جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة الفعالية المضادة المايكروبية لعزلات الرايزوبيا المحلية تجاه عزلات من البكتريا المرضية

رغيد سعيد شمعون ال جوجانة

رسالة ماجستير في
علوم الحياة/ علم الاحياء المجهرية

بإشراف
الاستاذ المساعد
الدكتور رعد حساني سلطان علاوي

1439 هـ
2018 م

الخلاصة

تضمنت الدراسة جمع وعزل 90 عزلة بكتيرية مرضية لأجناس مختلفة وكانت من أيلول إلى تشرين الأول لعام 2013 من مستشفى أبن سينا التعليمي ومستشفى السلام التعليمي ومستشفى الجمهوري ومستشفى ابن الأثير في مدينة الموصل ومستشفى الحمدانية العام ومن حالات مرضية مختلفة في الإنسان.

شخصت البكتريا المرضية المعزولة بالأعتماد على الاختبارات المظهرية والمزرعية والكيموحيوية, وأظهرت النتائج أنها تعود إلى الأنواع البكتيرية: *Escherichia coli* و *Staphyloccocus aureus* و *Staphylococcus epidermatides* و *Salmonella* sp. و *Enterobacter cloacae* و *Proteus mirabilis* و *Pseudomonas aureoginosa*.

كذلك عزل 16 عزلة من الرايزوبيا من العقد الجذرية للنباتات البقولية: *Microvirga lupine* المعزولة من الترمس و *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* المعزولة من العدس العزلة و *Ensifer meliloti* المعزولة من الحلبة و *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* المعزولة من الكشون و *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* المعزولة من البرسيم و *Mesorhizobium mediterraneum* المعزولة من الحمص و عزلت *Rhizobium fabae* المعزولة من الباقلاء العزلة و *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* المعزولة من الفاصوليا العزلة و *Rhizobium pisi* المعزولة من البزاليا و *Ensifer meliloti* المعزولة من الجت.

أجريت الاختبارات الكيموحيوية على عزلات الرايزوبيا, وأظهرت النتائج قدرة هذه العزلات على تحليل الجلاتين واستهلاك السترات واستغلال الكلوكوز والسكروز بوصفها مصادر كاربونية على وسط TSI الصلب. وأظهر أختبار النمو على وسط الرايزوبيوم الأدنى Rhizobial Minimal Media (RMM) قابلية النمو على الوسط للعزلات جميعاً.

تباينت عزلات البكتريا المرضية من حيث مقاومتها وحساسيتها تجاه المضادات الحيوية المدروسة, في حين أظهرت العزلة *Enterobacter cloacae* والعزلة *Proteus mirabilis* مقاومة للمضادات الحيوية الثمانية المدروسة جميعها.

تباينت عزلات الرايزوبيا المحلية من حيث مقاومتها وحساسيتها تجاه المضادات الحيوية, في حين أظهرت العزلة *Ensifer meliloti* لنبات الحلبة حساسية تجاه المضادات الحيوية الخمسة المدروسة. واظهرت نتائج دراسة الفعالية المضادة لعزلات بكتريا الرايزوبيا المحلية تجاه عزلات البكتريا المرضية تأثيراً واضحاً لأغلب عزلات الرايزوبيا.

تباينت قيم معدلات أقطار منطقة التثبيط Inhibition zone إذ بلغ أقصاها 39 ملم لعزلة الرايزوبيوم *Ensifer meliloti* تجاه عزلة البكتريا المرضية *E. coli*, في حين أن أقل معدل قيمة قطر تثبيط كان تجاه عزلة البكتريا المرضية *En. cloacae* (15 ملم).

أظهرت نتيجة تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز تحت المثبط الأدنى (Sub-MIC) للأكريدين البرتقالي تجاه العزلة *Rhizobium fabae* أن التركيز 100 مايكروغرام/مل كان هو التركيز المثبط الأدنى وأن تحت التركيز المثبط الأدنى هو 50 مايكروغرام/مل والذي استعمل في تجربة التحييد. وأظهرت نتائج تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي لبكتريا *Rhizobium fabae* المعزولة من الباقلاء باستعمال الأكريدين البرتقالي وبالتركيز 50مايكروغرام/مل نجاح التحييد.

إذ فقدت العزلة *Rhizobium fabae* المقاومة للمضادات الحيوية Rif وTet وAmox, في حين لم ينجح تحييد صفة المقاومة للمضاد الحيوي Van دلالة لاحتمالية وقوع الجينات المشفرة لهذا المضاد الحيوي على الكروموسوم والنسبة المئوية لتحييد المضادات Rif وTet وAmox فقد كانت 86 و98 و91 %, على التوالي.

أظهرت نتائج التحييد بالعامل المحيد الأكريدين البرتقالي فقدان الفعالية ضد المايكروبية للعزلة *Rhizobium fabae*. وهذه النتيجة تعطي احتمالية وقوع الجينات المشفرة للفعالية المضادة للمايكروبات على الـ DNA البلازميدي.

This study included collection and isolation of 90 isolates of pathogenic bacteria belonging to different genera from the period September to November, 2013 from Iben Senaa Teaching Hospital and Al-Salam Teaching hospital in Mosul city and Al-Hamdanyia General Hospital from different human infections.

The isolated pathogenic bacteria were identified depending on morphological, cultural characteristics and biochemical tests, the results revealed that these bacteria belonging to the bacterial species: *E. coli* and *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermatides* and *Salmonella* sp. And *Enterobacter cloacae* and *Pseudomonas aureoginosa* .

Also 16 isolates of rhizobia were collected and isolated from the root nodules of leguminous plants: from *Lupinus* sp. isolated *Microvirga lupine*, from *Lens culinaris* L. isolated *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, from *Trigonella foenum-graecum* L. isolated *Ensifer meliloti* strain, from *Vicia palaestina* L. isolated *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, from *Trifolium pretense* L., isolated *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, from *Cicer arietinum* L., isolated *Mesorhizobium mediterraneum*, from *Vicia faba* L., isolated *Rhizobium fabae*, from *Phaseolus vulgaris* L., isolated *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, from *Pisum sativum* L., isolated *Rhizobium pisi*, from *Medicago sativa* L., isolated *Ensifer meliloti*, respectively.

Biochemical tests of rhizobial isolates were done, results revealed that ability of these isolates to hydrolyze gelatin and citrate utilization and utilization of glucose, sucrose and lactose on TSI medium. Results of test growth on Rhizobial Minimal Medium (RMM) revealed that ability of all isolates to grow on this medium. Pathogenic bacterial strains were varied

regarding to their resistance and sensitivity against studied antibiotics, whereas the strains *Enterobacter cloacae* and *Proteus mirabilis* revealed the resistance against the all studied antibiotics.

Also rhizobial strains were varied regarding to their resistance and sensitivity against antibiotics, whereas the strain *Ensifer meliloti* showed sensitivity against five studied antibiotics.

Results of antimicrobial activity revealed clear effect of most rhizobial strains against pathogenic bacteria. Mean of values of inhibition zone diameter were varied, the maximum were reached to 39 mm by the *Ensifer meliloti* against *E.coli*, whereas minimum mean value of inhibition zone diameter were 15 mm against *Enterobacter cloacae* RS84.

Results of detecting minimum inhibition concentration (MIC) and sub-minimum inhibition concentration (Sub-MIC) for acridine orange against *Rhizobium fabae* revealed that 100 µg/ml concentration was the MIC and the 50 µg/ml was the Sub-MIC, which used in curing experiment.

Results of plasmid DNA curing of *Rhizobium fabae* RS91 using acridine orange with 50 µg/ml concentration revealed successful of curing. RS91 strain lost their resistance to Rif, Tet and Amox, whereas unsuccessful of curing of resistance feature of Van antibiotic indicating of probability of location of resistance genes encoding for Van antibiotic on chromosome. Percentage ratio of Rif, Tet and Amox curing were 86, 98 and 91 %, respectively.

Also results of curing by acridine orange showed losing of antimicrobial activity of *Rhizobium fabae* RS91. This result gives a probability of location of genes encoding for antimicrobial activity on plasmid DNA.

University of Mosul
College of Education for
Pure Sciences

A Study of Antimicrobial Activity of Local Rhizobial Isolates Against Isolates of Pathogenic Bacteria

Ragheed Saeed Shamoon Al-Jojana

M. Sc. Thesis

In

Biology/ Microbiology

Supervised By

Assistant Professor

Dr. Raad Hassani Sultan Allawy

2018 A. D. **1439 A. H.**