الباب الثالث والعشرون
تثبيت الأزوت الجوى
Nitrogen Fixation

يعتبر كل من الأزوت والكبريت من العناصر التى تأخذ أى تمتص بواسطة النبات فى صورة غير عضوية ولكنهما سرعان ما يتحولان إلى مركبات عضوية بعد الإمتصاص . وهما تعتبران من العناصر الضرورية التى لها دور هام فى نمو النبات.

يعتبر الأزوت أهم عنصر يأخذ بواسطة النبات من التربة لازم للنمو والتكاثر. وبعد الماء يعتبر الأزوت أهم عنصر يحد ويؤثر على حياة النبات من نمو وتكاثر . وبالرغم من أن الأزوت يوجد فى الجو بتركيز حوالى ٨٠٪ فإنه أكثر أعراض النقص شيوعا على النبات. قبل إستعمال الأزوت الجوى بواسطة النبات فى صورة نيتروجين حر ن٢ لابد أن يؤكسد أولا وعادة يكون فى صورة ن أ٣ أو يختزل أولا ويكون فى صورة أمونيا. أى أن الأزوت الجوى لكى يستعمل بواسطة النبات لابد أولا أن يؤكسد أو يختزل.

كثير من الأزوت الموجود فى التربة وقابل للأستعمال بواسطة النبات يكون فى صورة أزوت عضوى مثل النيتروجين الملتحم بالبروتين أو أحماض أمينية أو أحماض نووية أومركبات أزوتية أخرى. توجد الأمونيا مرتبطة فى التربة فى صورة كاتيون أمونيوم ن يد٤+ أى NH_4^+ مرتبط بحبيبات الطين، بعض النترات توجد فى التربة كثيرا ولكن كثير منها يفقد بالغسيل. يوجد الأزوت بتركيز يتراوح بين ٠,٠١ إلى ٠,٢٥٪ فى التربة.

لفظ تثبيت الأزوت الجوى يعنى أكسدة أو أختزال الأزوت الجوى ولكى يصبح فى صورة قابلة للأستعمال بواسطة النبات أو الكائنات الحية الأخرى. عادة تكون صورة الأزوت القابلة للإستعمال بواسطة النبات هى عادة أنيون نترات ن أ٣ أو كاتيون أمونيوم ن يد٤+ ولكن يمكن أخذ وإستعمال بعض المركبات ذات الجزيئات الصغيرة مثل اليوريا والأحماض الأمينية يمكن أن تأخذ بواسطة النبات وتستعمل بواسطة النبات. من وجهه النظر الصناعية فإن تعريف السماد fertilizer عبارة عن تثبيت للأزوت الجوى على نطاق واسع جدا. وعامة الآن فإنه توجد محاولات لتثبيت الأزوت الجوى بطريقة صناعية وليست عن طريق الإنزيمات وذلك عن طريق إستخدام أملاح عضوية مختزلة reduced organic salts . تثبت الأزوت الجوى بطريقة صناعية

كما فى طريقة هابر Haber process . فى هذه الطريقة يتم إختزال الأزوت الجوى مباشرة إلى أمونيا بواسطة الإيدروجين الجزيئى تحت ضغط عال ودرجة حرارة عالية تبعا للمعادلة الآتية :

$$N_2 + 3H_2 \longrightarrow 2NH_3$$

من ٢٣٧ مليون طن من النيتروجين القابل للأستعمال على سطح الأرض (جدول ٢٨) فإن حوالى ٥٧ مليون طن تنتج صناعيا للتجارة بطريقة هابر وأن ٤٠ مليون من هذه تستخدم فى الزراعة والباقى يستخدم لأغراض صناعية. حوالى ٦٣٪ من ١٤٩ مليون طن نتيجة عمليات طبيعية مثل العواصف الكهربائية والإحتراق combustion .

(جدول ٢٨) : ملخص لعمليات تثبيت الأزوت الجوى

المصـــــدر	تثبيت بالمليون طن كل عام (عام ١٩٧٤)
غير حيوى	٨٨
صناعى	٥٧
إحتراق	٢٠
البـرق	١٠
المحيط	١
حيوى	١٤٩
المجموع	٢٣٧

أهمية التسميد الأزوتى لنمو المحاصيل قدرت بأنها ٢و٥٨ كيلو جرام للفرد فى السنة فى الدول المتقدمة و٦,٦ كيلو جرام للفرد فى السنة للدول النامية وذلك فى سنة ١٩٧٤ .

يتضح من الجدول أن حوالى ١٤٩ مليون طن من ٢٣٧ مليون طن تم تثبيتها عن طريق العمليات الحيوية أى حيويا. جميع الكائنات القادرة على تثبيت الأزوت الجوى هى كائنات حية دقيقة بدائية النواة مثل البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة وهذه قد تعيش حرة أو معيشة تعاونية. يوضح الجدول (جدول ٢٩) نوع الكائنات القادرة على تثبيت الأزوت الجوى. حيث أن البكتريا

الحرة المعيشة هوائية أو لا هوائية للأجناس *Azotobacter* و *Clostridium* والبكتريا ذات البناء الضوئى للجنس *Chromatium*. أيضا تثبت البكتريا *Spirillum* و*Klebsiella* وبعض البكتريا الخيطية التابعة للأكيتنوميس actinomycetes الأزوت الجوى. والأخيرة يمكن أن تعيش تعاونيا مع الحشائش الأستوائية tropical grasses. الطحالب الخضراء المزرقة ذات الحوصلة المتباينة heterocyst سواء حرة المعيشة أو التعاونية المعيشة يمكن أن تثبت الأزوت الجوى. أفضل الأمثلة للكائنات الحية الدقيقة التى تعيش تعاونيا مع النبات وتثبت الأزوت الجوى هى البكتريا *Rhizobium* أى بكتريا العقد الجذرية فى النباتات البقولية.

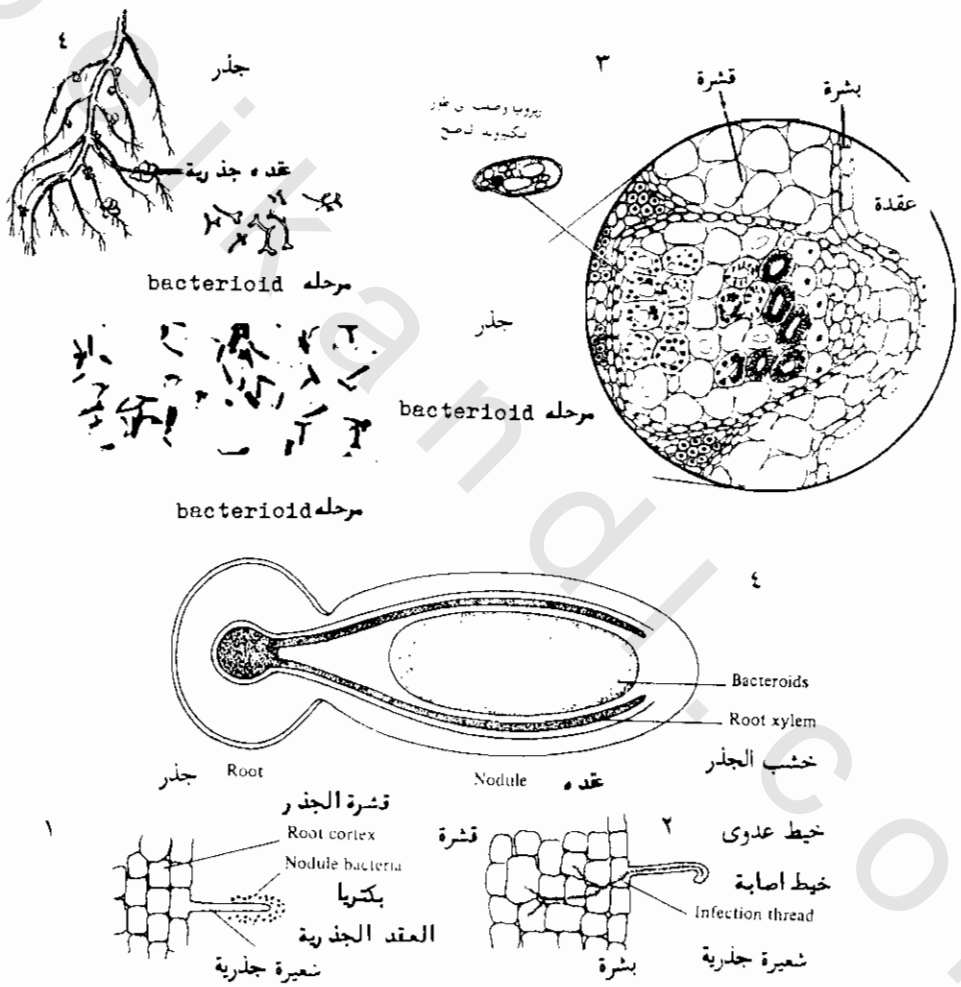
(جدول ٢٩): أمثلة للكائنات الحية المثبتة للنيتروجين الحرة والتعاونية منها

الكائن الدقيق		نوع المعيشة	نوع النبات
البكتريا			
هوائية	*Azotobacter*	غير تعاونية	
لاهوائية	*Clostridium*	غير تعاونية	
ذات بناء ضوئى	*Chromatium*	غير تعاونية	
هوائية	*Rhizobium*	تعاونية	البقوليات
هوائية ولاهوائية	*Actinomycetes*	تعاونية	غير البقوليات
هوائية	*Spirillum*	تعاونية	حشائش أستوائية
إختيارية هوائية	*Klebsiella*	تعاونية	حشائش أستوائية
الطحالب الخضراء المزرقة			
	Nostoc	غير تعاونية	
أجناس أخرى عديدة		تعاونية	النباتات السيكادية (السيكاس) والسرخسيات والآشنات

التثبيت الأزوتى التعاونى (التكافلى) Symbiotic nitrogen fixation :

تعيش البكتريا *Rhizobium* المثبتة للأزوت الجوى تعاونيا أى تكافليا مع جذور البقوليات. تتم تسمية هذه البكتريا تبعا لعوائلها إلى *R. melioti* تعيش مع البرسيم الحجازى و *R. trifoli* تعيش مع البرسيم و *R. phaseoli* مع الفاصوليا و *R. japonicium* مع الفول الصويا.

وقد تم دراسة طريقة إصابة هذه البكتريا للنبات العائل بالتفصيل. حيث أن البكتريا الحرة تنجذب للشعرات الجذرية الصغيرة السن (شكل١٩٧). أثناء عملية الأصابة يحدث إنتاج



(شكل ١٩٧) : خطوات إصابة جذور نبات بقولى بالرايزوبيا

لهرومونات نباتية وأيضا أنزيمات هاضمة وفى هذه الأثناء تحدث عملية إلتواء لقمة الشعرة الجذرية ثم يتم إختراقها بواسطة البكتريا. بعد دخول البكتريا إلى الشعرة الجذرية يتم إنتقالها إلى نسيج قشرة الجذر عن طريق خيط إصابة جيلاتينى القوام mucilaginous infection thread. بعد وصول البكتريا خلايا القشرة يحدث إنقسام لهذه الخلايا وتتكون خلايا متضاعفة polyploid cells والتى يتكون منها فى النهاية العقدية الجذرية. عند وجودها داخل خلايا القشرة تزداد كثيرا فى الحجم وتكون خلايا تسمى أشباه البكتريا bacteroids والتى تغلف فى مجموعها بغشاء. التركيب النهائى والذى يحتوى أشباه البكتريا يكون على علاقة مع الأنسجة الوعائية المحيطة به ويسمى هذا التركيب فى مجموعة بالعقدة الجذرية.

بالرغم من أن العقدة الجذرية تحتوى خلايا بكتيرية مثبتة للأزوت تابعة للجنس *Rhizobium* فى البقوليات فإنه توجد نباتات غير بقولية عليها عقد جذرية تحتوى على كائنات دقيقة مثبتة للأزوت ومثال ذلك نبات *Alnus* والذى يتميز بوجود مجاميع وعناقيد من العقد تتكون بواسطة التفريع المتكرر. ويسمى هذا النوع فى هذا النبات بإسم طراز *Alnus type* أى *Alnus* يوجد طراز *Alnus* فى نباتات أخرى مثل *Coriaria* و *Myrica* وكازوارينا و *Hippophae* و *Elaeagnus* و *Shepherdia* و *Ceanothus* و *Discaria* و *Dryas* و *Purshia* و *Cercocarpus* و *Arctostaphylos*. كثير من هذه العقد على النباتات الغير بقولية تحتوى أكتينوميسس *actinomycetes* تابعة للجنس *Frankia* كمثبت للأزوت الجوى.

ولكن حديثا أتضح أن بعض النباتات الأستوائية وهى بالذات الحشائش الأستوائية tropical grasses مثل *Paspalum* و *Digitaria* والذرة الشامية والذرة الرفيعة تحتوى على بكتريا تكافلية أى تعاونية تعيش مع الجذور ولا تكون عقد جذرية وهذه البكتريا تتبع الأجناس *Azotobacter* و *Spirillum* و *Klebsiella* . يبدو أن هذه البكتريا تعيش فى طبقة مخاطية مع الجذور. ولكن يلاحظ أن كمية تثبيت الأزوت الجوى بهذه الكائنات قليلة عند مقارنتها بالكمية المثبتة بواسطة بكتريا الرايزوبيا فى البقوليات (جدول ٣٠) الأبحاث الحديثة تحاول تنشيط وتعظيم دور هذه البكتريا وخاصة فى النجيليات.

توجد نباتات أخرى تعيش تعاونيا أى تكافليا مع كائنات بدائية النواة مثبتة للأزوت مثل تنوب دوجلاس Douglas fir مع بكتريا الأوراق وبعض السراخس مع الطحالب الخضراء المزرقة. ومن أمثلة الحالة الأخيرة السرخس المائى *Azolla* حيث معه طحلب أخضر مزرق تكافلى تابع للجنس *Anabaena* . وجد أن الأرز يعيش فى تربة غدقة محتوية على *Azolla* مع وجود كميات

صغيرة جدا من الأزوت ويعتقد أن ذلك لوجود معقد مشترك بين *Azolla* و *Anabaena* أى *Anabaena Azolla complex* .

(جدول٣٠) : المقارنة بين تثبيت الأزوت الجوى فى جذور مقطوعة من نباتات مختلفة (بطريقة إختزال الأستيلين)

نوع النبـــات	أختزال الأستيلين نانو مول أستيلين مختزل لكل جرام وزن جاف لكل ساعة
فول الصويا (بقولى)	١١١١٤ ± ١٠١٠
النجيل (نجيلى)	٢٤٤ ± ١٥٧
Paspalum vaginatum (نجيلى)	١٤٤ ± ١١١
Zoysia japonica (نجيلى)	١٣٦ ± ٩٠
Distichlis stricta (نجيلى)	٤٧ ± ٤٥

التثبيت الأزوتى الغير تعاونى (الغير تكافلى) :

Nonsymbiotic nitrogen fixation

حيث أن تثبيت الأزوت الجوى يحتاج إلى طاقة عالية لذلك فإن كثيرا من الكائنات المثبتة للأزوت الجوى تعاونية أى تكافلية. ولكن بالرغم من ذلك فإنه توجد مجموعة أخرى من الكائنات غير تعاونية أى غير تكافلية ومنها البكتريا معتمدة التغذية الحرة المعيشة والبكتريا ذات البناء الضوئى والطحالب الخضراء المزرقة. البكتريا المعتمدة التغذية تحصل على طاقتها من البيئة ولكن فى حالة بكتريا ذات بناء ضوئى تحصل على طاقة مباشرة من عمليات البناء الضوئى مباشرة.

البكتريا حرة المعيشة غير ذاتية التغذية أى معتمدة التغذية تقع فى ثلاثة مجاميع وهى هوائية

إجبارية وهوائية إختيارية وغير هوائية إجبارية. تشمل الهوائية إجبارا أنواع من العائلة azotobacteriaceae وبعض أفراد العائلات pseudomonadaceae وachromobacteriaceae و corynebacteriaceae و mycobacteriaceae . هذه البكتريا غريبة حيث أن الأوكسجين يميل إلى تثبيط عملية تثبيت الأزوت الجوى. ومن البكتريا هوائية إختياريا أنواع من العائلة enterobacteriaceae منها الأجناس *Klebsiella* و *Enterobacter* و *Escherichia intermedia* وبالأضافة إلى ذلك توجد بعض *Bacillus* هوائية إختيارية تثبت الأزوت الجوى. تثبيت الأزوت بهذه البكتريا التى تعيش فى وجود أو غياب الأوكسجين يكون تثبيت الأزوت الجوى يكون بدرجة كبيرة تحت الظروف اللاهوائية أو على الأقل فى وجود ضغوط منخفضة من الأوكسجين. تعتبر بكتريا *Clostridium* هى الوحيدة اللاهوائية إجبارا والمعروفة جيدا أنها تثبت الأزوت الجوى.

البكتريا ذاتية التغذية أى ذات البناء الضوئى هى سالبة لصبغة جرام وتعيش فى بيئة مائية وهى تقع فى ثلاثة مجاميع مختلفة وهى بكتريا الكبريت القرمزية مثل *Chromatium* والبكتريا القرمزية غير الكبريتية *Rhodospirillum* وبكتريا الكبريت الخضراء مثل *Chlorobium* . توجد أدلة كثيرة على أن عملية البناء الضوئى بهذه البكتريا تدخل مباشرة فى عملية تثبيت الأزوت الجوى.

أنواع عديدة من الطحالب الخضراء المزرقة يمكن تثبت الأزوت الجوى ولكن تتميز جميعها بأن لها حوصلة مغايرة أى حوصلة متباينة heterocyst كما فى طحلب نوستوك *Nostoc* . كثير من عملية تثبيت الأزوت تحدث فى الحوصلة المغايرة وذلك لأن الأوكسجين الناتج من الخلايا ذات الأجزاء الخضراء يسبب تثبيط الأنزيم المثبت للأزوت وهو إنزيم نيتروجينيز nitrogenase . وهكذا يمكن أن تكون خلايا الحوصلات المغايرة هى خلايا متخصصة لتثبيت الأزوت الجوى حيث أن تركيز وضغوط الأكسجين منخفضة أثناء عملية تثبيت الأزوت الجوى. من الجدير بالذكر أن البكتريا ذات البناء الضوئى لا ينتج عنها أوكسجين أثناء عملية البناء الضوئى.

آلية تثبيت الأزوت الجوى :

نتيجة تثبيت الأزوت الجوى فى الخلايا الحية هى الأمونيا. أتضح من التحضيرات الخالية من الخلايا الحية cell - free preparations والبروتينات النقية أن أنزيم يسمى نيتروجينيز nitrogenase يقوم بإختزال الأزوت الجوى إلى أمونيا. ولذلك توجد أدلة على أن هذا الأنزيم هو المسئول عن تثبيت الأزوت الجوى. يحتاج الأنزيم لنشاطه إلى ATP وكاتيون المغنسيوم ومصدر للإلكترونات أى أنه مصدر لعملية الإختزال وظروف لاهوائية . ولذلك يمكن توضيح التفاعل كما فى المعادلة الآتية:

$$N_2 + 6\bar{e} + 8\,H^+ + n\,Mg\,ATP \longrightarrow 2NH_4^+ + n\,Mg\,ADP + n\,Pi$$

أما عن آلية تتابع حدوث هذا التفاعل فهو على خطوات كما يلى :

من الأزوت الجزئيى إلى داى إيميد diimide ثم هيدرازن hydrazine ثم أمونيا .

$$N_2 \longrightarrow NH = NH \longrightarrow NH_2 - NH_2 \longrightarrow 2\,NH_3$$

كل خطوة تحتاج إلكترونين من الخطوات السابقة لحدوث عملية الإختزال ولذلك فإن اختزال جزيئ أزوت جوى يحتاج إلى ستة إلكترونات لتكوين جزيئين أمونيا. غير معروف مصدر الإلكترونات فى هذه العملية ولكن كثير من الأدلة تدل على أن مركب فيريدوكسينferredoxin وهو من مركبات الأكسدة والإختزال قد يكون له دور فى هذه العملية، يجب أن يكون وجود هذه المركب فى صورة مختزلة لكى يكون قادر على إعطاء الإلكترونات. على الأقل فإن هذا المركب له دور بالتأكيد فى حالة البكتريا ذات البناء الضوئى والطحالب الخضراء المزرقة حيث أنه يختزل فى عملية البناء الضوئى وبذلك يصبح مصدر للإلكترونات فى عملية إختزال الأزوت إلى أمونيا.

وجد أن غالبية الكائنات القادرة على تثبيت الأزوت بها إنزيم يسمى هيدروجينيز hydrogenase قادر على إختزال البروتون وتكوين إيدروجين جزيئى كما فى المعادلة ويستخدم مركب فيريددوكسين كمختزل

$$2\,H^+ + \text{ferredoxin (red)} \longrightarrow H_2 + \text{ferredoxin (oxid)}$$

مؤكسد مختزل .

وجد أن أنزيم نيتروجينيز فى غياب الأزوت يقوم بنفس التفاعل السابق ولكن فى هذه الحالة يحتاج هذا الأنزيم إلى ATP الذى لا يحتاجه الهيدروجينيز. يحتاج إنزيم النيتروجينيز إلى طاقة

عالية جدا لإختزال الأزوت حيث يحتاج ١٢ جزيئ ATP لإختزال الأزوت. ومن المفارقات فى ذلك أن عملية الإختزال تحتاج إلى طاقة عالية وذلك لا يتأتى إلا فى وجود التنفس الهوائى وأن عملية الإختزال أى تثبيت الأزوت تحتاج ظروف لاهوائية ولكن أمكن حل ذلك وهى أن كثير من كائنات تثبيت الأزوت لاهوائية أو أنها تثبت النيتروجين تحت ظروف لاهوائية وقد أمكن إثبات تكوين ATP فى عملية التنفس اللاهوائى. وفى حالة الطحالب الخضراء المزرقة أغلب الأزوت المثبت يكون فى خلية الحوصلة المغايرة الغير خضراء وحيث أن خلايا الطحلب الأخرى تنتج أكسجين بكمية عالية.

يعتقد من البديهى أن التكافل يخلق حالة فيها يمد النبات البقولى العائل بكتيريا الرايزوبيا بالطاقة. تظهر العقدة الجذرية حمراء عند شقها وحيث يوجد بها بروتين يمكن مقارنته مع myoglobin يسمى leghemoglobin. وهذا المركب الأخير له جاذبية للأوكسجين أكبر من ميوجلوبين وهيموجلوبين. يعتقد أن دور ليهيموجلوبين فى تثبيت الأزوت أنه يرتبط بالأوكسجين بالقرب من أنزيم النيتروجينيز الحساس للأوكسجين وأنه له دور فى مد الخلية والخلايا بالأوكسجين أثناء التنفس الهوائى للحصول على طاقة عالية. وجد أن خلايا النبات تخلق الجلوبين globin الخاص باليهيموجلوبين أما غالبية جزء الهيم heme فهو ينتج بواسطة البكتيريويدات أى أشباه البكتريا bacteroids. تعتبر صفة تخليق الجلوبين صفة وراثية خاصة بالنبات العائل وليست بكتريا الرايزوبيا وأثناء عملية التكافل يتكون جزيئ الهيم ثم يتم تجميع جزيئ الليهيموجلوبين خارج البكتيريويدات أى أشباه البكتريا.

يعتبر إنزيم النيتروجينيز إنزيم مركب يتكون من جزئين رئيسيين. الجزء الأول component I يحتوى الموليبدنم والحديد ويسمى موليبدنم حديد بروتين Mo - Fe protein . ويختلف حجمه تبعا للنوع حيث أن له وزن جزيئى حوالى مائة ألف إلى ثلاثمائة ألف و ١٥ إلى ٢٠ ذرة حديد وإلى ٢ ذرة موليبدنم. يتكون جزء موليبدنم حديد بروتين من أربعة تحت وحدات subunits لهما نوعين مختلفين. الجزء الثانى component II يتكون من حديد فقط ويسمى بروتين حديد- Fer protein وهو صغير عن السابق ووزنه الجزيئى يتراوح بين خمسون ألف إلى سبعون ألف ويحتوى أربعة ذرات حديد. الجزء الثانى له تحت وحدتين subunits متماثلتين تماما ويحتاج ATP يعتقد أن هذا الأنزيم يتركب من وحدتين بروتين حديد لكل وحدة موليبدنم حديد بروتين. أيا من الجزء الأول أو الجزء الثانى لايظهر نشاط أنزيم النيتروجينيز على حدة بل لابد أن يتحدا معا بالتركيب السابق ليظهر الأنزيم نشاطه.

بالتركيب السابق ليظهر الأنزيم نشاطه.

يقوم إنزيم النيتروجينيز بتفاعلات أخرى كثيرة خلاف التفاعل السابق وهى كما يلى فى المعادلات الآتية:

$$N_2O \longrightarrow N_2 + H_2O$$

$$N_3^- \longrightarrow N_2 + NH_3$$

$$2H^+ \longrightarrow H_2$$

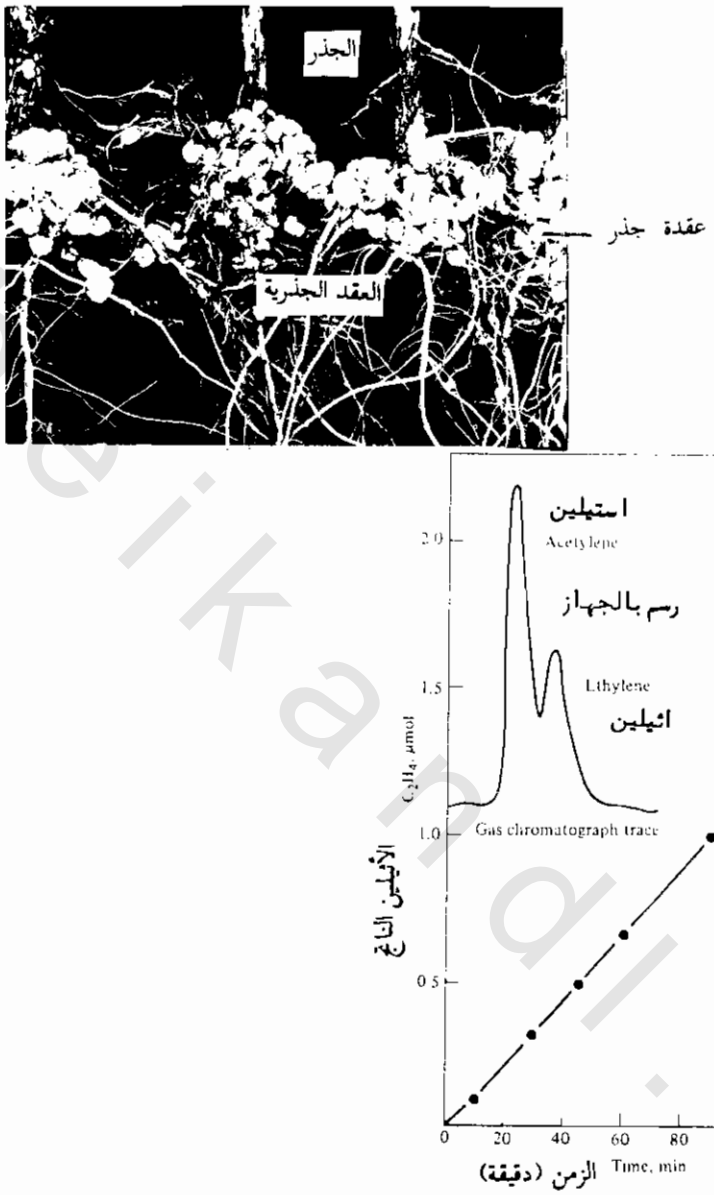
$$C_2H_2 \longrightarrow C_2H_4$$

التفاعل الرابع وهو تحويل أى إختزال الأستيلين إلى أثيلين يعتبر الأساس فى تقدير كفاءة عملية تثبيت الأزوت الجوى أى درجة نشاط هذه العملية وسرعة حدوثها . وتعتبر هذه الطريقة حاليا أفضل الطرق فى هذا المجال. تقدير مباشر لتحويل الأزوت ن٢ إلى نوشادر ن يد٣ يمكن عمله بواسطة أزوت مشع ن١٥ ولكن هذه صعبة ومملة ومتعبة ومكلفة. التقدير بواسطة تحويل الأستيلين إلى أثيلين سريع ومناسب ومريح وسريع بجهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازىgas chromatograpy. يوضح الرسم البيانى لجهاز الكروماتوجراف الغازى (شكل ١٩٨) عملية تحول الأستيلين إلى إيثيلين أى تكوين الأثيلين من الأستيلين فى عقد جذرية فى نبات بقولى. يبدأ الشكل ببداية التجربة وكلما قلت المساحة أسفل القمة فى منحنى الأستيلين أو زادت المساحة أسفل قمة الأثيلين كان ذلك دليل أى مؤشر على حدوث عملية تثبيت الأزوت.

حيث أن إختزال الأستيلين إلى أثيلين يحتاج إلى إلكترونين كما فى المعادلة

$$HC \equiv CH + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow H_2C = CH_2$$

وأن إختزال الأزوت إلى NH_3 يحتاج ستة ألكترونات أى ثلث سرعة أختزال الأستلين ولذلك سيكون ذلك تقدير مناسب لسرعة وكفاءة عملية تثبيت الأزوت. وحيث أنه يوجد تنافس بين الأزوت الجوى ن٢ فى إختبار إختزال الأستيلين فإن وجود أنشطة مختزلة أخرى مثل إنتاج الإيدروجين ولذلك فإن نسبة التحويل ١ إلى ٣ تكون تقديرية فقط.



(شكل ١٩٨) : إنتاج الإثيلين من الأستيلين فى عقد جذرية لنبات بقولى على هيئة علاقة خط مستقيم.

تكوين الأيثيلين من الأستيلين مساحة مثلث القمة مقدار لتركيز أى كمية الأثيلين والأستيلين . وكلم زادت المساحة كلما زاد التركيز. معنى ذلك أنه يوجد نشاط نتيجة لتكوين الإثيلين

أهمية الهندسة الوراثية فى تثبيت الأزوت الجوى :

لأهمية الأزوت فى الزراعة فإنه يوجد إهتمام بدراسة وراثة تثبيت الأزوت الجوى. حديثا نسبيا تجارب ستريشر Streicher وفالنتين Valentine عام ١٩٧٣ وضحت إمكانية نقل دنأ الخاص بجينات تثبيت الأزوت والتى تسمى *nif* أى nitrogen fixation أى جينات نف *nif* genes . من سلالة نف موجبة إلى سلالة نف سالبة فى بكتريا *Klebsielle* أى من nif^{+} إلى nif^{-} أى نف$^{+}$ إلى نف$^{-}$. وحديثا ونتيجة لتطور الهندسة الوراثية والبيولوجيا الجزيئية فإنه أمكن عمل عملية النقل من بكتريا إلى أخرى بسهولة بواسطة transformation أو transduction أو التزاوج. وحديثا أيضا أمكن وجود إمكانية لنقل جينات نف (كسر النون فى النطق) إلى النباتات العادية أى الزهرية. ولكن عند إدخال جينات نف إلى النبات فإنه سيبقى مشكلة وهى كيفية عمل هذه الجينات الدخيلة على النبات فى العمل فى وئام harmony مع جينات النبات وبحيث تظهر تأثيرها وذلك هام جدا حيث أن هذه النباتات المحولة transgenic plants (ضم الميم وشد فتحة على الحاء وفتحة على الواو واللام) ستكون هامة جدا حيث سيكون لها كفاءة عالية جدا فى تثبيت الأزوت الجوى ذاتيا وبذلك توفير هائل فى كميات السماد الأزوتى.

الحقيقة أنه معروف القليل نسبيا عن كيفية تنظيم عمل إنزيم النيتروجينيز regulation of nitrogenase وخاصة أن تكوين الأمونيا يثبط تخليق هذا الإنزيم. يبدو أن تأثير الأمونيا غير مباشر وهى تعمل عن طريقة إنزيم glutamine synthetase وحيث أن هذا الإنزيم ينتج الجلوتامين من الأمونيا وحامض الجلوتاميك. من الواضح أن الأمونيا يغير من إنزيم glutamine synthetase إلى شكل أو حالة أو نوع أو طراز آخر يعمل على جينات نف مانعا عملية النسخ وتكوين وتخليق إنزيم النيتروجينيز.

عند تثبيت الأزوت الجوى فى صورة أمونيا أو أمتصاص الأمونيا بواسطة النبات فإنه يتحول إلى أزوت عضوى داخل النبات فى عمليات مختلفة تعرف بتمثيل الأمونيا ammonia assimilation .