جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

التشخيص البايوكيميائي والجزيئي لعزلات من الرايزوبيا المحلية

إسراء وعد الله حسين علي

رسالة ماجستير

علوم حياة

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور رعد حساني سلطان علاوي

١٤٤٦هـ

٢٠٢٥م

الخلاصة:

تم عزل ٤٨ عزلة من الرايزوبيا وعزلتين من الرايزوبكتريا من العقد الجذرية من أصناف مختلفة من النباتات البقولية وغير البقولية في مناطق زراعية وبيئية مختلفة في محافظات نينوى وبغداد وأربيل–كردستان/العراق. تم تشخيص هذهِ العزلات زرعياً ومجهرياً. أظهت الأختبارات الكيموحيوية نتيجة ايجابية لجميع العزلات لكل من إختبار الأندول وTSI، وBTB، واستهلاك السترات، والكاتاليز، واليوريز، وكانت سلبية لاختبار الفوكس–بروسكأور والمثيل الأحمر، في حين تباينت هذهِ العزلات في قابليتها على تمييع الجيلاتين. أظهرت النتائج قابلية العزلات على تحمل تراكيز مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم حيث وصلت الى ٨.٠٠% (وزن/حجم). كذلك تباينت العزلات في قابليتها على استغلال مصادر سكرية مختلفة كمصدر وحيد للكاربون، حيث أظهرت النتيجة أن المانيتول كان افضل مصدر للكاربون. أظهرت النتائج أن أغلب العزلات كانت متحملة لملح المعدن الثقيل كلوريد النيكل، في حين إختلفت العزلات في تحمّلها لكلوريد الكادميوم. أظهت النتائج أن أغلب العزلات حساسة لكلوريد الكوبلت بتركيز مايكروغرام/مل، وتباينت العزلات في تحملها للمعدن الثقيل خلات الرصاص. أظهرت ثلاثة عزلات مقاومة لثلاث مضادات حيوية مختلفة مدروسة. أظهرت نتائج اختبارات جزيئات السطح خلوية نتائج ايجابية لكل من انتاج لييفات السليلوز و(3→1)-β و تباينت في قدرتها على انتاج السكر المتعدد الخارجي. أظهرت دراسات الفعالية المضادة المايكروبية للراشح الخام لمزارع عزلات الرايزوبيا أن هناك فعالية لعزلة الرايزوبيا EW12 *Ensifer fredii* bv. *fredii* و البكتريا *R. leguminosarium* bv. *phaseoli* العزلتين EW14 و EW15 والعزلة *R. leguminosarium* bv. *viciae* EW31. أما عزلات الرايزوبيا التي أظهرت فعالية مضادة مايكروبية تجاه الفطر *Fusarium solani* EW55 الممرض للنبات فهي البكتريا *R. leguminosarium* bv. *viciae* العزلات EW47 وEW49 وEW50. أظهرت نتائج تحديد القواعد النايترزجينية لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل الجزئي للمورث 16S rRNA لأربعة عزلات منتخبة معزولة في هذهِ الدراسة مع تسلسلات العزلات القياسية المُسجلة في بنك الجينات أن العزلة EW6 والمعزولة من العقد الجذرية لنبات الجت *Medicago sativa* L. كانت مطابقة بنسبة ٩٨.٠% مع السلالات القياسية MH25 *Rhizobiacea bacterium*، أما العزلة EW9 والمعزولة من العقد الجذرية لنبات اللوبيا *Vigna unguiculata* L. كانت مطابقة بنسبة ٩٥.٠% مع السلسلات القياسية SOY12 *Rhizobium* sp.. أما نسبة تطابق العزلة EW14 والمعزولة من العقد الجذرية لنبات الفاصوليا فقد كان بنسبة ٩٥.٠% مع العزلة القياسية RP1 *Rhizobium leguminosarium*. وأظهرت العزلة EW38 والمعزولة من

العقد الجذرية لنبات البيزيا نسبة تطابق ٩٧.٠% مع العزلة القياسية *Rhizobium* sp. SFB1.

Abstract:

Fourty eight rhizobial and two rhizobacterial isolates were isolated from different different varites of leguminious plants and non-leguminious plants of different cultural and ecological areas of Ninavah, Baghdad and Erbil-Kurdistan/Iraq. Identification of these isolates cultural and micro examination were done. Biochemical tests revealed positive results for all isolates for Indole, TSI, BTB, Citrate utilization, Catalase and Urease. Results were negative for Vogus-Proskauer, Mythel red, wherease these isolates varied in gelatin lequification ability. Results showed ability of these isolates for tolerating Sodium chloride which reached to 8.0% (W/V). Also these isolates were valid in utilization ability of different sugar sources as sole carbon source, results showed that mannitol was the best carbon source. Results revealed that most of isolates most isolates were resistant for heavy metal salt Nickel chloride, wherease varied the isolates in there tolerance for Cadimium chloride. Results showed that the most of isolates were sensitive to Cobalt chloride with 5000 µg/ml concentration. The isolates were varied in there tolerance for heavy metal Lead acetate. Three isolates showed resistance for three different studied antibiotics. Production of cell surface molecules tests showed positive results for production of cellulose fibrilis and β-(1→ 3) and varied in their production ability for exopolysaccharid. Antimicrobial activity test revealed that crude filtrate of cultural rhizobial isolates *Ensifer fredii* bv. *fredii* EW12 and the bacterial *R. leguminosarium* bv. *phaseoli* isolates Ew14 and EW15, and the isolate *R. leguminosarium* bv. *viciae* EW31 against some of pathogenic bacterial species wherease rhizobial isolates that showed antimicrobial activity against the plant pathogenic fungus *Fusarium solani* EW55 is *R. leguminosarium* bv. *viciae* isolates EW47, EW49 and EW50. The results of identification of matching of nitrogen bases of sequence of polymerase

chain reaction of the partial of 16S rRNA of four selected isolates in this study with the sequences of standard strains recorded in N.C.B.I., that the EW6 isolate which was isolated from the root nodules of *Medicago sativa* L. was matched with 98.0% with standard strain *Rhizobiacea bacterium* MH25. EW9 isolate which was isolated from the root nodules of *Vigna unguiculata* L., was matched with 95.0% with the standard strain *Rhizobium* sp. SOY12. The matching percent of EW14 that isolated from the root nodules of *Phaseolus vulgaris*, was 95.0% with the standard strain *Rhizobium leguminosarium* RP1. Finally, The isolate EW38, isolated from the root nodules of *Pisum sativum*, shared matching percent 97.0% with the standard strain *Rhizobium* sp. SFB1.

University of Mosul

College of Education

for Pure Sciences

Biochemical and molecular characterization of local rhizobia isolates

Esra Wadulla Hussien Ali

M.Sc. Thesis

Biology

Supervised by

Assist. prof.

Dr. Raad Hassani Sultan Allawy

2025 A.D **1446 A.H**