات الخلوية على شكل فوسفات غير عضوية.

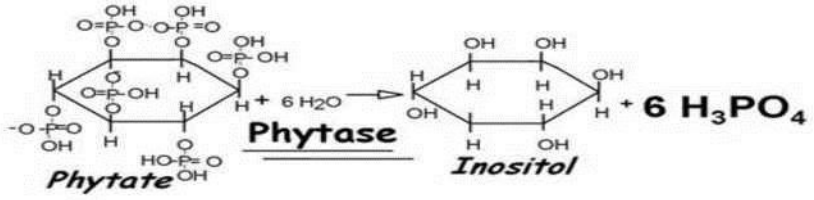
تتم عملية إذابة الأبتايت أو المركبات غير الذائبة بوساطة مجموعة من الأحماض العضوية التي تنتجها الأحياء المجهرية وتشمل تلك الأحماض الستريك واللاكتيك والأوكساليك كما تستطيع بعض الأحياء التي تعمل على أكسدة الكبريت والنتروجين إنتاج أحماض الكبريتيك والنتريك التي تساعد في زيادة ذوبان الفسفور.

تتمكن العديد من الأحياء المجهرية سواء كانت ذاتية أو غير ذاتية التغذية الإشتراك في عملية إذابة الفسفور غير الذائب ويمكن التأكد من قدرة تلك الميكروبات على إذابة المركبات غير الذائبة بتنميتها على أوساط غذائية تحتوي على $Ca_3(PO)_2$ أو مسحوق معدن الأباتايت كمصدر وحيد للفسفور، ومن أشهر الأحياء الدقيقة التي لها القدرة على إذابة المركبات غير الذائبة للفسفور *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*.

معدنة الفسفور Phosphorus Mineralization:

يقصد بها تحول الفسفور الموجود في المركبات العضوية إلى مركبات معدنية وتتم بفعل إنزيمات خارجية تعرف بـ Phosphatase فوسفاتيز حيث تقوم بفصل الفسفور من المركبات العضوية. وهذه الإنزيمات بعضها يستطيع العمل ضمن الوسط القاعدي والبعض الآخر ضمن الوسط الحامضي وتستطيع العمل على عدة أنواع من المركبات. بالنسبة إلى حامض الفايتك Phytic acid فإن إنزيم الفايتيز Phytase يعمل على تحليله كما في المعادلة الآتية:

UNIVERSITY OF ANBAR



على عكس الكاربون والنتروجين، لا يوجد الفسفور في الجو، لكنه ينشأ عن جسيمات الصخور الممتزجة في التربة . وتمتص النباتات الفسفور بوساطة جذورها والحيوانات تحصل عليه عندما تأكل النبات أو حيوانات أخرى وعندما تموت الكائنات الحية، يعود فسفورها إلى التربة، إذ يتحلل الفسفور بسهولة. وإغتسال التربة بالماء يتسبب بإنجرافه إلى البحر بإستمرار، فيتحول من جديد بعد ملايين السنين إلى صخور فسفورية.

1987 1408
UNIVERSITY OF ANBAR