



جامعة الموصل
كلية العلوم

التصنيف العددي وتتابع المورث 16s rDNA لبعض من أنواع البكتريا الخيطية المحبة للملوحة

سعد سامي سعيد توشي

رسالة ماجستير
علوم الحياة/ الأحياء المجهرية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتورة إسراء غانم حازم السماك

2015 م

1436هـ

الخلاصة

تضمنت الدراسة جمع 75 عينة من مصادر مختلفة (بيئات مائية ومياه أبار وترب مالحة مختلفة بضمنها 5 عينات من ترب زراعية للمقارنة) للمدة من 18 آب إلى 15 تشرين الثاني 2013. عزلت 35 عزلة تابعة للأجناس *Nocardia* و *Streptomyces* ، أنتخبت منها 19 عزلة وشخصت العزلات إلى مستوى النوع اعتماداً على 80 صفة من الصفات الشكلية ، الكيموحيوية ، الفسلجية والجزئية باستخدام التصنيف العددي بطريقة التحليل العنقودي Cluster analysis باستخدام معامل التشابه البسيط وطريقة المعدل. تم اجراء تضخيم للمورث 16s rDNA الذي ظهر تقريبا عند الموقع 1350 زوج قاعدي ، شخصت العزلات ضمن المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية National Center for Biotechnology Informaion (NCBI) وذلك باستخدام برنامج Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) وقورنت تتابعات النيوكليوتيدات للأنواع قيد الدراسة باستخدام برنامج Mega 5 وطريقة Clustal W والتعنقد باستخدام المعدل غير الموزون Un-weighted Pair Group Method for the arithmetic Average (UPGMA) لإيجاد العلاقة التطورية بين الأنواع ، حيث تم تقسيم المخطط الشجري الى عشرة عناقيد رئيسة A,B,C,D,E,F,G,H,I ، وبلغت أعلى نسبة عزل لجنس الـ *Nocardia* 77.1% (13 عزلة) ، وتلاه جنس الـ *Streptomyces* بنسبة 22.9% (6 عزلات).

وقع النوع *N. dassonvillei* ضمن العنقود A ، *N. lucentensis* ضمن العنقود B ، *N. aegyptia* ضمن العنقود C ، *N. arvandica* ضمن العنقود D ، *N. halotolerans* ضمن العنقود E ، *N. xinjiangensis* ضمن العنقود F ، *N. halophila* ضمن العنقود G ، *S. rochei* ضمن العنقود H ، *S. albiacialis* ضمن العنقود I ، ووقع *S. cacaoi* ضمن العنقود J.

صنفت الأنواع قيد الدراسة اعتمادا على قدرتها على النمو بوجود تراكيز مختلفة من ملح الطعام NaCl الى ثلاثة أصناف : المحبة لدرجات الملوحة العالية extreme halophiles التي استطاعت النمو بتراكيز ملحية وصلت الى اكثر من 12% NaCl كما في الأنواع *N. xinjiangensis* و *N. halophila* و *S. cacaoi* ، والمحبة لدرجات الملوحة المعتدلة moderate halophiles التي استطاعت النمو بتراكيز ملحية ما بين 3-12% NaCl كما في الأنواع *N. aegyptia* و *S. rochei* ، و متحملة للملوحة العالية halotolerans والتي استطاعت النمو بوجود غياب ملح الطعام NaCl كما في الأنواع *S. albiacialis* و *N. lucentensis* و *N. halotolerans* و *N. arvandica* و *N. dassonvillei* .

أظهرت معظم الأنواع قيد الدراسة حساسية للمضادات الحيوية المستخدمة ، حيث أظهرت جميع الأنواع المعزولة حساسيتها للمضاد الحيوي Rifampin ، بينما كانت جميعها مقاومة للمضاد الحيوي

Ampicillin ، أما المضاد الحيوي Ceftazidim فقد أظهرت جميع الأنواع المعزولة مقاومتها له عدا بعض أفراد العنقود I التابعة للنوع *S. albiarialis* اذ كانت حساسة لهذا المضاد.

أظهرت معظم الأنواع المعزولة فعالية تثبيطية مختلفة ضد بكتريا الاختبار المستخدمة والتي تضمنت بكتريا موجبة وسالبة لصبغة كرام ، اذ أظهرت جميع العزلات فعالية تثبيطية ضد البكتريا الموجبة لصبغة كرام بصورة اكبر مما هو عليه للبكتريا السالبة لصبغة كرام.

University of Mosul
College of Science



**Numerical Classification and 16s rDNA Sequencing
of some Halophilic Actinomycetes species**

Saad Sami Saeed Tushe

M. Sc. / Thesis

Biology/Microbiology

Supervised by

Assistant Prof. Dr. Essra Ghanem Hazim Al-Sammak

1436 A.H.

2015 A.D.

Abstract

Seventy five samples were collected from various sources (saline water and different soils environments, including 5 samples of agricultural soil for comparison) for the period from August 18 to November 15, 2013. Thirty-five isolation belonging to the genera *Nocardiopsis* and *Streptomyces*, nineteen isolates were selected and had been diagnosed to species level, depending on 80 morphology, biochemical, physiological and molecular characteristics using numerical taxonomy by using cluster analysis and simple matching coefficient with average linkage. An amplification of 16s rDNA gene which almost appeared at 1350 base pairs, the isolates were diagnosed within the National Center for Biotechnology Information (NCBI) in USA using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), the nitrogen bases of the sequencing were compared using Mega 5 and the method of Clustal W and clustering using the Un-weighted Pair Group Method for the arithmetic Average (UPGMA) to find the evolutionary relationship between species, the tree has been planned split into ten main clusters A,B,C,D,E,F,G,H,I,J the highest rate of isolation was 77.1 % which belonged to the genus *Nocardiopsis* (13 isolates) , followed by 22.9% to *Streptomyces* (6 isolates).

The species *N. dassonvillei* occurred within the cluster A, and *N. lucentensis* within the cluster B, and *N. aegyptia* within the cluster C, and *N. arvandica* within the cluster D, and *N. halotolerans* within the cluster E, and *N. xinjiangensis* within the cluster F, and *N. halophila* within the cluster G, and *S. rochei* within the cluster H, and *S. albiacialis* within the cluster I, and *S. cacaoi* within the cluster J.

Members of the genus *Nocardiopsis* were distinguished of being unproductive earthy odour that are unique in members of the genus *Streptomyces*.

Some species of the genus *Nocardiopsis* characterized by possessing a private structures of filaments grouped together at the end of the aerial mycelium or may appear on both sides of the mycelium called Synnemata or may sometimes called Coremia, which play an important role in the diagnosis and discrimination of *N. lucentensis* and *N. halotolerance* who possess these special types of structures from the rest of the genus *Nocardiopsis* under study that lack of such structure.

The species under study were classified depending on their ability to grow in the presence of different concentrations of NaCl salt into three categories: Extreme halophiles that have managed growth in salt concentrations reached more than 12% NaCl as in the species *N. xinjiangensis* , *N. halophila* and *S. cacaoi* , and Moderate halophiles that have managed growth in salt concentrations between 3-12% NaCl, as in the species *N. aegyptia* and *S. rochei*, and Halotolerans which was able to grow in the presence and absence of NaCl as in the species , *N. dassonvillei* ,*N. lucentensis*, *N. halotolerans* ,*N. arvandica* and *S. albiaxialis*.

Most species showed sensitivity to antibiotics used, all species showed sensitivity to the antibiotic Rifampin, while all of them were resistant to the antibiotic Ampicillin, the antibiotic Ceftazidim has shown all kinds of isolated resistance to him except for some members of the cluster I of the type *S. albiaxialis* which was sensitive to this antibiotic.

Most of the species showed different inhibitory effective against bacteria used for testing, which included Gram positive and negative bacteria, since all isolates showed inhibitory effective against the Gram positive bacteria more than the Gram negative for the bacteria.