

دراسة مثال على أحد علاقات التكافل بين الكائنات الدقيقة والنبات مثل
التثبيت الحيوي للنيتروجين الجوي تكافلياً
**Symbiotic Nitrogen Fixation by Rhizobium as
an Example of Mutualism**

بكتيريا العقد الجذرية
Rhizobium





التثبيت الحيوي للنيتروجين تكافلياً Symbiotic Nitrogen Fixation

الطرق الحيوية لتثبيت النيتروجين تعتمد على الكائنات الدقيقة وخاصة البكتيريا فتستطيع بعض أنواع البكتيريا تثبيت النيتروجين بطريقة "التكافل" الذي يحدث بالفعل المشترك بين :

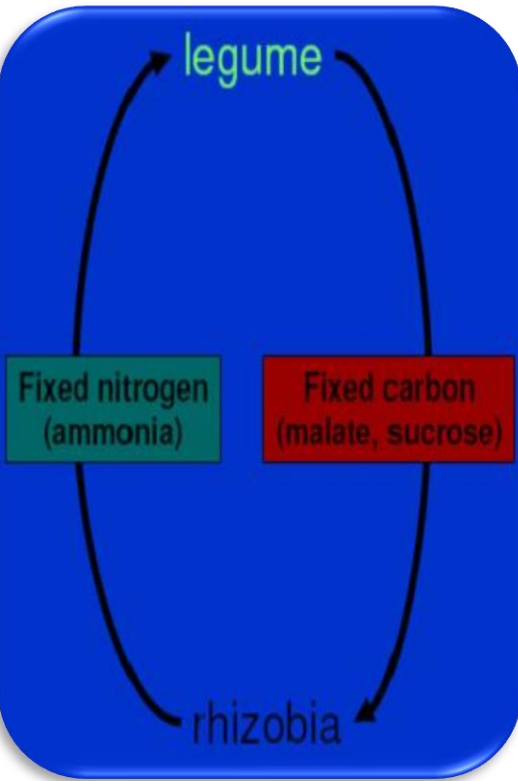
بكتيريا العقد الجذرية و النباتات البقولية

علاقة تبادل المنفعة بين بكتيريا *Rhizobium* و النباتات البقولية Legumes

تمثل علاقة تبادل المنفعة بين بكتيريا *Rhizobium* و النباتات

البقولية : (مثل البرسيم والبسلة والفاصوليا والفول وفول الصويا) أحد أشهر الأمثلة للعلاقات البيئية بين الميكروبات و بين الكائنات الراقية ، و في هذه العلاقة نجد أن كلا الكائنين يستفيد من الآخر - حيث يقوم النبات بإمداد البكتيريا بالمصدر الكربوني (السكر) ومصادر الطاقة و الاحماض العضوية وغير العضوية - فيما **تقوم البكتيريا** بعملية تثبيت النيتروجين الجوي و تحويله الى صورة يمكن للنبات العائل ان يستفيد منه - كتحويله الى احماض امينية مثل الجلوتاميك Glutamic acid و

الاسبراجين Asparagin.



المميزات الرئيسية لبكتريا العقد الجذرية:

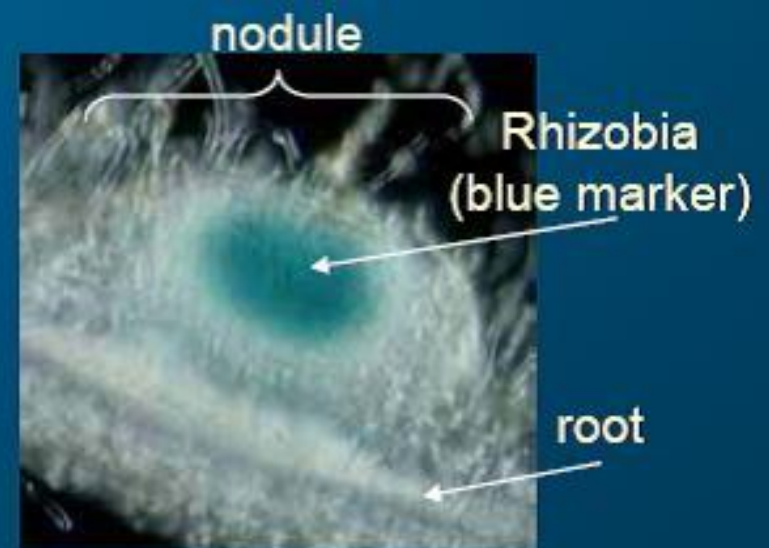
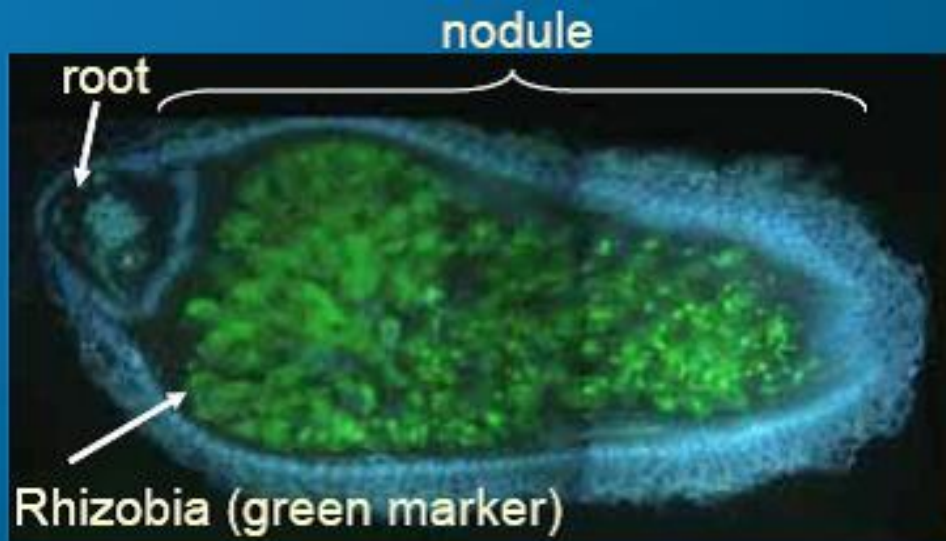
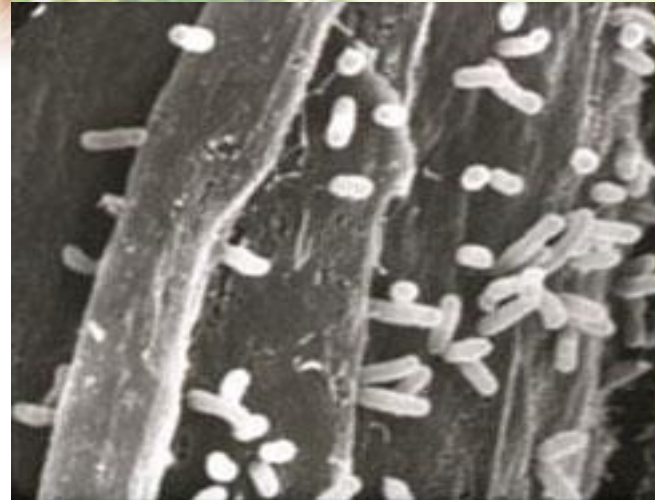
- تتبع بكتريا العقد الجذرية جنس *Rhizobium* وهي سالبة الجرام.
- بكتريا صغيرة عصوية الشكل حجمها $0.5-0.9 \times 1.2-3 \mu\text{m}$.
- غير متجრثمة وخلاياها متحركة بسوط قطبي وحيد أو عدة أسواط محيطية.
- هوائية إجبارياً *strict aerobes*.
- قد تعيش حرة في التربة .
- وتحتوي انزيم *Nitrogenase* وتحاط بكبسولة من *exopolysaccharide* لتحميها من الجفاف وكذلك مساعدتها في الالتصاق بالشعيرات الجذرية والالتصاق بها خلال عدة مراحل من دورة حياته.



المميزات الرئيسية لبكتريا العقد الجذرية:



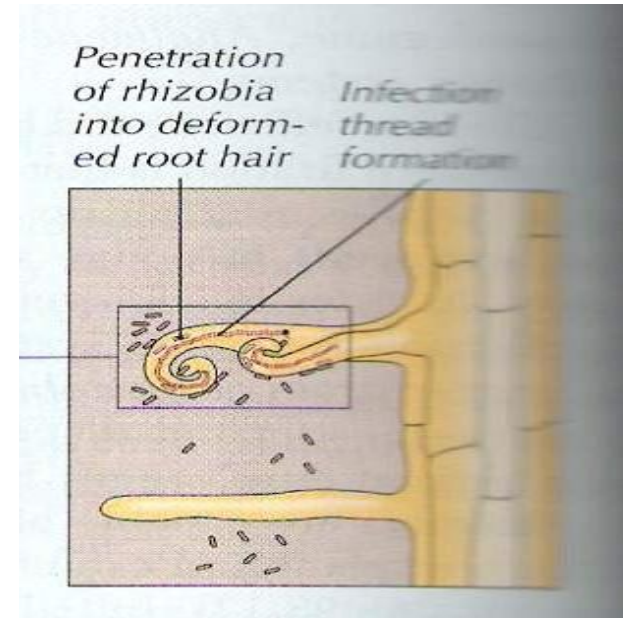
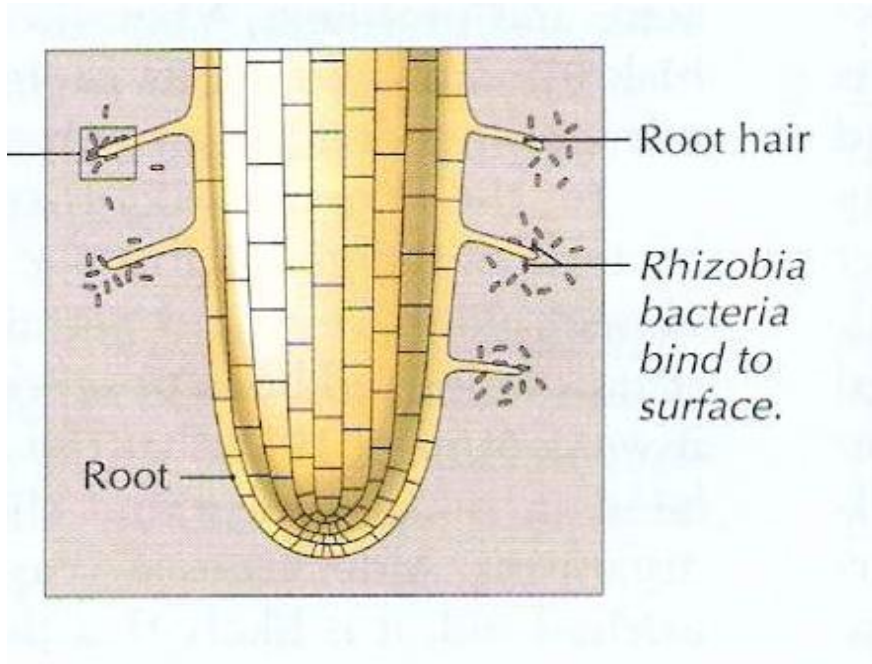
- قدرة على إصابة نباتات بقولية معينة محدثة العقد الجذرية ، فلكل نبات بقولي أو مجموعة من النباتات البقولية نوع أو سلاسل معينة من جنس *Rhizobium* التي تستطيع أن تكون عليها العقد ، بينما لا تستطيع ذلك سلالة أخرى .
- العلاقة عالية التخصص.
- تظهر المستعمرات بيضاء اللون ، دائرية الشكل ومحدبة ، وشبه شفافة ومخاطية.
- تحتوي جين لتثبيت النيتروجين يسمى (*nif genes*) في البلازميد الكبير بها.
- التفاعل المتبادل عالي التخصص ؛ أي أن كل نوع من البكتيريا يتخصص في علاقة تكافلية مع نوع من النباتات البقولية دون غيره. تتطور هذه العلاقة من خلال عدة خطوات ويؤدي الى تكوين العقد الجذرية أخيراً.





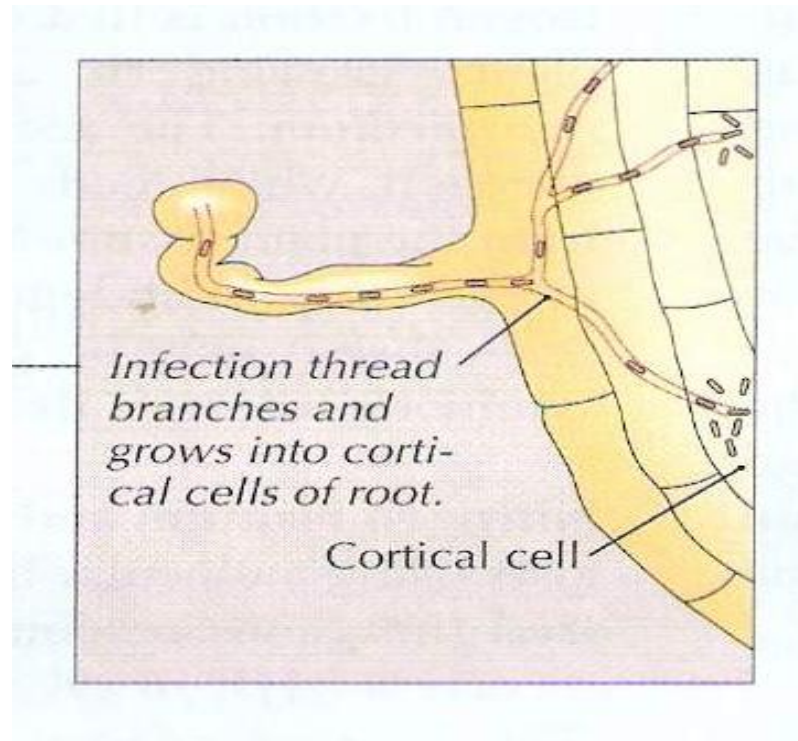
تكوين العقد الجذرية :

1- تعيش بكتيريا Rhizobium بصورة حرة في التربة ، عادة قريباً من جذور النباتات البقولية ، تقوم النباتات بافراز مواد مختلفة مثل **Flavonoids** ، هذه المواد تقوم بحث خلايا البكتيريا للاقترب أكثر من جذور النبات و محاولة اختراق الجذور .





2- عندما تتم عملية الاختراق يتكون خيط الإصابة **Infection thread** وهو المسار الذي تسلكه خلايا البكتيريا للوصول إلى داخل الخلايا الموجودة في الجذر .





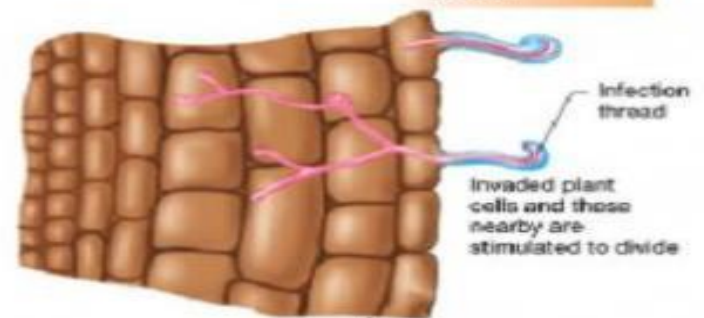
1. Recognition and attachment (rhicadhesin-mediated)



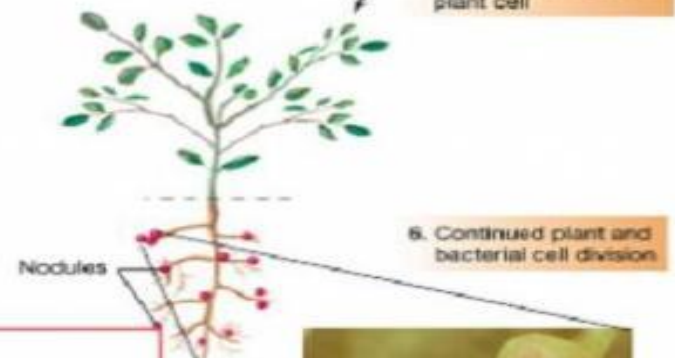
2. Excretion of nod factors by bacterium causing root hair curling

3. Invasion. Rhizobia penetrate root hair and multiply within an "infection thread"

4. Bacteria in infection thread grow toward root cell



5. Formation of bacteroid state within plant cell



6. Continued plant and bacterial cell division

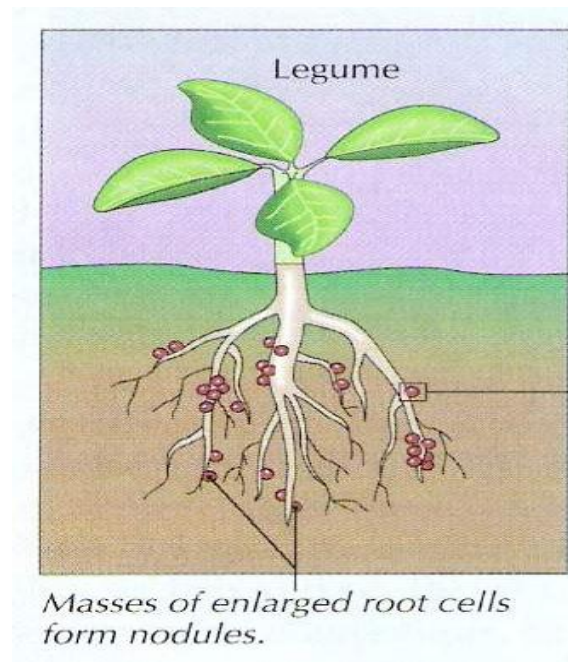
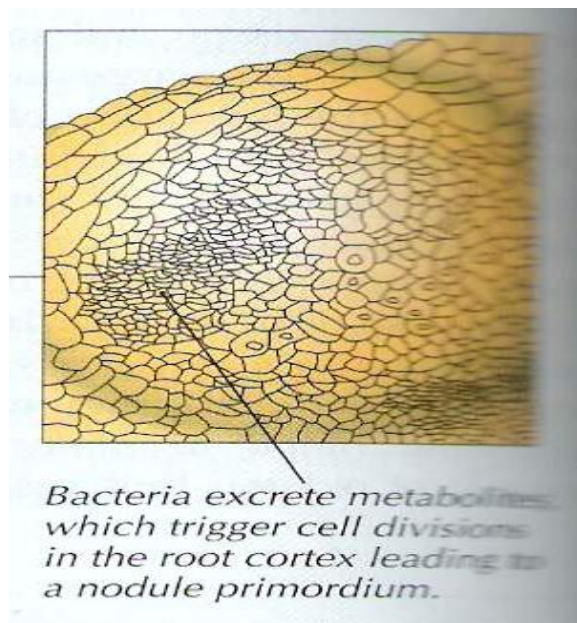


↑ **nitrogenase**





3- عندما تدخل البكتيريا داخل الخلايا النباتية تحاط بغشاء و تتحول بعد ذلك الخلية البكتيرية إلى طور يسمى **Bacteroid** تأخذ أشكال **TYLXV** (الحروف الصينية) ،وهو الطور الذي تستطيع البكتيريا من خلاله تثبيت النيتروجين لاحتوائها على انزيم النيتروجيناز المثبت لنيتروجين الهواء الجوي .



عزل بكتيريا العقد الجذرية

الأدوات:

بيئة *Rhizobium* صلبة في أطباق. إبرة تلقيح

أدوات التعقيم عينة عقد جذرية طازجة من بادرات الفول.

طريقة العمل:

- 1- تحت ظروف التعقيم، يتم نقل العقد الجذرية إلى أنبوبة ماء مقطر معقم 10 مل ونحصل على التركيز الأول (نقل العقد إلى طبق معقم يحتوي على كمية قليلة من الماء وتطحن بخفة ثم ينقل المعلق إلى أنبوبة الماء مقطر معقم).
- 2- يتم عمل تخفيفات متتالية serial dilution حتى التركيز 10⁻³
- 3- يتم نقل ملء عقدة من اللقاح إلى طبق بيئة الرايزوبيم ويلقح بالتخطيط
- 4- يتم التحضين عن 37°م لمدة 3 أيام .
- 5- تسجل المشاهدة والاستنتاج.



فحص بكتيريا الرايزوبيوم :

يتم الكشف عنها تحت المجهر بواسطة صبغ جرام

طريقة العمل :

1. تؤخذ قطرة من معلق الرايزوبيوم على الشريحة ونثبت الغشاء بتمريره خلال اللهب
2. تغمر الشريحة بصبغة الكريستال البنفسجي وتترك لمدة دقيقتين ثم تغسل الشريحة بالماء
3. تغمر الشريحة باليود وتترك لمدة دقيقة واحدة ثم تغسل بالماء
4. تغسل الشريحة بالكحول لمدة 5 - 10 ثواني
5. تغمر الشريحة بصبغة الصفرايين لمدة دقيقتين ثم تغسل الشريحة بالماء
6. تجفف الشريحة بورق الترشيح
7. توضع قطرة من زيت السيدر على الشريحة ثم تفحص الشريحة عند قوة 100 و تسجل النتائج