



جامعة الموصل  
كلية التربية للعلوم الصرفة

تشخيص عدد من أنواع بكتيريا *Rhizobium sp.* المعزولة من العقد  
الجزرية للنباتات البقولية في محافظة نينوى

سمر محمود فتحي

رسالة ماجستير

علوم حياة

بإشراف

المدرس

الدكتور محمد عبدالآله الشكرجي

## الخلاصة

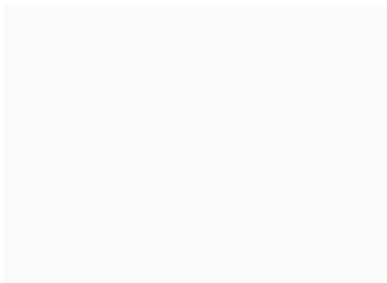
في الدراسة الحالية عُزلت 36 عزلة لبكتريا الرايزوبيا من العقد الجذرية لتسعة انواع من النباتات البقولية (الجت والبازلاء والعدس والحمص والفاصولياء واللوبيا والبرسيم والحلبة والبقلاء) التي زُرعت في مناطق عديدة من مدينة الموصل منها: (البيت السلكي التابع لقسم علوم حياة /كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة الموصل، منطقة سادة بعويزة ،إحدى المزارع الموجودة في منطقة الشمسيات ،إحدى المزارع التابعة لناحية بعشيقه) للموسم الزراعي الشتوي 2020-2021. ؛ أسهمت هذه الدراسة إلى جانب تلك الدراسات المنجزة في مجال تثبيت النيتروجين وذلك من خلال استعمال تقنيات حديثة (الأقتران البكتيري والتحول الوراثي) للحصول على سلالات ذات قابلية عالية لتثبيت النيتروجين؛ وشخصت هذه العزلات عن طريق الصفات المظهرية والزراعية وعدد من الاختبارات البايوكيميائية كتحل الجيلاتين ،أختبار BTB ،أختبار اليوريا وغيرها من الأختبارات فضلاً عن قدرتها التقاط صبغة Congo red واعتمد على الاختبارات التشخيصية التي أجريت فضلاً عن نوع العائل الذي عزلت منه. أظهرت الصفات المظهرية والزراعية للبكتيريا أنَّها تنمو بشكل مستعمرات بيضاء شفافة أو عاجية لزجة القوام نتيجة احتوائها على السكريات الخارجية بوفرة على الأوساط الغذائية الصلبة الحاوية على Yeast extract و Mannitol فضلاً عن وجود عدد من الأملاح غير العضوية ودُرست حساسية العزلات البكتيرية ومقاومتها الداخلة ضمن الدراسة لأربعة من المعادن الثقيلة وهي كلوريد الزئبق  $HgCl_2$  ،كلوريد كوبلت  $CoCl_2$  ،كلوريد الكاديوم  $CdCl_2$  ،كلوريد النيكل  $NiCl_2$  فضلاً عن عشرة أنواع من المضادات الحيوية Ampicilin ، Rifampicin ، Erythromycin ، Streptomycin ، Nystatin ، Tetracycline ، Trimethprem ، Gentmycin ، Cefixime ، Amoxcillin ، إذ أختلفت هذه العزلات في مقاومتها للمضادات الحيوية والمعادن وكانت أعلى نسبة للمقاومة للعزلات البكتيرية هي 100% للمضاد Streptomcin و Trimethprim وأقل نسبة للمقاومة هي للمضادين Tetracycline و Rifampicin بنسبة 22,2% مع تباين النسبة لبقية المضادات وبالنسبة للمعادن الثقيلة فكانت أعلى نسبة للمقاومة لمعدن كلوريد الكاديوم  $CdCl_2$  وأقل نسبة لمعدن كلوريد الزئبق  $HgCl_2$  أمَّا المعدنين الآخرين ففتباين مقاومتها؛ و تضمَّنت الدراسة انتقال صفة المقاومة للمعادن الثقيلة أو المضادات الحيوية بين الأنواع البكتيرية أو فضلاً عن صفات جديدة من خلال ترجمة البادئات الخاصة Specific PCR لتسلسل القواعد 16S rRNA المستخدمة في تقانة التفاعل المتضاعف المتخصص ووجود

اختلاف بين فئات بكتيريا الرايزوبيا قيد الدراسة من خلال التحليل الوراثي والمخطط الشجري الذي يبين العلاقة الوراثية لأربع عزلات مختارة بشكل عشوائي والمعزولة من العقد الجذرية لنباتات ( الحمص، والبالزاء، الفاصوليا، والحلبة) ضمن المناطق قيد الدراسة وأنَّ هذا الاختلاف يوجد بدرجة أقل بين العزلات البكتيرية العائدة لنفس النوع، تم دراسة معدل نمو مجاميع البكتيريا قيد الدراسة حيث تبين وجود مجموعتين من العزلات البكتيرية الأولى كانت ذات نمو سريع بينما الثانية كانت ابطا من الأولى ، أكدت الدراسة إمكانية حدوث انتقال وراثي ما بين الأنواع البكتيرية الموجودة في المحيط *rhizosphere* من خلال مقارنة تسلسلات القواعد النتروجينية. وتُضح للبكتيريا *Rhizobium pusense* SAM-MA القدرة على تكوين العقد الجذرية على نباتات الحمص والتي تم تسجيلها في موقع NCBI .

## Abstract

In the current study, 36 isolates of Rhizobia bacteria were isolated from the roots of leguminous plants containing root nodules and for nine types (*Vigna unguiculata*, *Vicia faba*, *Trifolium spp*, alfalfa, Lentil, *Cicer arietinum* L., *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, fenugreek) that were planted in several areas of the city of Mosul, including (the wire house of the Department of Biology / College of Education / University of Mosul, in the area of Sada Baawiza, in one of the farms Located in the Shamsiyat area, one of the farms affiliated to Bashiqa district) for the winter agricultural season 2020-2021. This study, along with those studies carried out in the field of nitrogen fixation, contributed through the use of modern techniques (bacterial conjugation and genetic transformation) to obtain strains with a high ability to fix nitrogen: These isolates were diagnosed by means of phenotypic and cultural characteristics and a number of biochemical tests such as gelatin lysis, BTB test, urea test and other tests in addition to their ability to pick up Congo red dye and it depended on the diagnostic tests conducted as well as the type of host from which it was isolated. They grow in form of transparent white or ivory sticky colonies as a result of containing exogenous sugars in abundance on solid food media containing Yeast extract and Mannitol, in addition to the presence of a number of inorganic salts. The sensitivity and resistance of bacterial isolates included in the study to four heavy metals, namely mercury chloride  $HgCl_2$  Cobalt chloride  $CoCl_2$ , Cadmium chloride  $CdCl_2$ , Nickel chloride  $NiCl_2$ , as well as ten types of antibiotics, Tetracycline, Amoxicillin, Ampicillin, Rifampicin, Erythromycin, Streptomycin, Trimethoprim, Tricycline, Gentamicin, Cefixime, as these isolates differed in their resistance to antibiotics and minerals. The highest percentage of resistance to bacterial isolates was 100% to Streptomycin and Trimethoprim,

and the lowest percentage of resistance to Tetracycline and Rifampicin at 22.2%, with a variation of the rest of the antibiotics the ratio varied. As for heavy metals, the highest percentage of resistance was for cadmium chloride metal  $CdCl_2$  and the lowest percentage for mercury chloride metal  $HgCl_2$ . As for the other two metals, their resistance, the study included the transfer of resistance to heavy metals and antibiotics between bacterial species, the addition of new traits through the use of specific PCR primers for the sequence of bases 16S rRNA used in the specialized replication multiplication interaction technology and the presence of a difference between the classes of Rhizobia bacteria under study through genetic analysis and the dendritic diagram that shows the genetic relationship of four randomly selected isolates isolated from the root nodules of plants (*Cicer arietinum L.*, *Pisum sativum*, *Vicia faba*, and *fenugreek*)) and this difference is found to a lesser degree between bacterial isolates belonging to the same species. The growth rate of the bacteria groups under study was studied, as it was found that there were two groups of bacterial isolates, the first was with fast growth while the second was slower than the first. The study confirmed the possibility of a genetic transfer between the existing bacterial species in the rhizosphere by comparing the sequences of nitrogenous bases. And the bacteria *Rhizobium pusense* SAM-MA showed the ability to form root knots on chickpea plants, which was registered in the NCBI website .



University of Mosul  
College of Education for  
Pure Science



**Diagnosis a number of *Rhizobium sp.* bacteria  
Isolated from the root nodules of leguminous plants  
in Nineveh Governorate**

**Samar Mhamood Fathe**

**M.Sc. Thesis**

**Biology**

**Supervised By**

**Lec.**

**Dr.Mohammed Abdelilah Al-Shakarchi**

**2021 A. D.**

**1443 A. H**