



# الدرس العملى العاشر



دور الميكروبات في  
تحليل المادة العضوية  
في التربة

عند إضافة المادة العضوية الى التربة تقوم ميكروبات الأرض بتحليلها إنزيميا للحصول على الطاقة وبناء خلايا ميكروبية جديدة ولا تتحلل مكونات المادة العضوية كلها بسرعة واحدة ولكن تختلف سرعات التحلل حسب المكون حيث تكون المواد القابلة للذوبان من الأحماض العضوية والأحماض الأمينية والسكريات البسيطة أسرعها تحللا ثم يليها فى التحلل النشا والسيليلوز والهيميسليلوز وأخيرا اللجنين.

وسوف ندرس فى هذا الجزء تحليل المواد العضوية ميكروبيا فى التربة.

## أولاً : تحليل السليلوز :

يتم تحليل السليلوز في التربة بواسطة بكتريات هوائية ولاهوائية وإختيارية والتي تفرز مجموعة من الإنزيمات القائمة بالتحليل والتي يطلق عليها إنزيمات السليوليز ويستخدم ورق الترشيح المعقم كمصدر للسليلوز يضاف إلى البيئات المعدنية المستخدمة:

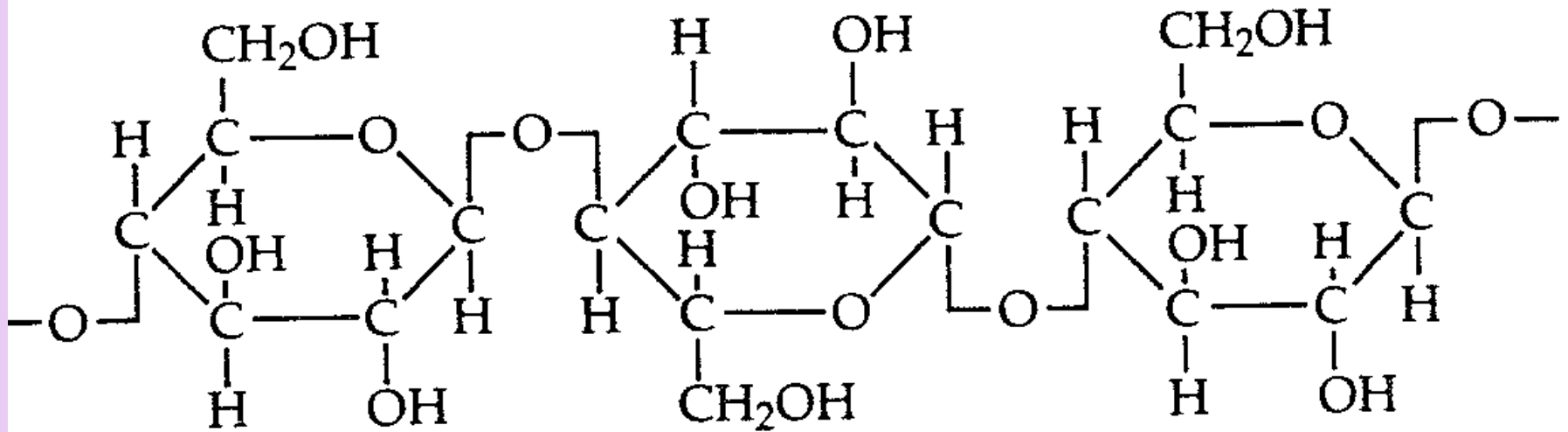
### ١- تحليل السليلوز هوائياً في أنابيب :

#### الأدوات والمواد المستخدمة :

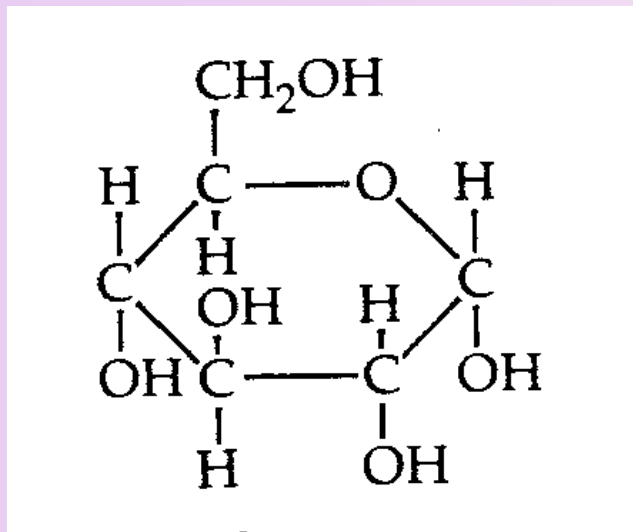
- ١- عينة التربة الخصبة.
- ٢- زجاجات تحتوى كل منها على كمية من ماء حنفية معقم.
- ٣- شرائط من ورق الترشيح.
- ٤- ماصات معقمة .
- ٥- أنابيب إختبار .
- ٦- البيئة المستخدمة

## خطوات العمل:

- ١- تقطع أوراق الترشيح إلى شرائط  $1 \times 5$  سم وتوزع البيئة في أنابيب بمعدل ٥ مل ثم يضاف إلى كل أنبوبة شريط من ورق الترشيح وتعقم البيئة .
- ٢- يتم تحضير تخفيفات من عينة الأرض موضع الدراسة بحيث يكون لكل تخفيف ٥ مكررات.
- ٣- يتم تلقيح الأنابيب الممثلة لكل تخفيف بإضافة ١ سم<sup>٣</sup> إلى كل أنبوبة وتحضن الأنابيب بعد تلقيحها ٢٨-٣٠ م° .
- ٤- يتم الكشف عن نتيجة التحليل بعد حوالي ٢٠-٣٠ يوم من التحضين حيث يلاحظ الأنابيب موجبة النتيجة وقد ظهرت بقع صفراء إلى بنية على ورقة الترشيح عند نقطة إلتقاء سطح البيئة مع ورقة الترشيح مع حدوث تآكل ورقة الترشيح



## التركيب الكيميائي للسليلوز



## الجلوكوز

نتاج تحلل السليلوز إنزيميا

٢- تحليل السليلوز هوائيا فى أطباق:

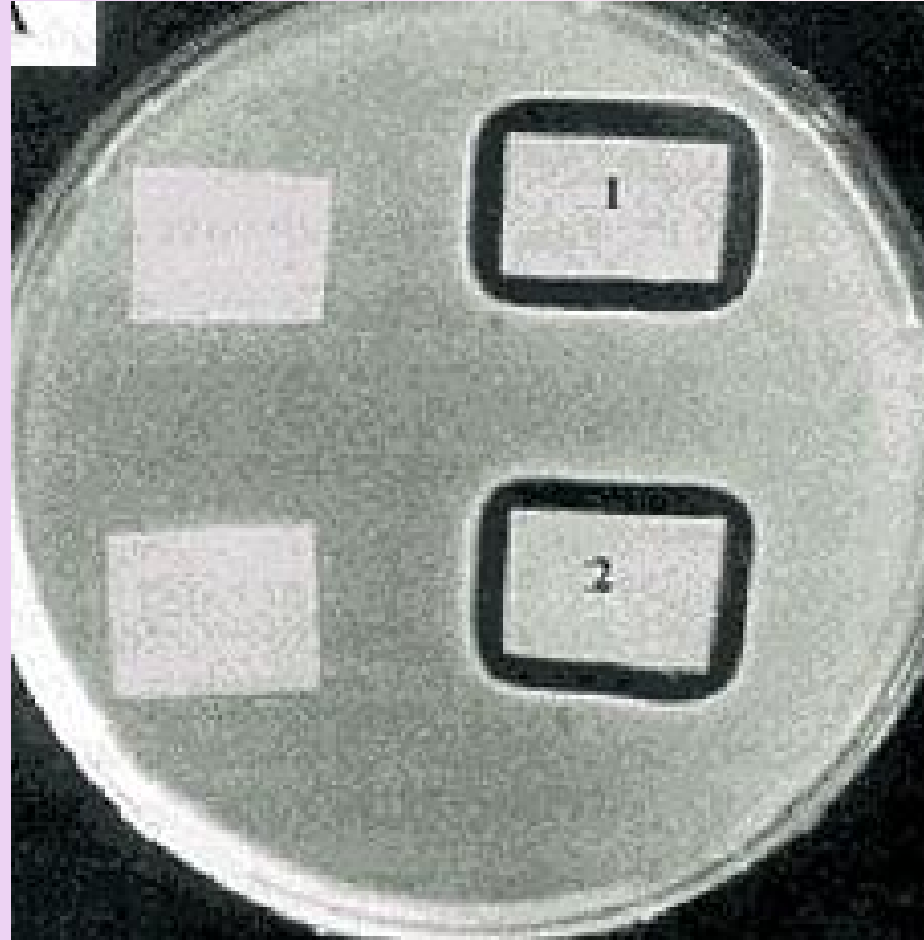
الأدوات والمواد اللازمة:

- ١- عينة التربة الخصبة.
- ٢- زجاجات العينات التى تحتوى كل منها على ٩٠ مل ماء حنفيه معقم .
- ٣- أطباق بترى.
- ٤- البيئة المستخدمة

## خطوات العمل:

- ١- يتم عمل تخفيفات من التربة موضع الدراسة.
- ٢- تلقح أطباق بترى المعقمة بمعدل ١ سم<sup>٣</sup> لكل طبق مع مراعاة عمل أربعة أو خمسة أطباق مكررة لكل تخفيف .
- ٣- تصب البيئة فى الأطباق ويتم خلط اللقاح جيدا مع البيئة المصبوبة وتترك الأطباق حتى تبرد ثم توضع فى الحضان على درجة حرارة ٢٨-٣٠ م° .
- ٤- يتم ملاحظة المستعمرات التى تنمو على الأطباق باستمرار حيث تظهر المجاميع المحللة للسليولوز مميزة بوجود هالة رائقة حول المستعمرة دلالة على تحليل الميكروبات للسليولوز





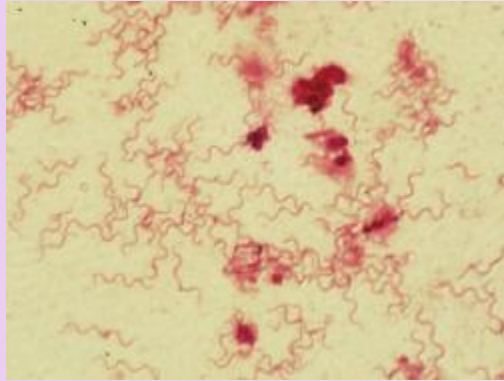
تحليل السليلوز هوائى فى اطباق

## ملحوظة:

فى طريقة الأنابيب يأخذ جزء من ورقة الترشيح التى ظهرت عليها البقع البنية ثم تفتت فى ماء مقطر معقم فى طبق بترى ويتم عزل الميكروبات التى عليها فى صورة مزارع نقية بطريقة التخطيط أو الصب . أما فى طريقة الأطباق فيتم إلتقاط المستعمرات التى ظهرت حولها هالة رائقة وتنقل على آجار مغذى مائل كمزارع نقية محللة للسيليلوز .

يتم عمل أغشية للمزارع النقية المحللة للتعرف على أشكال الميكروبات المحللة للسيليلوز هوائيا فى التربة .

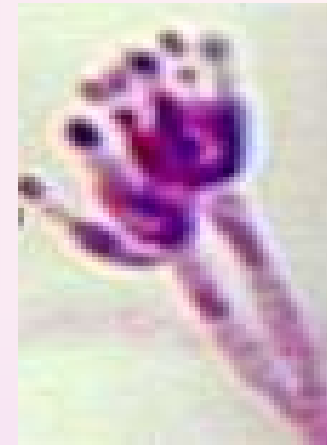
## الميكروبات المحللة للسليولوز



*Streptomyces*



*Aspergillus*



*Penicillium*



*Vbrio*



*Peudomonas*



*Bacillus*

### ٣- تحليل السليلوز لا هوائيا:

حيث تقوم به ميكروبات تابعة لجنس *Clostridium* ونتيجة التحلل تحت الظروف اللاهوائية تنتج أحماض عضوية ، ثاني أكسيد الكربون ، الميثان، الأيدروجين حيث تكون عملية الأكسدة غير كاملة كما في الظروف الهوائية.

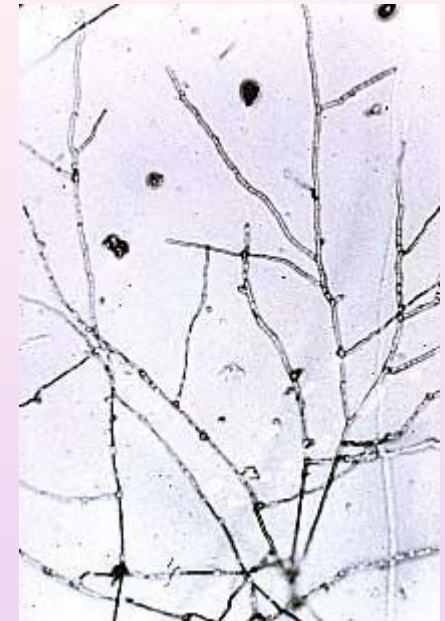
### الأدوات والمواد المستخدمة:

- ١- عينة تربة خصبة أو عينة سماد الإسطل.
- ٢- زجاجات التخفيفات والتي تحتوى كل منها على كمية من ماء الحنفية.
- ٣- أنابيب اختبار.
- ٤- ماصات معقمة.
- ٥- شرائط ورق الترشيح.
- ٥- فاسبار أو آجار مائى
- ٦- البيئة المستخدمة هي بيئة أمليانسكى

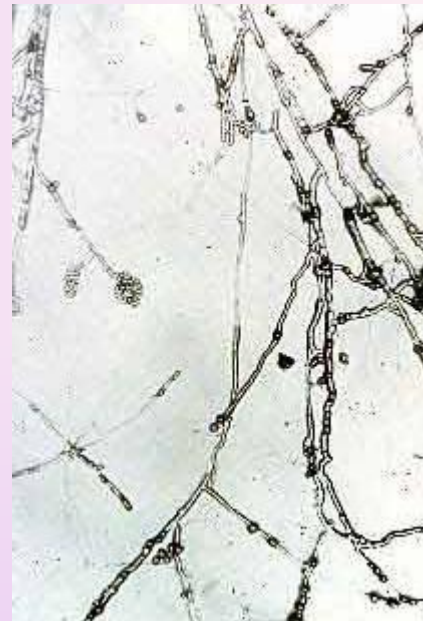
## خطوات العمل:

- ١- عمل تخفيفات من سماد إسطبيل أو من التربة الزراعية.
- ٢- تلقح أنابيب الإختبار المحتوية على البيئة المعقمة بمعدل ١ مل من التخفيفات مع توفير ظروف لا هوائية عن طريق إضافة كمية من الفاسبار المسيل أو الآجار المائى المسيل تحت شروط التعقيم ومراعاة عمل مكررات للتخفيفات المختلفة .
- ٣- توضع الأنابيب الملقحة فى الحضان على درجة حرارة ٣٠-٣٥ م° .
- ٤- يلاحظ تآكل فى ورق الترشيح وظهور بقع صفراء بنية عالية مع وجود غازات تدفع طبقة الفاسبار إلى أعلى دلالة على وجود ميكروبات لاهوائية محللة للسليولوز فى عينة التربة المختبرة.
- ٥- لمعرفة أشكال الميكروبات اللاهوائية التى تقوم بتحليل السليولوز تأخذ ورقة الترشيح الممزقة ويتم هرسها فى ماء معقم ثم يعزل منها الميكروبات المحللة ويتم عمل غشاء لكل ميكروب للتعرف على شكله.

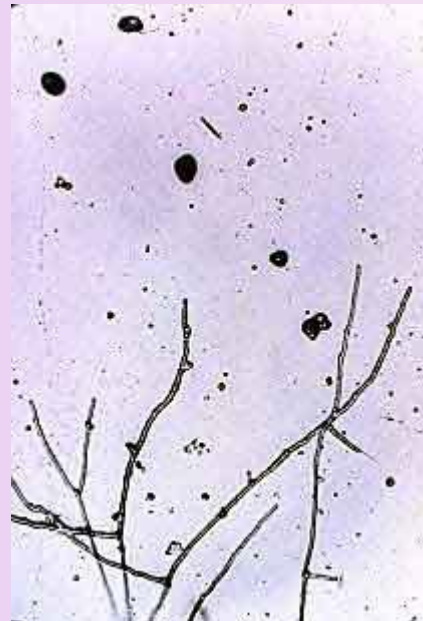
١



٢



٣



٤



تحلل المادة العضوية في التربة وإختفاء معالمها

## ثانياً : عملية النشطرة

عملية يقوم بها العديد من الكائنات الحية الدقيقة غير المتخصصة في الأرض حيث تقوم هذه الكائنات بتحليل المواد العضوية النيتروجينية تحليلاً مائياً ويكون الناتج النهائي هو الأمونيا

ويمكن إختبار قدرة ميكروبات التربة على تحليل المواد العضوية النيتروجينية المعقدة كالبيتون أو كازينات الصوديوم كما يلي :

## الأدوات والمواد اللازمة:

١- أنابيب إختبار.

٢- عينة تربة مخصبة.

٣- محلول نسلر.

٤- البيئة الغذائية.

## طريقة العمل:

١- توزع البيئة فى أنابيب وتعقم .

٢- تلقح مجموعة من الأنابيب بقليل من التربة الزراعية وتترك مجموعة أخرى بدون تلقيح .

٣- تحضن الأنابيب لمدة أسبوع على درجة حرارة ٢٨-٣٠ م° .

٤- يكشف عن وجود الأمونيا فى الأنابيب باستخدام محلول نسلر.

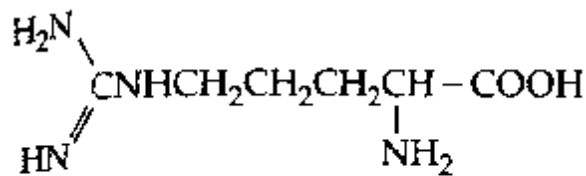


## النتيجة:

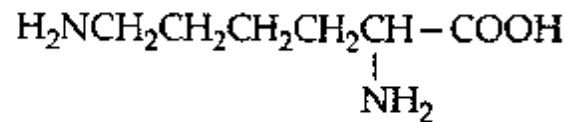
تشاهد أن الأنابيب الملقحة بالتربة الزراعية عندما وضع عليها محلول نسلر تحول لونها إلى اللون الأزرق دلالة على وجود الأمونيا .

## ملحوظة:

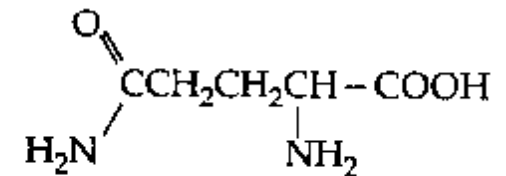
محلول نسلر المضاف يكون لونه أصفر مخضر.



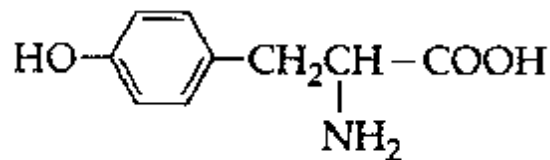
arginine



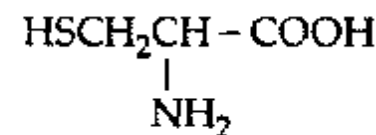
lysine



glutamine



tyrosine



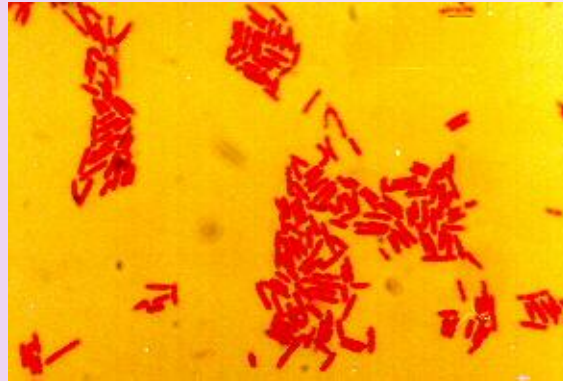
cysteine

بعض الأحماض الأمينية الناتجة من عملية تحلل البروتين

## الميكروبات المسؤولة عن عملية النشذرة



*Proteus*



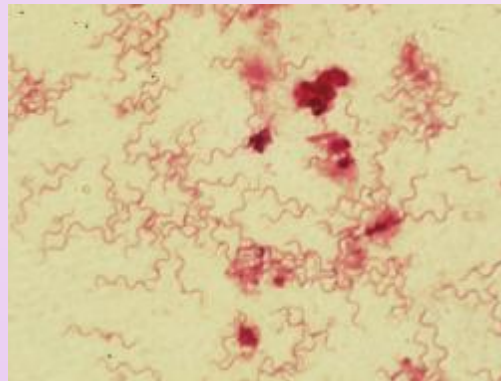
*Pseudomonas*



*Bacillus*



*Clostridium*



*Streptomyces*



*Aspergillus*



*Penicillium*

## ثالثاً : تحليل اليوريا

تتحلل اليوريا في التربة الزراعية بواسطة إنزيم اليورياز الذي تفرزه مجموعة من البكتيريا المتخصصة تسمى بكتيريا اليوريا *urea bacteria* حيث تقوم هذه الميكروبات تحليل اليوريا وإنتاج المونيا وثاني أكسيد الكربون والماء

**إختبار قدرة بعض الميكروبات على إنتاج إنزيم اليورياز:**

يستخدم في هذا الإختبار ميكروب *Bacillus pasteurii* وهو محلل لليوريا وميكروب *E. coli* وهو غير محلل لليوريا .

ويتم الكشف عن ناتج التحليل وهو الأمونيا باستخدام دليل **Phenol red** الذي يعطى في الوسط القلوى لونا أحمر.

## الأدوات والمواد المستخدمة:

١- أربعة أنابيب إختبار تحتوى كل منها على محلول يوريا معقم .

٢- مزرعة نقية لميكروب *Bacillus pasteurii* المحلل لليوريا.

٣- مزرعة نقية لميكروب *E. coli* غير المحلل لليوريا.

٤- أنبوبة إختبار تحتوى على محلول تربة خصبة معقم.

٥- دليل أحمر الفينول.

## خطوات العمل:

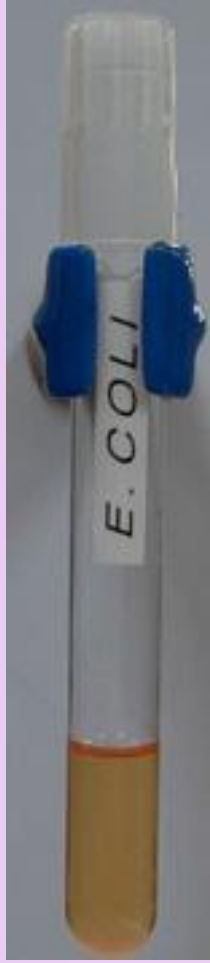
- ١- ضع ٢ نقطة من دليل Phenol red لكل أنبوبة اختبار من الأنابيب الأربعة مع ضبط الحموضة بوضع قليل من حامض HCl حتى يصبح الوسط حامضى (لون الدليل أصفر)
- ٢- لقع إحدى الأنابيب بميكروب محلل اليوريا والأخرى بميكروب غير محلل والثالثة بمحلول التربة تحضن لمدة نصف ساعة على  $30^{\circ}\text{C}$  مع ترك الأنبوبة الرابعة بدون تلقيح للمقارنة.
- ٣- بعد إنتهاء فترة التحضين شاهد التغير الحادث فى لون الأنبويتين .

## المشاهدة:

فى حالة الأنبوبة الملقحة بميكروب محلل اليوريا وكذلك الأنبوبة الملقحة بمحلول التربة يتحول اللون الأصفر إلى اللون الأحمر دلالة على تحلل اليوريا وتكون الأمونيا حيث يصبح الوسط قلويا.

أما فى الأنبوبة الملقحة بالميكروب الغير محلل فيظل اللون كما هو أصفر دلالة على عدم حدوث تحلل لليوريا كما هو الحال فى الأنبوبة غير الملقحة.

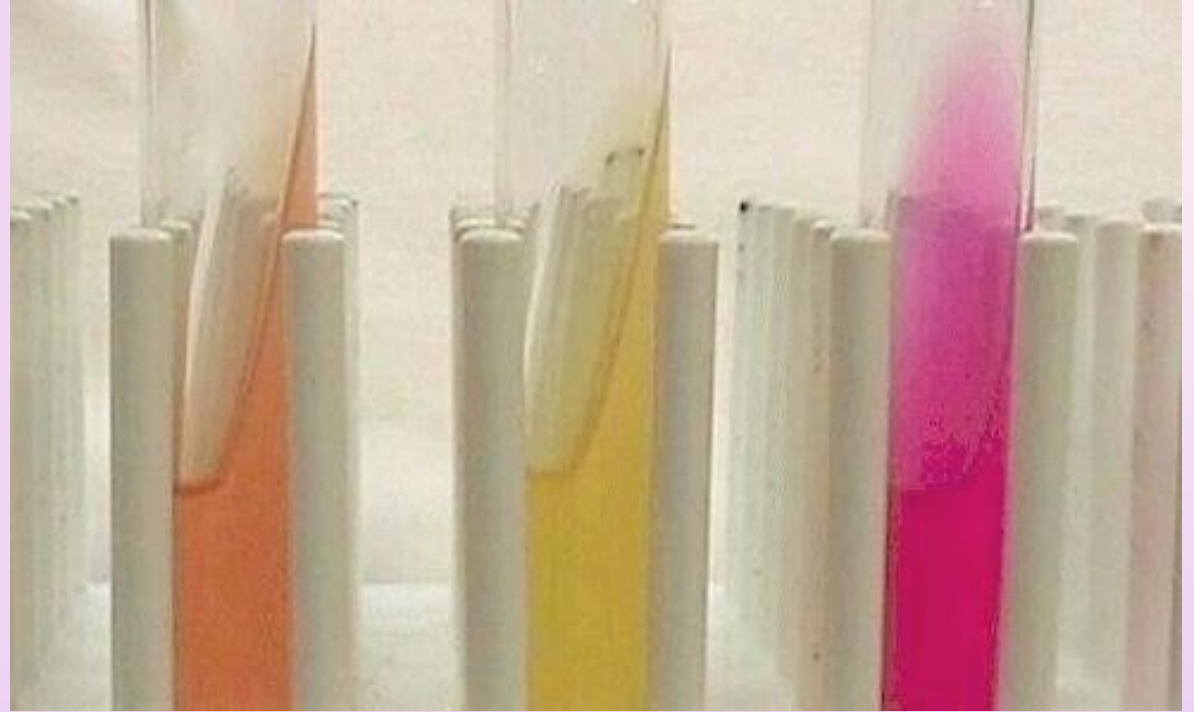
# إختبار تحليل اليوريا



نتيجة  
سالبة



نتيجة  
موجبة



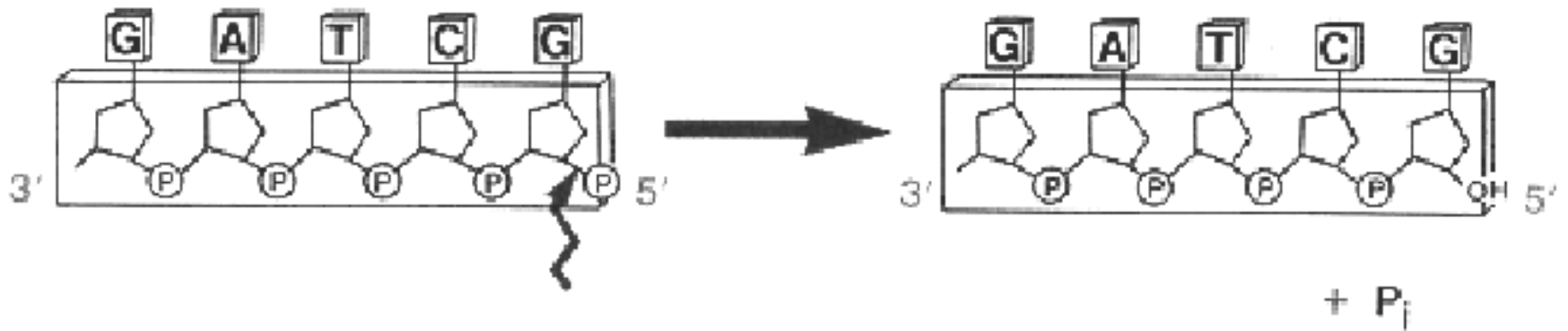
الكنترول

نتيجة  
سالبة

نتيجة  
موجبة

## رابعاً : تحليل المواد العضوية الفوسفاتية فى التربة :

يتمثل الفوسفور العضوى الموجود بالتربة فى بقايا حيوانية ونباتية مثل الفوسفوليبيدات والأحماض النووية ومرافقات الإنزيمات المحتوية على الفوسفور وتقوم الميكروبات التى تنتج إنزيم الفوسفاتيز بفك رابطة الإستر بين مجموعة الفوسفات والمركب العضوى وعلى ذلك تتمعدن المواد العضوية بفعل الميكروبات ويصبح الفوسفات فى صورة ميسرة للنبات.



ويمكن الكشف عن قدرة الميكروبات على تحليل  
الفوسفات العضوية في التربة بإجراء الإختبار الآتى

## الأدوات والمواد اللازمة:

- ١- عينة تربة خصبة.
- ٢- زجاجات عينات تحتوى كل منها على كمية من ماء الحنفية المعقم.
- ٣- أطباق بترى المعقمة.
- ٤- ماصات معقمة.
- ٥- محلول فينولفتالين ثنائى الفوسفات معقم بالترشيح.



## خطوات العمل:

- ١- إعمل تخفيفات مناسبة لعينة التربة
- ٢- ضع فى أطباق بترى المعقمة ١ مل من كل تخفيف لكل طبق مع مراعاة المكررات من الأطباق لكل تخفيف.
- ٣- صب البيئة المناسبة فى الأطباق.
- ٤- أترك الأطباق لتبرد ثم حضن على ٢٨-٣٠°م لمدة ثلاثة أيام.
- ٥- لاحظ المستعمرات النامية فى كل طبق وضع محلول الأمونيا المركز فى أغطية الأطباق المقلوبة ولاحظ المستعمرات التى حولها هالة حمراء والتى تدل على القدرة على تحليل الفوسفات العضوية.

## ملحوظات:

- ١- كلما زادت الهالة الحمراء فى الحجم دل ذلك على كفاءة الميكروب فى تحليل الفوسفور العضوى.
- ٢- ظهور اللون الأحمر دلالة على إنفراد الفينولفتالين من مركب **Phenolphthalein diphosphate** وهذا الإنفراد نتيجة لفعل الفوسفاتيز المنتج بواسطة الميكروبات المحللة للفوسفور العضوى وعند وضع الأمونيا يعطى الفينولفتالين اللون الأحمر فى الوسط القلوى.
- ٣- ليست كل المستعمرات النامية تكون قادرة على تحليل الفوسفور بل منها ما هو غير محلل .

## المراجع :

[http://www.reproductionresources.com/cgi-bin/quikstore.cgi?category=Equine\\_Breeding](http://www.reproductionresources.com/cgi-bin/quikstore.cgi?category=Equine_Breeding)

[www.alibaba.com/catalog/.../Disposable\\_Products.html](http://www.alibaba.com/catalog/.../Disposable_Products.html)

<http://opbs.okstate.edu/~leach/biochem203folder/bioch203%20classes/b203c19/dndp.htm>

[http://faculty.maryvillecollege.edu/Kneas/CHEM121L/lab\\_equipment.htm](http://faculty.maryvillecollege.edu/Kneas/CHEM121L/lab_equipment.htm)

<http://www.apsnet.org/education/LabExercises/Microscopes/#comp1>

<http://www.mycolog.com/chapter17.htm>

<http://www.microbelibrary.org/>

<http://www.denniskunkel.com/index.php?cPath=3>

[http://www.agen.ufl.edu/~chyn/age4660/lect/lect\\_21/f15\\_5.JPG](http://www.agen.ufl.edu/~chyn/age4660/lect/lect_21/f15_5.JPG)

<http://www.labx.com/v2/b.cfm?a=794>

<http://structbio.vanderbilt.edu/wetlab/fermentor.phtml>

<http://czbiom.ecn.cz/index.shtml?x=148446>