جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة الظروف المثلى لنمو وعزل سلالة محلية من السيانوبكتريا *Fischerella musciola* وتشخيصها جزيئياً مع اختبار فعاليتها الحيوية ضد انواع من البكتريا

رشا خطاب عمر الدليمي

رسالة ماجستير
علوم الحياة

بإشراف
الأُستاذ
الدكتور يوسف جبَّار إسماعيل الشاهري

١٤٤٣هـ ٢٠٢١م

الخلاصـــة

أجريت الدراسة في جامعة الموصل / كلية التربية للعلوم الصرفة، تضمنت الدراسة الحالية عزل لسلالة *fischerella* من البيئة المحلية (بحيرة سد الموصل) وتم اجراء تشخيص جزيئي لهذه السلالة للتأكد من تصنيفها وتشخيصيها وراثيا، إذ أكدت النتائج ان العزلة المستحصل عليها هـي عزلـة تابعـة لعائلـة Hapalosiphonaceae فالاسـم العلمـي الـدقيق لهـا *musciola fischerella* وذلك من خلال تحديد تسلسل القواعد النتروجينية لنواتج التفاعل التضاعفي لعينة DNA التابعة لهذه العزلة مع عزلة قياسية.

تم اجراء تجارب فسلجية لدراسة تأثير بعض العوامل على نمو العزلة المدروسة وقابليتها على تكوين كتلة حيوية، أظهرت النتائج إن افضل وسط زرعي يدعم نمو العزلة المدروسة هو وسط Chu10 ، إذ بلغت اقصى قيمة لكتلته الحيوية(390) ملغم/لتر والمحتوى الكلوروفيلي للعزلة المدروسة (19) ملغم/لتر والمحتوى البروتيني (109) ملغم /لتر والمحتوى الكربوهيدراتي (72) ملغم /لتر عند استخدام هذا الوسط وارتفع الأس الهيدروجيني النهائي (8.87) عن الأس الهيدروجيني الاولي.

أظهرت النتائج ان افضل فترة تحضين لنمو العزلة هي (20) يوم إذ بلغت قيمة الكتلة الحيوية (632) ملغم/لتر في اليوم لعشرين من التحضين وبلغ المحتوى الكلوروفيلي أقصاه (33)ملغم/لتر والمحتوى البروتيني (381)ملغم/لتر والمحتوى الكربوهيدراتي (122) ملغم/لتر في اليوم العشرين من التحضين، ارتفع الأس الهيدروجيني النهائي عن الاس الهيدروجيني ليبلغ (9.01) في اليوم العشرين من التحضين .

أظهرت النتائج ان افضل سرعة رج للتهوية (75) دورة/دقيقة دعمت افضل نمو وكتلة حيوية (601) ملغم/لتر وبلغ المحتوى الكلوروفيلي أقصاه (32) ملغم/ لتر عند هذهِ السرعة المحددة من الرج وكذلك المحتوى البروتيني (280)ملغم/لتر والمحتوى الكربوهيدراتي (173)ملغم/لتر واقصى ارتفاع للأس الهيدروجيني النهائي (8.69) سُجل عند سرعة الرج هذه. بينت النتائج إن إضافة مادة Nacl بتركيز (0.1) ملغم/لتر الى وسط النمو دعم افضل نمو وكتلة حيوية (558) ملغم/لتر للعزلة المدروسة وأيضا حقق افضل محتوى كلوروفيلي (29) ملغم/لتر وافضل محتوى بروتيني (211) ملغم/لتر ومحتوى كاربوهيدراتي (131) ملغم/ لتر وسجلت اعلى قيمة للاس الهيدروجيني النهائي عند هذه التراكيز من الملوحة .

بينت النتائج ان الظروف الزراعية المثلى مجتمعة دعمت النمو والكتلة الحيوية بشكل واضح (672) ملغم/لتر ودعمت افضل محتوى كلوروفيلي(41) ملغم/ لتر ومحتوى بروتيني (338) ملغم/ لتر ومحتوى كاربوهيدراتي (165) ملغم/ لتر وبلغ الاس الهيدروجيني النهائي أقصاه (9.01) تحت هذه الظروف، تم تحضير مستخلصات مختلفة (المستخلص العضوي، المستخلص الايثانولي المستخلص الأسيتوني) من الكتلة الحيوية للعزلة المدروسة، تم اختبار تراكيز محددة من هذه المستخلصات على اجناس بكتريا مرضية عزلت من المستشفيات المحلية لمدينة الموصل(*Stapylococcus aureus*، *Proteus mirabilis*، *Klepsella pneumonia*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*) ، أظهرت النتائج ان المستخلص العضوي كان افضل مستخلص في قابليته على تثبيط نمو البكتريا المرضية المدروسة إذ بلغ قطر التثبيط عند التركيز (100) مايكرو غرام/مل(12) للبكتريا المرضية *S.aureus* و (10) للبكتريا المرضية *P.mirabilis* و(9) للبكتريا المرضية *K.pneumonia* و(8) للبكتريا المرضية *P. aeruginosa* و(8) للبكتريا المرضية *E.coli* على التوالي، وازداد قطر التثبيط مع زيادة تركيز المستخلص الى الحد (250) مايكرو غرام/مل إذ بلغ قطر التثبيط (28) للبكتريا المرضية *S.aureus* و(25) للبكتريا المرضية *P.mirabilis* و(22) للبكتريا *K.pneumonia* (21) للبكتريا المرضية *P.aeruginosa* و(18) للبكتريا *E.coli* على التوالي، المستخلص الايثانولي كان اقل تأثيراً على البكتريا المرضية من المستخلص العضوي وبلغ اقصى تثبيط قطره(11) للبكتريا البمرضية *S.aureus* و(9) للبكتريا المرضية *P.mirabilis* و(9) للبكتريا المرضية *k.pneumonia* و(7) للبكتريا المرضية *P.aeruginosa* و(6) للبكتريا المرضية *E.coli* على التوالي، عند استخدام المستخلص الايثانولي بتركيز (250) مايكرو غرام/مل في حين كان التثبيط اقل نسبياً عند استخدام المستخلص الايثانولي بتركيز (200، 150) مايكرو/ غرام/ مل، ولم يسجل أي تثبيط عند استخدام التراكيز الأقل.

المستخلص الاسيتوني لم يعطِ أي نتائج إيجابية تذكر فقط عند التراكيز (250) مايكروغرام/ مل إذ بلغ قطر التثبيط (12 ،11) للبكتريا المرضية (*S.aureus* ، *P.mirabilis*) على التوالي في حين لم تبد البكتريا (*K.pneumonia*، *E.coli*، *P.aeruginosa*) أي تأثير ملحوظ لجميع التراكيز المستخدمة للمستخلص الاسيتوني.

Abstract

The current study included isolating fischerella strain from the local environment (Mosul Dam Lake) and a molecular diagnosis was made for this strain to ensure its genetic classification and diagnosis. The results confirmed that the obtained isolate is a member of the Hapalosiphonaceae family. The nitrogenousness of the products of the replication reaction of the DNA sample belonging to this isolate with a standard isolate.

Physiological experiments were conducted to study the effect of some factors on the growth of the studied isolate and its ability to form biomass. The results showed that the best culture medium that supports the growth of the studied isolate is Chu10 medium, with a maximum value of (390) mg/l and chlorophyll content (19) mg. / liter and protein content (109) mg / liter and carbohydrate content (72) mg / liter when using this medium and the final pH rose (8.87) from the initial pH.

The results showed that the best incubation period for the isolate's growth was (20) days, as the biomass value reached (632 mg/L per day for twenty incubation) and the chlorophyll content reached a maximum of (33) mg/L, protein content (381) mg/L and carbohydrate content (122) mg/L on the twentieth day of incubation, the final pH rose from the pH to reach (9.01) on the 20th day of incubation.

The results showed that the best aeration shaking speed (75) cycles/min supported the best growth and biomass (601) mg/L, and the chlorophyll content reached a maximum of (32) mg/L at this specific shaking speed, as well as the protein content (280) mg/L and the The carbohydrate (173) mg/L and the maximum final pH rise (8.69) were recorded at this shaking speed. The results showed that adding Nacl at a concentration of (0.1) mg/L to the growth medium supported the best growth and biomass (558) mg/L for the studied isolate and also achieved the best chlorophyll content (29) mg/L and the best protein content (211)

mg/L and Carbohydrate (131) mg/L, and the highest final pH value was recorded at these salinity concentrations.

The results showed that the optimum agricultural conditions combined clearly supported growth and biomass (672) mg/L and supported the best chlorophyll content (41) mg/L, protein content (338) mg/L and carbohydrate content (165) mg/L, and the final pH reached a maximum (9.01) under these circumstances.

Different extracts (organic extract, ethanolic extract, acetone extract) were prepared from the biomass of the studied isolates, specific concentrations of these extracts were tested on pathogenic bacteria genera isolated from local hospitals of Mosul city (Staph aureus, Proteus mirabilis, Klepsella pneumonia, Escherichia coli, Pseudomonas). aeruginosa).

The results showed that the organic extract was the best extract in its ability to inhibit the growth of the pathogenic bacteria studied, as the diameter of inhibition at the concentration was (100) µg/ml (12) for the pathogenic bacteria S.aureus, (10) for the pathogenic bacteria P.mirabilis and (9) for K.pneumonia, (8) for P. aeruginosa, and (8) for E.coli, respectively.

The diameter of the inhibition increased with the increase in the concentration of the extract to the limit (250) µg/ml. The diameter of the inhibition was (28) for the pathogenic bacteria S.aureus, (25) for the pathogenic bacteria P.mirabilis, (22) for the K.pneumonia bacteria (21) for the pathogenic bacteria P. aeruginosa and (18) for E.coli, respectively.

The ethanolic extract had less effect on pathogenic bacteria than the organic extract, and the maximum inhibition was (11) for S.aureus, (9) for P.mirabilis, (9) for k.pneumonia, and (7) for P.aeruginosa. and (6) for E.coli, respectively, when using the ethanolic extract at a concentration of (250) µg/ml, while the inhibition was relatively less when using the

ethanolic extract at a concentration of (200, 150) µg/g/ml, and no inhibition was recorded. When using lower concentrations.

The acetone extract did not give any positive results, only at concentrations (250) µg/ml, as the diameter of inhibition was (12, 11) for pathogenic bacteria (S.aureus, P.mirabilis) respectively, while bacteria (K.pneumonia, E.coli, P.aeruginosa) no noticeable effect for all concentrations used of the acetone extract.

University of Mosul
College of Education
for pure Science

Study of the Optimal Conditions for the Growth and Isolation of the Local Strain of Cyanobacteria *Fischerella Musciola* and its Molecular Diagnosis with Testing its Biological Activity Against Types of Bacteria

Rasha Khatab Omar Al-Dolemee

M.Sc. Thesis
Biology

Supervised by
Prof.
Dr. Yousif Jabbar Al-Shaherey

2021 A.D. **1443 A.H.**