



جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

**التشخيص الجزيئي لبعض أنواع البكتريا المنتجة لدقائق
الذهب النانوية المعزولة من بيئات محلية في محافظة
نينوى**

شفق طارق برهان البياتي

**اطروحة دكتوراه
علوم الحياة**

**بإشراف
الاستاذ**

الدكتورة أميرة محمود محمد الراوي

الخلاصة

أولت الدراسة الحالية اهتماماً بتخليق دقائق الذهب النانوية (GNPs) Gold Nanoparticles حيويًا إذ جمعت عدد من العينات من بيئات مختلفة شملت مياه ينابيع حارة ومياه عذبة وتربة ممزوجة بالمياه وعينات من التربة للفترة 7/ 12/ 2019 إلى 26/ 1/ 2021.

تم التحري عن إنتاج دقائق الذهب النانوية أولاً بالكشف عن التغير اللوني للعينات بعد إضافة هيدروجين رباعي كلوريد الذهب المائي $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ وأظهرت النتائج تبايناً واضحاً في التغير اللوني تراوح ما بين عدم حدوث تغير لوني إلى اللون البنفسجي الفاتح والغامق والأزرق والأحمر النيبيذ الفاتح والغامق والرمادي وتكون الراسب الاسود.

عزلت الأنواع البكتيرية وشخصت مظهرياً بعد تحوير الوسط المعدني ولأول مرة في دراستنا ومن ثم تأكد تشخيصها جزيئياً باستعمال الجين 16SrRNA إذ أظهرت نتائج التشخيص الجزيئي للعينات W1 و W4 و M1 و G و W الأنواع البكتيرية *Planococcus sp.* و *Bacillus cereus* و *Lysinibacillus sphaericus* و *Mesobacillus foraminis* و *Lysinibacillus mangiferihumi* على التوالي وبنسب تطابق تراوحت ما بين 99.30 - 99.88% مع العزلات القياسية المشابهة المسجلة في بنك الجينات NCBI - Gen Bank وسجلت جميع العزلات في بنك الجينات.

درست العلاقة ما بين العزلات الخمسة من حيث النشوء والتطور وبالاعتماد على نتائج تحليل تتابع القواعد النروجينية "Sequencing".

وبينت النتائج وجود تطابق بنسبة 99% بين *Lysinibacillus sphaericus* strain ShAm80 و *Lysinibacillus mangiferihumi* strain ShAm66 وتطابق جنس *Planococcus sp.* Strain ShAm01 بنسبة 93% مع الجنسين السابقين وأظهرت الاجناس الثلاثة السابقة نسبة تطابق بلغت 90% مع جنس *Bacillus cereus* strain ShAm56 وبنسبة 91% مع جنس *Mesobacillus foraminis* strain ShAm98 الذين اظهرا نسبة تطابق 91% بينهما.

تضمنت الدراسة التحري عن قابلية العزلات البكتيرية على تخليق دقائق الذهب النانوية باعتماد الكشف اللوني الذي أظهر ألوان تراوحت ما بين الأحمر النيبيذ والأحمر البنفسجي والبنفسجي الغامق والأحمر النيبيذ الفاتح.

ولإثبات وجود دقائق الذهب النانوية والبلورية على وجه الخصوص استعملت تقنية حيود الاشعة السينية (XRD) الذي أظهر أفضل إنتاج لدقائق الذهب النانوية المتجمعة عند المستوى (111) ولجميع العزلات.

فضلاً عن ذلك استعمل مجهر القوة الذرية (AFM) Atomic Force Microscope لمعرفة أحجام دقائق الذهب النانوية والنسب المئوية لها وتوزيعها ومعرفة مدى نعومة الأسطح النانوية. إذ أظهرت هذه التقنية أحجاماً للدقائق تراوحت ما بين 20 إلى 210 نانومتر توزعت بنسب مئوية مختلفة للعزلات الخمسة فيما أظهرت الدقائق مدى لنعومة الاسطح تراوح ما بين 2.1 – 5.6 نانومتر.

تم توصيف دقائق الذهب النانوية المخلقة حيويًا باستعمال تقنيات عدة شملت المجهر الاليكتروني الماسح (SEM) Scanning Electron Microscope والمجهر الاليكتروني النافذ (TEM) Transmission Electron Microscope والمجهر الضوئي Light Microscope فضلاً عن ذلك استعملت ولأول مرة تقنية المجهر الفلورسيني Fluorescent Microscope في توصيف دقائق الذهب النانوية الذي أظهر كفاءة عالية مقارنة بالمجهر الاليكتروني الماسح والنافذ في توصيف دقائق الذهب النانوية.

Abstract

The current study paid a good attention to the biosynthesis of Gold Nanoparticles (GNPs). A number of samples were collected from different environments, which included waters of hot springs water, fresh water, a mixed of water and soil, and soil samples from the period 7/12/2019 to 26/1/2021.

After adding tetrachloroauric acid trihydrate, the results showed a clear variation in the color change, ranging from no color change to light and dark violet, blue, light and dark wine red, gray and formation of black precipitate.

The bacteria species were isolated and identified morphologically after modifying the mineral medium then their diagnosis was molecularly confirmed using 16SrRNA gene. The results of the molecular diagnosis of the samples W1, W4, M1, S1, and S2 showed that they are corresponded with the bacteria species *Planococcus* sp., *Mesobacillus foraminis*, *Lysinibacillus sphaericus*, *Bacillus cereus* and *Lysinibacillus mangiferihumi* respectively, with identical percentage ranged between 99.30-99.88% with the similar standard isolates registered in the Gen Bank–NCBI and all samples were recorded in the Gen Bank.

The relationship between the five isolates was studied in terms of evolution and development depending on the results of the analysis of the nitrogenous bases.

The results showed that there was a consistency of 99% between *Lysinibacillus sphaericus* strain ShAm-80 and *Lysinibacillus mangiferihumi* strain ShAm-66. Also *Planococcus* sp. Strain ShAm-1 was identical with percentage of 93% with the both previous genus, were there was correspondence percentage of 90% between the three previous genus and *Bacillus cereus* strain ShAm-56 and *Mesobacillus foraminis*

strain ShAm98, and the last two genus showed a similarity of 90% with each other.

The study involved investigating the ability of bacterial isolates to synthesize gold nanoparticles depending on chromatic detection, which showed colors ranging from wine red to light red, red violet and violet.

To prove the existence of gold nanoparticles, particularly the crystal ones. The X-ray diffraction technique was used. This technique showed the best production of aggregated gold nanoparticles at the plan (111) for all the isolates.

Additionally, the Atomic Force Microscope (AFM) technique was employed to identify the sizes of nanoparticles, their percentage, distribution and to know the nanosurface smoothness. This technique demonstrated particles of various sizes that ranged between 20 to 210 nanometer, which distributed with different percentages for the five isolates, on other hand, the particles manifested a range of 2.1-5.6 nanometers as values of nanosurface smoothness.

Biosynthesized gold nanoparticles have been characterized using several techniques including: Scanning Electron Microscope (SEM), Transmission Electron Microscope (TEM) and Light Microscope. Furthermore, the Fluorescent Microscope was used for the first time in this process and it showed a high efficiency compared to the three microscopes mentioned above.

University of Mosul
College of Education for
Pure Science



**Molecular Diagnosis of Some Types of
Producing Gold Nanoparticles Bacteria Isolated
from Local Environments In Ninavah
Governorate**

Shafaq Tariq Burhan Al-Bayati

Ph.D. Thesis
Biology

Supervised by

Prof.
Dr. Amera Mahmood M. Al-Rawi

2021 A.D

1443 A.H