تثبيت النتروجين الجوي

بعد ان تمكن فينوجرادسكي من فصل الكلوستريديوم حاول ان يفصل غيرها من مكروبات تثبيت النتروجين فلجأ الى تسخين التربة للدرجة ٧٥ سنتجراد لينقص مكروباتها التي لا تكوّن جراثيم ظانًّا ان مكروبات تثبيت النتروجين ليست منها و بذلك تبقى فيسهل عليه فصلها ولكنهُ لم يوفق الى غرضهِ اذ ظهر ان المكروبات المذكورة من الطائفة التي لا تكوّن جراثيم . وفي سنة ١٩٠١ اكتشف بيرنك نوعين متشابهين من المكروبات يثبتان النتروجين اطلق على احدهما اسم ازوتوباكتر كروكوكوم[1] وعلى الثاني ازوتوباكتر اجيلس[2] والاول كان كثير الانتشار في الاراضي الزراعية اما الثاني فقد وجدهُ في مياه الانهار والترع وفصلها بالطريقة الانتخابية التي استخدمها فينوجرادسكي بنجاح من قبل في فصل مكروبات النترجة فاخذ محلولاً مركبًا من ٢ في المائة من المنيت و٢ر٠ في المائة من فصفات البوتاسيوم الثاني مذابة في ماء حنفية ولقحهُ بجرامات قليلة من التربة ثم تركهُ في درجة حرارة تتراوح بين ٢٠ — ٣٠ سنتجراد و بعد بضعة ايام تكون على سطح المحلول طبقة غشائية مكروبية . ثم اخذ يزرع المكروب بعد ذلك بنقلهِ من المحلول الى سطح مادة الاجار اجار التي جعل تركيبها كتركيب المحلول . بذلك توصل للحصول عليهِ نقيًّا . كذلك امكن بيرنك ان يستعيض عن المنيت بالدكستروز والفيلوز والبكروز والدكسترين واملاح الخلاّت والسمنات والبروبيونات وغيرها من المواد الآلية الكربونية التي يؤكسدها الازوتوباكتر وبذلك اثبت امكان الاستغناء عن المنيت بمواد آلية كربونية اخرى . الاّ انهُ لاحظ ان المكروب ينمو و يتكاثر بنشاط وحدهُ اذا زرع في محلول المنيت اما في محلول الدكستروز فتنمو معهُ مكروبات اخرى تسبب الحموضة . وفي المحاليل المشتملة على املاح السمنات والبروبيونات وما شابهها ينمو نقيًّا (وحدهُ) ولكن ببطء . ووجد ان تثبيت النتروجين يكون بنسبة ٧ ملليجرامات لكل جرام منيت او دكستروز يؤكسدهُ المكروب في حالة تلقيح المحلول بيوم من التربة مباشرة . وفي المحاليل التي زرع فيها المكروب نقيًّا (وحدهُ) وقف نموهُ في حالتين وفي حالتين اخريين كانت نسبة النتروجين المثبت ضئيلة جدًّا اذ كانت في حالة ١٣ر٠ ملليجرام وفي حالة اخرى ٠٢٧ر٠ ملليجرام لكل جرام من السكر تأكسد ولكن بيرنك يرجع المكروب النقي مع بعض

(١) Azotobacter chroococcum (٢) Azotobacter agilis

مكروبات الحامض السنيك مثل الجرنلوباكتر[1] والرادبوباكتر[2] والايروباكتر[3] توصل لنتيجة احسن اذ كانت النسبة ٩ر٥ ملليجرام نتروجين مثبت لكل جرام سكر تأكسد

فحاول بيرنك بعد ذلك ان يتسبب تثبيت النتروجين في حالة مزج الازوتوباكتر بالجرانيلوباكتر وامثالهِ الى الاخير دون الاول ظنًّا منهُ انهُ هو المسبب لتثبيت النتروجين في المحلول لتعيش عليهِ الازوتوباكتر . ولكن جرلاخ[4] وفوجل[5] قد اثبتا ان الازوتوباكتر كروكوكوم النقي في قدرتهِ تثبيت كميات كبيرة من النتروجين الاَّ ان قوتهُ في ذلك تضعف عند الكبر ووجدا في تجاربهما ان المكروب المربى منذ ١٨ يومًا اذا لقح في محلول ثبت من النتروجين بعد خمسة اسابيع ٩ر١٢٧ الملليجرام في اللتر والمربى منذ ١١٠ يومًا اذا لقح في المحلول ثبت ٩ر٥٤ الملليجرام في اللتر في المدة نفسها بينما المكروب المربى منذ ٣٢٨ يومًا لا يثبت سوى ٤ر٢٣ في اللتر الواحد في المدة عينها . وكذلك وجدا ان كمية النتروجين المثبت لكل جرام من السكر يستهلك تتوقف على كثرة وجود الهواء او قلتهِ ووجدا انها تتوقف كذلك على كمية السكر الموجود في المحلول فمثلاً ان نسبة ١٢ جرامًا من السكر في لتر من المحلول ارقى من غيرها اذ المكروب يثبت في هذه الحالة مقدار ٦ر١٠ الملليجرام من النتروجين كما تأكسد جرام سكر . وهذه ارقى نسبة بمقارنتها بغيرها فيما اذا كان اللتر من المحلول يشمل كمية من السكر اكثر من ١٢ او اقل منها اذ ثبت ان السكر اذا زاد عن ١٢ في اللتر بان كان ١٥ فانهُ لا يثبت من النتروجين سوى ٩ر٤ من الملليجرام لكل جرام من السكر اما اذا كانت كمية السكر اقل من ١٢ بان كانت ١٠ فانهُ لا يثبت سوى ١٤ر٩ من الملليجرام من النتروجين لكل جرام سكر . وذلك ناتج من ان زيادة تثبيت النتروجين تكون مطردة كلما ارتفعت كمية السكر من ١ — ١٢ اما فيما وراء هذا العدد فيحصل انعكاس في العملية بسبب تشبع المحلول لدرجة موقفة لنمو المكروب بنوع ما

ومما اوردهُ جرلاخ وفوجل ضرورة وجود الحامض الفصفوريك والكلسيوم لنمو المكروب وان كان يستغني عن المغنيسيوم والبوتاسيوم اذ لا يتوقف عليها هذا النمو

ان مكروب الازوتوباكتر كروكوكوم اهم انواع الازوتوباكتر نشاطًا وهو كثير الشيوع في الاراضي الزراعية في العالم فقد فصل من اراضي مصر وافريقية الشرقية والهند ونيوزيلندا وروسيا وغيرها ولكنهُ لا يوجد في الاراضي الحمضة والاراضي الرملية الجافة . ووجوده

(١) Granulobacter (٢) Radiobacter (٣) Aerobacter
(٤) Gerlach (٥) Vogel

يكون على الدوام في الطبقة السطحية من الارض على عمق يتراوح بين ٥٠ و ٦٠ سنتمتراً بخلاف الكلوستريديوم فانهُ يوجد في طبقات اكثر عمقاً من هذه تتراوح بين ١٠٠ — ٩٠٠ سنتمتراً. ذلك لان الكلوستريديوم من المكروبات اللاهوائية فلا ضرر من وجوده في طبقة سطحية عن الهواء أما الازوتوباكتر فانهُ مكروب هوائي يوجد في الطبقة التي يتخللها الهواء وعليهِ فعملية تثبيت النتروجين تتم في الطبقة السطحية بعمل الازوتوباكتر وفيما تحتها بعمل الكلوستريديوم

والازوتوباكتر كروكوكوم يكون بيضي الشكل او كروياً بادئ بدء ومتحركاً بذنيبات عديدة في احد طرفيهِ وهو يوجد فرداً او زوجاً فاذا كان بيضياً تراوح طولهُ بين ٤ — ٥ ميكرونات وكان عرضهُ ٣ ميكرونات ومن مميزاتهِ انهُ اذا صبغ بمحلول اليود في صفرو تلون بالصفرة فاذا كبر وصبغ بالمحلول المذكور تلون بالحمرة القاتمة وذلك لتكون مادة الجليكوجين فيهِ . واذا زرع على سطح منبت الاجار اجار في الدرجة ٣٠ سنتجراد يكوّن بادئ بدء مجموعات بيضاء لامعة صغيرة الحجم مستديرة الشكل محدبة تكبر تدريجاً وبعد زمن يظهر في وسط كل مجموعة منها نقطة سوداء محاطة بحلقات سوداء متبادلة مع اخرى بيضاء . فاذا كمل نمو هذه المجموعات اسودت تماماً وصار قطر كل منها ٥—٦ ملليمترات تقريباً . والازوتوباكتر كروكوكوم يتميز عن الكلوستريديوم بعدم تكوين الجراثيم وبكونهِ هوائياً وبانهُ لا يكون الحامض السمنيك

اما الازوتوباكتر اجيلس الذي فصلهُ بيرنك من مياه الانهار فاكبر حجماً من سابقهِ بيضي الشكل شفاف اللون يتحرك بذنيبات في احد طرفيهِ ويسهل تمييزهُ اذا زرع على سطح الآجار اجار المشتمل على ٢٠ في المائة من بروبيونات الكلسيوم بدلاً من السكر لانهُ في هذه الحالة ينمو جيداً ويكون مجموعات مستديرة بيضاء كل منها محاط بمنطقة خضراء فاترة

وهناك نوعان آخران من الازوتوباكتر فصلهما لبيانت من اراضي امريكا هما ازوتوباكتر ڤاينلانديای[1] وازوتوباكتر بيرنكاي[2] والاول بيضي الشكل اذا زرع في محلول المنيت يكون غشاء ابيض اللون على سطحهِ يصفر بعد زمن ثم يحمر قليلاً واذا زرع على سطح منبت الاجار اجار يكون مجموعات مستديرة شفافة في اول الامر ثم تصفر تدريجاً وتتراوح طول قطر كل منها بين ٢ الى ٤ ملليمترات والثاني كروي الشكل اكبر من جميع الانواع السابقة غير متحرك واذا زرع في محلول المنيت ينشأ عنهُ راسب ابيض وتتكون كذلك مجموعات بيضاء صغيرة على سطح السائل وعلى جدران الاناء . وهذه الانواع لم يتحقق

(١) Azotobacter vinelandii (٢) Azotobacter Beijerinckii

وجودها في الاراضي المصرية الى الآن . ولم يعرف شيء كثير عن التغيرات الكيماوية التي تحدثها الازوتوباكتر اثناء تثبيتها عنصر النتروجين وغاية ما عرف منها الى الآن هو تكون غاز ثاني اكسيد الكربون مع كيات قليلة من الحوامض الآلية وقد استدل على ذلك من تجربة اجراها ستوكلاسا [1] في سنة ١٩٠٨ فاخذ محلولاً غذائياً في تركيبه ٩ر١٥ الجرام من الدكستروز وتلقحهُ بالازوتوباكتر لكي يقف على عملهِ فقدر بعد ذلك ان ٩ر٧ الجرام من الدكستروز تحولت الى ثاني اكسيد الكربون و ٣ر٠ الجرام الى كحول ايثيلي و ٣ر٠ الجرام الى الحامض الفورميك و ٧ر٠ الجرام الى الحامض الخليك و ٢ر٠ الجرام الى الحامض اللبنيك ولم يستطع معرفة ما آلت اليهِ الكية الباقية وهي ٦ر٦ الجرام من الدكستروز . وقد وجد ان النتروجين يثبت في نفس الخلايا المكروبية الاَّ قليلاً منهُ وجد على صورة مركبات ذائبة في المحلول

يشبه الازوتوباكتر الكلوستريديوم في انهُ يحصل على القوة اللازمة لحياتهِ من المركبات الآلية التي يؤكسدها ومن الضروري لهُ وجود الجير او كربونات الكلسيوم واملاح الفصفات وغيرها من الاملاح المعدنية و ينعدم اذا لم يحصل على كفاية من هذه المركبات . فما اثبتهُ فشر [2] انهُ ينعدم او يتوقف عملهُ اذا كانت التربة مشتملة على اقل من ١ر٠ في المائة من الجير

ان وجود مركبات النتروجين ليس ضرورياً لهُ ولكن يناسبهُ وجود كيات قليلة جداً في اول الامر لكي يبدأ عملهُ . اما كثرة وجود تلك المركبات فانها تضعفهُ وربما ينشأ عنها استنفاض املاح النترات الى نتريت فتشادر بعملية عكس النترجة

ولا بد للازوتوباكتر من الرطوبة الكافية في التربة بحيث تتراوح نسبتها بين ٥ — ١٥ في كل مائة جرام منها . وكذلك الحرارة يجب ان تكون درجتها من ٢٥ — ٣٠ سنتجراد اما اذا ارتفعت عن ٣٥ او نقصت عن ١٠ فان ذلك يسبب ضعف المكروب ويحدث تغيراً في شكلهِ بحيث يصير عاجزاً عن القيام بعملهِ

كان فرانك وهلريجل قد اثبتا في تجاربهما سنة ١٨٨٨ ان الاراضي التي يكثر على سطحها نمو نباتات الاجي الخضراء تزداد فيها كية النتروجين ما دامت معرضة لضوء الشمس اما اذا منع عنها الضوء أو حجبت بطبقة من الرمل تعطل نمو تلك النباتات فلا تزداد فيها كية النتروجين فذهبا الى القول بان نباتات الاجي في قدرتها تثبيت النتروجين من الجو ولكن كوفتش [3] وغيره من العلماء قالوا ببطلان هذا الرأي لانهم زرعوا انواعاً نقية من الاجي

(١) Stoklasa (٢) Fischer (٣) Kossowitsch

مثل سستوكوكوس[1] وستيجوكوكوس[2] في بيئات خالية من مركبات النتروجين معرضة للضوء فوجدوها لا تنمو مطلقاً مع وجود كفايتها من نتروجين الهواء ثم وجدوها تنمو جيداً اذا أُمدت بالنترات وما ذاك الاَّ لانها لا تثبت النتروجين وقد ايد هذا الرأي بريانك[3] بتجارب اجراها على الالجى التي تدعى نستوك[4]

وبعد القطع بعدم مقدرة الالجى على تثبيت النتروجين رأى كوفتش في سنة ١٨٩٤ انهُ لا بد من سبب لزيادة كمية النتروجين في الارض التي يكثر على سطحها نمو الالجى فاضاف مكروبات التربة الى انواع من الالجي النقية وعلى الاخص الى النستوك وربا هما معاً في بيئة واحدة فحدث تثبيت النتروجين الجوي فقال بنسبة تثبيت النتروجين الى مكروبات التربة وبان هناك تبادل نفع بين الالجى والمكروبات اذ الالجي تجهز المركبات الآلية من ثاني اكسيد الكربون الجوي بتأثير ضوء الشمس لتغذية المكروبات وفي نظير هذه المنفعة تجعل الالجى على نتروجين الجو المثبت لعمل المكروبات كغذاء . وقد زاد رأي كوفتش وضوحاً باكتشاف الازوتوباكتر وثبوت انهُ يتبادل النفع مع الالجي

ان العلماء وان اثبتوا بتجاربهم اقتدار الازوتوباكتر على تثبيت النتروجين الجوي وانهُ يعيش في التربة مع الالجى متبادلاً النفع معها فلم يتوفقوا لمعرفة مقدار نشاط الازوتوباكتر في التربة تحت الظروف الطبيعية المختلفة وذلك بالنظر للصعوبات التي يلاقيها الكيماويون في تقدير كميات النتروجين الفسيلة التي تضاف الى التربة بعمل الازوتوباكتر ولما يطرأ من النقص في نتروجين التربة نفسه بسبب وجود المواد الآلية . على ان مجرد وجود الازوتوباكتر في التربة لا يمكن اعتباره دليلاً على انهُ يثبت النتروجين قطعاً وانما يدلل على ذلك تجارب دقيقة يجب اجراؤها على نفس التربة تحت الظروف الطبيعية المختلفة وهذا اشبه شيء بالمستحيل . اما الطريقة المتبعة لتقدير نشاط الازوتوباكتر باضافة كميات من السكر او المواد الكربوهيدراتية الاخرى الى التربة لمعرفة التغيير الواقع في محتوياتها النتروجينية فقد انتقدها رَصِل لان اضافة مقادير السكر الى التربة وان كانت تساعد على تثبيت النتروجين الاَّ انها قد تحدث نقصاً في النترات بدليل ما اثبتهُ الفريد كوخ في تجربته سنة ١٩٠٧ اذ اخذ ٥٠٠ جرام من الطمي المخلوط بالرمل وطردها على اطباق لكي يتخللها الهواء بسهولة ثم اضاف اليها مقادير قليلة من الدكستروز تدريجاً بنسب مخصوصة وتركها رطبة على الدوام في الدرجة ٣٠ سنتجراد فشاهد حدوث تثبيت النتروجين بسرعة وبنسبة

(١) Cystococcus (٢) Stichococcus (٣) Bouilhac (٤) Nostoc

مطردة الى ان بلغ غايته بعد ١٨ اسبوعاً ثم اخذ في النقصان بعد ذلك . وكذلك الطريقة التي اتبعت في جزيرة موريشس لتقدير نشاط الازوتوباكتر بتحميد زراعة قصب السكر بمقادير من رب العسل [1] فانها وان احدثت زيادة في المحصول الا انها لم تكن برهاناً صحيحاً على اطرادها بدليل ان الطريقة نفسها اجريت في جزر هاواي فكانت النتيجة بالعكس مع حدوث استنقاص في ثروات التربة . ولم لا يقال في الحالة الاولى ان رب العسل او المواد السكرية والكربوهيدراتية لم يستعملها الازوتوباكتر غذاء فينشط بها وانما كانت سماداً للنبات خاصة على ان اضافة السكر او المواد الكربوهيدراتية الى التربة فضلاً عن كونها ليست بدليل قاطع على ازدياد تثبيت النتروجين لما سبق فان طرق الفلاحة تأباها ولا تسمح باستخدامها

وليست مكروبات تثبيت النتروجين قاصرة على جنس الكلوستريديوم والازوتوباكتر فقط بل هناك مكروبات اخرى كثيرة تقوم بهذا العمل غير ان الصعوبات في البحث تحول دون معرفة الشيء الكثير عنها فمثلاً في سنة ١٨٩٥ فصل كارون [2] بالمانيا مكروباً منها وحصل عليه نقياً بكميات كبيرة اذ رباه صناعياً وعرضه للبيع للزارعين تحت اسم الينيت [3] معلناً انه يثبت النتروجين الجوي اذا لقح في الاراضي الضعيفة فيزداد به غناء النباتات وتكثر حاصلاتها فاجتذب العلماء بفحص تركيب الالينيت وعمل التجارب عليه ليقفوا على تأثيره في التربة فثبت لهم انه مشتمل على مكروب نقي اطلق عليه اسم باسيلوس الينباخنس [4] يشبه كثيراً مكروبات التربة العادية مثل باسيلوس مجاتيريوم وباسيلوس ميكوديس وباسيلوس سجليس المشهورة بكبر حجمها وتحكونها للجراثيم وبحاجتها للهواء وقد ثبت ان في قدرته تثبيت النتروجين في ظروف مخصوصة وان في استطاعته كذلك استنقاص النترات في ظروف اخرى بمعنى ان له عملين مختلفين في التربة يؤدي احدهما الى زيادة المركبات النتروجينية والآخر الى نقصانها وقد اثبتت بعض التجارب العملية التي اجريت في الحقول عليه زيادة محسوسة في حاصلات الارض باستخدامه وفي بعض التجارب الاخرى لم تحقق زيادة ما ولذلك تضاربت فيه الآراء ولم يجتمع الراي على استخدامه وتعميم نشره

محمود مصطفى الدمياطي
مدرس بمدرسة الزراعة العليا بالجيزة

(١) Molasses (٢) Caron (٣) Alinit (٤) Bacillus allenbachensis