



جامعة الموصل  
كلية التربية للعلوم الصرفة

**التوصيف الجزيئي وتأثير عدد من المتغيرات  
الفيزيوكيميائية على السيانوبكتريا المثبتة للنتروجين  
الجوي في بعض الانظمة البيئية في شمال العراق**

**علياء حازم عبدالرزاق سليمان القصيمي**

**أطروحة دكتوراه  
علوم الحياة / علم النبات**

**بإشراف**

**الاستاذ المساعد  
الدكتور جاسم محمد عبدو**

**الاستاذ المساعد  
الدكتور يوسف جبار الشهري**

## الخلاصة

تم الحصول في هذه الدراسة على عزلات من شمال العراق للسيانوبكتريا وبعد اجراء التشخيص المظهري اعتمادا على المجهر الضوئي والتشخيص الجزئي للعزلات بالاعتماد على التفاعل التضاعفي المتخصص Specific-PCR لست حزم الـ DNA الجينومي المنقى من العزلات السيانوبكتريا المحلية بحجم واحد يتراوح (370) زوج قاعدة إذ كانت هذه الحزم بنفس حجم الحزمة للجين المحدد *nifH* وهو أحد الجينات التشخيصية للسيانوبكتريا المثبة للنتروجين.

حدّد تسلسل القواعد النتروجينية لنواتج التفاعل التضاعفي لعينات DNA المنقاة وأظهرت نتائج التحليل لهذه القواعد النتروجينية أن أجناس السيانوبكتريا المعزولة من شمال العراق هي *Potamosiphon*، *Oscillatoria sancta*، *Uncultured bacteria*، *Gleocapsa sp.*، *Fischerella nuscicola*، *austaliensis*. ومن الملاحظ أن إحدى العزلات غير مسجلة لحد الآن وعلى المستوى العالمي في بنك الجينات لسيانوبكتريا مثبتة للنتروجين الجوي.

تم تنميه هذه العزلات مختبرياً في وسط Chu10 و ASM-1 وكانت أفضل فترة تحضين لنموها هي خمسة عشر يوماً، إذ بلغ النمو (0.713، 0.656، 0.677، 0.833، 0.764) nm ككثافة ضوئية وعلى التوالي للعزلات كافة أما المحتوى البروتيني (505، 1048، 949، 890، 911) ملغم/ لتر ويتطابق كل من المحتوى البروتيني والمحتوى النتروجيني إذ سجل المحتوى النتروجيني (338، 248، 693، 480، 691) ملغم/ لتر.

اختبرت قدرة هذه العزلات لتثبيت النتروجين من خلال قدرتها على النمو في وسط خالي من المصادر النيتروجينية وكانت أفضل فترة تحضين خمسة عشر يوماً إذ بلغ النمو (0.654، 0.737، 0.582، 0.515، 0.731) nm ككثافة ضوئية ولوحظ ارتفاع المحتوى البروتيني في هذا الوسط الخالي من النتروجين إذ بلغ (615، 1043، 1031، 1066، 1096) ملغم/ لتر وكذلك المحتوى النتروجيني (403، 653، 702، 848، 713) ملغم/ لتر.

اظهرت نتائج تأثير المؤثرات الفيزيوكيميائية على النمو وتثبيت النتروجين وعدد من المكونات الحيوية للسيانوبكتريا، أن أفضل درجة حرارة تدعم النمو وتثبت النتروجين عند 28 سليزية، والتي كانت على التوالي (0.706، 0.598، 0.994، 0.693، 0.683) nm ككثافة ضوئية، فيما وسجل المحتوى البروتيني (616، 981، 621، 654، 654) ملغم/ لتر، وكان المحتوى النتروجيني (404، 625، 399، 427، 675) ملغم/ لتر وللعزلات كافة.

أما أفضل فترة تواقنت ضوئية فكانت (6:18) ضوء: ظلام إذ سجل النمو (0.717، 0.746، 0.487، 0.568، 0.712) nm على التوالي للعزلات كافة وسجل المحتوى البروتيني

(556، 1067، 948، 764، 879) ملغم/ لتر. بينما كان المحتوى البروتيني النتروجيني (333، 635، 454، 447، 720) ملغم/ لتر.

وكانت أفضل سرعة رج 100 دورة/ دقيقة. إذ سجل النمو عندها (0.742، 0.733)، (0.588، 0.643، 0.680) nm ككثافة ضوئية وكان المحتوى البروتيني (706، 540، 632، 764، 749) ملغم/ لتر في حين سجل المحتوى النتروجيني (439، 636، 707، 388، 711) ملغم/ لتر على التوالي للعزلات كافة. وكذلك تمت دراسة تأثير الأس الهيدروجيني على النمو وتثبيت النتروجين الجوي وكان أفضل أس هيدروجيني بدعم أفضل لنمو (8.7) إذ سجل النمو (0.721، 0.716، 0.637، 0.796، 0.956) ملغم/ لتر وكان المحتوى البروتيني (433، 590، 504، 651، 668) ملغم/ لتر في حين سجل المحتوى النتروجيني (281، 341، 325، 417، 448) ملغم/ لتر.

وَدُرست كذلك عدد العناصر المعدنية المؤثرة على النمو وتثبيت النتروجين الجوي. فبينت النتائج أن أفضل تركيز لعنصر الفسفور عند (71) ملغم/ لتر إذ سجل النمو (1.029، 0.965، 0.948، 1.073، 1.118) nm أما المحتوى البروتيني فكان (810، 677، 935، 992، 918) ملغم/ لتر فكان المحتوى النتروجيني (541، 431، 629، 650، 621) ملغم/ لتر، في حين إضافة عنصر الحديد إلى الوسط الزراعي بتركيز (22) ملغم/ لتر من  $FeCl_2 \cdot 6H_2O$  فكان أفضل نمو حيث سجل (1.132، 1.105، 1.059، 1.095، 1.115) nm وسجل المحتوى البروتيني (452، 714، 845، 988، 407) ملغم/ لتر، وعند إضافة الحديد بتركيز (33) ملغم/ لتر من  $FeCl_2 \cdot 6H_2O$  وكان المحتوى النتروجيني (240، 555، 550، 677، 332) ملغم/ لتر على التوالي للعزلات كافة. أما إضافة عنصر الكاربون بتركيز (45) ملغم/ لتر فكان له تأثير على أداء الفعاليات الحيوية إذ سجل النمو (1.019، 0.897، 0.913، 0.966، 0.975) nm وسجل المحتوى البروتيني (558، 777، 664، 549، 648) ملغم/ لتر في حين كان المحتوى النتروجيني (386، 500، 597، 403، 444) ملغم/ لتر.

وأضيف عنصر الكوبلت إلى الوسط الزراعي باعتباره أحد العناصر الثقيلة لدراسة تأثيره على النمو وتثبيت النتروجين الجوي وكان التركيز الأقل ضرراً لهذا العنصر (99) ملغم/ لتر من كلوريد الكوبلت  $CoCl_2$  مع تفاوت بسيط بين العزلات، إذ تحقق أفضل نمو حيث سجل (0.961، 0.783، 0.889، 0.849، 0.180) nm وسجل المحتوى البروتيني الأعلى للعزلتين *G.sp*، *P.austaliensis* (611، 350) ملغم/ لتر على التوالي عند تركيز الكوبلت (99) ملغم/ لتر وسجل المحتوى النتروجيني (553، 290) ملغم/ لتر لكلا العزلتين عند نفس تركيز الكوبلت بينما كان الأعلى للعزلتين *O.sancta*، *U.bacterium* (511، 523) ملغم/ لتر في الوسط الخالي

من الكوبلت، وكان المحتوى النتروجيني الأفضل في ذات الوسط. أما العزلة *F.muscicola* فكانت الأكثر مقاومة لتأثير الكوبلت إذ سجل المحتوى البروتيني (670) ملغم/ لتر عند تركيز الكوبلت (198) ملغم/ لتر من  $CoCl_2$  والمحتوى النتروجيني (541) ملغم/ لتر عند ذات التركيز.

أما عند إضافة فيتامين  $B_{12}$  فبينت النتائج أن إضافته بتركيز (300)  $\mu m/L$  سجل أعلى نمو (1.006، 1.253، 1.126، 1.055، 1.223) nm وعلى التوالي للعزلات كافة وكان المحتوى البروتيني (571، 725، 696، 667، 726) ملغم/لتر وكذلك كان المحتوى النتروجيني (210، 329، 302، 328، 317) ملغم/ لتر.

## Summary

Local isolates of cyanobacteria was obtained in this study and after conducting a partial diagnosis of isolates based on the specific polymerase chain reaction PCR for six bands purred genomic DNA of the local cyanobacteria isolates with one size ranges (370) base pairs, as these bands were the same size as the band of specific gene Nif H which is one of the diagnostic genes of nitrogen-fixing cyanobacteria.

The nitrogen-based sequence of PCR products of purified DNA samples has been determined. The results of analysis of these nitrogen bases that locally isolated cyanobacteria genus are *Gloeocapsa sp. KO38CU6* , Uncultred bacteria, *Oscillatoria sancta AYJ113*, *Potamosiphon austaliensis FHC0914.03* and *Fischerella muscicola SAG 1427-1*. It is noted that one of the local isolates are not yet recorded and globally standards level in the cyanobacteria gene bank installed for aerobic nitrogen.

Then growth these isolates laboratory in the medium of Chu10 and ASM-1 and the best period for incubation is fifteen days, with growth (0.713, 0.656, 0.677, 0.833, 0.764) nm optical density and respectively for all isolates, while protein content (505, 1048, 949, 890, 911) mg/Litre. both the protein and nitrogen are matched. As the recorded nitrogen content (338, 248, 693, 480, 691) mg/L

The capacity of these nitrogen fixing isolates tested through their capacity to grow in a nitrogen-free medium and was the best incubation period fifteen days at growth (0.654, 0.737, 0.582, 0.515, 0.731) nm as visual density and observed higher protein content in this nitrogen-free medium at (615, 1043, 1031, 1066, 1096) mg/L as well as nitrogen content (403, 653, 702, 848, 713) mg/L

The physiochemical effect on growth and fixing of nitrogen and number of bio-compound of studied cyanobacteria. The results showed that the best temperature supports growth and fixing the nitrogen at 28°C, (0.706, 0.598, 0.994, 0.693, 0.683), as optical density and protein content recorded (616, 981, 621, 654, 654) mg/L, and the nitrogen content (404, 625, 399, 427, 675) mg/L and for all isolates.

The best light simultaneity period was (6:18) light: dark, as the growth recorded (0.717,0.746,0.487,0.568, 0.712) nm respectively of all isolates, protein content recorded (556,1067,948,764,879) mg/L, the nitrogen content recorded (333,,635,454,447,720) mg/L.

The best shaking speed was 100 /rpm, with growth recorded (0.733,0.742,0.588,0.643,0.680) as optical density and the protein content (706, , 540, 632, , 764,749) mg/L while the nitrogen content (439, 636, 177, 388, 711) was recorded respectively for all isolate. The effect of pH on growth and fixing of aerobic nitrogen was also studied and was the best PH with better support for growth (8.7) as the growth recorded (0.721, 0,716, 0.637, 0.796, 0.956) mg/L, protein content was (433, 590, 504, 651, 668) mg/L while nitrogen content (281, 341, 325 417, 448) mg/L.

Also studied the number of mineral elements affecting the growth of the aerobic nitrogen fixing. The results showed that the best concentration of phosphorus element is (71) mg /L as the growth recorded (1.029, 0.965, 0.948,1.073,1.118) nm. The protein content was (810 67, 35, 918 902) mg/L for the nitrogen content (621, 650, 629, 431, 541) mg/L, while when the iron element was added to the cultural medium with a concentration of (22) mg/L of FeCl<sub>2</sub>/ 6H<sub>2</sub>O was the best for growth (1.115, 1.095, 1.059, 1.105, 1.132) nm and protein content recorded (407, 988, 845,714, 452) mg/L when adding iron concentration (33) mg/L of

atmospheric and the nitrogen content (240, 555, 550, 677,332) mg/L for all isolate respectively. The ads of carbon with a concentration of (45) mg/L would have had an impact on the performance of vital events as it recorded growth (1.019, 0.897, 0.913, 0.966, 0.975) nm and protein content recorded (558, 777, 664, 549, 648) mg/L while the nitrogen content (386, 500, 597, 403 444) mg/L.

Cobalt element was added to the median culture as one of the heavy elements to study its impact on growth and fixing of nitrogen . The least harmful concentration of this element was (99) mg/L of CocL2 with simple variation among isolates, achieving the best growth (0.961, 0.783, 0.889,0.849,0.180) nm, and the highest protein content recorded of two isolates *P.austalinsis*, *G. sp* (611,350,) mg/L respectively at cobalt concentration (99) mg/L and nitrogen content recorded (553, 290 ) mg/L for both isolates at the same cobalt concentration while the top was for two isolates *U. bacterium*, *O.sancta* (523,511) mg/L in the cobalt-free medium.

The nitrogen content was the best in the same medium. *F.muscicola* isolate was the most resistant to the impact of cobalt, with protein content (670) mg/L at cobalt concentration (198) mg/L of CocL2 and nitrogen content (541) mg/L at the same concentration.

As for adding B12 Vitamin, the results showed when adding concentration of (300)  $\mu\text{m/L}$  the highest growth recorded (1.006, 1.253, 1.126, 1.055, 1.223)nm respectively for All isolates, the protein content was (571, 725, 696, 667, 726) mg/L as well as nitrogen content (210, 329, 302, 328, 317) mg/L.

**University of Mosul  
College of Education for  
Pure Sciences**



**Molecular characterization and the effect of  
a number of physiochemical variables on  
the atmospheric nitrogen fixing  
cyanobacterium in some ecosystems in  
northern Iraq**

**Alyaa' Hazim Abdulrazaq Sulalman Alqusaimy**

**Ph. D Thesis**

**Biology (botany)**

**Supervised by**

**Assist. Prof**

**Dr. Jassim mohammed Abdo**

**Assist. Prof**

**Dr. Yuosef Jabbar Al-Shaherey**

**2020 A.D**

**1441 A.H**