

نقل بلازميدات بكتريا *Sinorhizobium meliloti* الى
بكتريا *Escherichia coli* بطريقتي
الاقتران البكتيري والتحول الوراثي ودورها في تكوين
العقد الجذرية

رسالة تقدّمت بها

الطالبة

آريان محمد حامد إسماعيل الزبيدي

إلى

مجلس كلية التربية في جامعة الموصل
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير
في علوم الحياة/تقنيات حياتية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتورة

نجوى إبراهيم خليل داؤد البرهاوي

الخلاصة

تناول هذا البحث ، دراسة إمكانية إقامة علاقة تعايشية بين بادرات نبات الجت *Medicago sativa* والبكتريا غير المتخصصة الناتجة من عمليتي الاقتران البكتيري Bacterial conjugation والتحول الوراثي Transformation بين البكتريا المتخصصة *Sinorhizobium meliloti* بوصفها خلايا واهبة والبكتريا *Escherichia coli* السلالة JM83 بوصفها خلايا مستلمة ، باستخدام الدلائل الوراثية والمظهرية والنسجية لإثبات مدى نجاح هذه العلاقة .

الدلائل الوراثية التي تشتمل على نمو المقترنات والمتحولات على الوسط الغذائي المدعم بالمضاد الحيوي الامبسلين Ampicillin ، الحساسية له البكتريا *E. coli* والمقاومة له البكتريا الواهبة. فضلاً عن استخلاص عديد السكريات الدهنية Lipopolysaccharides (LPS) وعديد السكريات الخارجي Exopolysaccharide (EPS) من هذه الخلايا (المقترنة والمتحولة) ، علما بان بكتريا *S. meliloti* مالكة لهذا المركب والبكتريا *E. coli* فاقدة له ، كما تم الكشف عن وجود مجموعة الكبريت في مركب LPS وعن الطبيعة الحامضية لهذين المركبين قياسا بعينة المقارنة (LPS و EPS المستخلصين من البكتريا الواهبة *S. meliloti*) ، أكدت نتائج الترحيل الكهربائي للبلازميدات المستخلصة من البكتريا الواهبة والمستلمة والمقترنة والمتحولة ، الحصول على هذه الخلايا الجديدة وتغوق عملية الاقتران البكتيري على عملية التحول الوراثي بشكل عام بدلالة الاختلافات الواضحة في أحجام هذه البلازميدات.

الدلائل المظهرية المتمثلة بتشوه الشعيرات الجذرية وتكوين عقد جذرية على بادرات الجت ، فضلاً عن زيادة محتواها البروتيني عند تلقيحها بلقاح البكتريا المقترنة أو المتحولة أو عند معاملة الشعيرات الجذرية والمزالة قممها أنزيمياً بمزيج مكون من بلازميد هذه البكتريا ومحلول PolyEthylene Glycol (PEG) أو عند تنميتها على وسط Nitrogen Free medium (NF) الصلب المدعم بعديد السكريات الخارجي EPS المستخلص من ذات البكتريا السابق ذكرها ، قياسا بالتشوهات والعقد الجذرية المتكونة على البادرات الملقحة بلقاح البكتريا المتخصصة لها *S. meliloti*.

الدلائل النسيجية التي تتمثل بعمل مقاطع نسيجية للعقد الجذرية وللتراكيب المشابهة للعقد المتكونة على بادرات نبات الجت بعد تلقيحها بلقاح البكتريا وبنوعها المقترنة والمتحولة قياسا بالمقاطع النسيجية للعقد الجذرية المتكونة مختبرياً وحقلياً على جذور هذه البادرات.

Abstract

The present research deals with the possibility of coexistence relations ,between the seedlings of *Medicago sativa* and non-specialized bacteria resulting from bacterial conjugation and genetic transformation, between the specialized bacteria *Sinorhizobium meliloti* as donor cells and bacteria *Escherichia coli* strain JM83 as recipient cells using genetic,morphological and tissue characteristics to prove the success of this relation .

Genetic characteristics: They include the growth of conjugated and transformed bacteria on the nutrient medium enhanced by the antibiotic, Ampicillin.*E. coli* bacteria ,is found to be susceptible to it while donor bacteria is found to be resistant, in addition to the extraction of Exopolysaccharides (EPS) from these conjugated and transformed cells, taking in to consideration that the bacteria *S.meliloti* possesses these two compounds, while the *E. coli* bacteria lack it. A group of sulfur was also detected in LPS compound, besides the acidic nature of these two compounds as compared to the control (LPS and EPS which are extracted from donor bacteria *S.meliloti*). The results of electrophoresis of plasmids extracted from donor,recipient, conjugated and transformed bacteria showed, the obtainment of new cells.The bacterial conjugation process was superior to the genetic transformation in general, as indicated by the differences in the sizes of these plasmids.

Morphological characteristics: These characteristics were represented, by the deformation of root hairs and the formation of root nodules on the seedlings of *Medicago sativa*, and the increase of its protein content after infection with conjugated and transformed bacteria, or when treating root hairs with enzymatica removed cell walls, using a mixture of plasmid of this bacteria and the solution of polyethylene glycol (PEG), or when cultured on solid NF medium by Exopolysaccharides (EPS) extracted from the previously mentioned bacteria as compared, to the deformation and root nodules formed on the inoculated seedlings by the specialized bacteria inoculum *S.meliloti*.

Tissue characteristics: Tissue characteristics are represented by making cross sections for root nodules, and similar structures of nodules formed on the seedlings of *Medicago sativa*, after inoculation with bacterial inoculum of conjugated and transformed bacteria, as compared to cross sections of root nodules formed on the roots of these seedlings in the laboratory and in the field.

Transferring Plasmids of *Sinorhizobium meliloti* Bacteria to *Escherichia coli* Bacteria by Bacterial Conjugation and Transformation Methods and it's Role in Root Nodules Formation

A Thesis Submitted
By

Aryan Mohamed Hamed AL-Zubaidy

To
The Council of the College of Education
University of Mosul In Biology
In partial fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master In Biotechnology

Supervised By
Assist.Prof.
Dr. Najwa Ibraheem Khaleel AL-Barhawi

2005 A.D.

1426 A.H.