



جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

تقييم كفاءة بعض أنواع الخمائر في إنتاج هرمون أندول حامض الخليك وأثرها في نمو نبات الحنطة

أروى شوكت ذنون الصوني

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة / علم النبات

بإشراف
الأستاذ

الدكتور عصام داؤود سليمان

الخلاصة

تناولت الدراسة الحالية جمع (40) عزلة من الخمائر من مصادر نباتية مختلفة ومن التربة في مدينة الموصل واختيرت (8) عزلات وشخصت بالاعتماد على الاختبارات المظهرية والمزرعية والكيموحيوية وجرى تأكيد التشخيص باستخدام جهاز Vitek2 compact الا أنه تم تشخيص ثلاث عزلات فقط بواسطة جهاز الفايترك والتي تعود إلى جنس *Candida* وهي *C. pelliculosa*، *C. intermedia* و *C. guilliermondii* وجرى التأكد من تشخيص باقي العزلات من خلال التشخيص الجزيئي باعتماد منطقة ITS1-5.8S.ITS2 وباستعمال البادئ ITS5-ITS4 وحددت تسلسلات القواعد النيتروجينية بتحليل ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) ببرنامج ncbi Blast وقد بينت النتائج أن العزلات تعود للأجناس AR1- *Kodamaea ohmeri* و *Rhodotarlula mucilaginosa* و *Meyerozyma caribbica* و *Pichia guilliermondii* و *Kodamaea ohmeri* - AR2. جرى اختبار القدرة التضادية لعزلات الخمائر تجاه عدد من الفطريات الممرضة للنبات *Alternaria alternata*، *Fusarium solani*، *Botrytis cinerea* و *Sclerotinia sclerotiroum* ، فقد بينت النتائج أن 19 عزلة أي (47.5%) كانت فعالة تجاه الفطر *A. alternata* و 15 عزلة أي (37.5%) فعالة تجاه *B. cinerea* و 18 عزلة أي (45.0%) أعطت تثبيطاً للفطر *F. solani* و 20 عزلة أي (50.0%) أدت إلى تثبيط الفطر *S. sclerotiroum*. كما درس تأثير راسخ الخمائر في نمو الفطريات وأظهرت النتائج أن جميع العزلات كان لها القدرة على تثبيط الفطريات اذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط الفطر *A. alternata* من 85 إلى 94% ، في حين أن العزلات جميعها أعطت تثبيطاً معنوياً للفطر *B. cinerea* وبلغت النسبة المئوية لتثبيط 94.11% كذلك الحال للفطر *F. solani* اذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط ما بين 88.6 إلى 94.11% ، وأوضحت النتائج أن معظم العزلات كانت مثبطة معنوياً للفطر *S. sclerotiroum* ما عدا العزلتين *M. caribbica* و *C. pelliculosa* اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 49.7 و 40.3% على التوالي.

في حين أظهرت نتائج تأثير راسخ الخمائر في نمو الفطريات بعد تعرضه لدرجات حرارة مرتفعة 121 سيليزية لمدة ربع ساعة أن معظم العزلات كان لها القدرة على انتاج المركبات الثابتة حرارياً تجاه فطريات الاختبار اذ كانت العزلة *C. guilliermondii* هي الافضل في تثبيطها للفطرين *A. alternata* و *S. sclerotiroum* اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 32.2 و 26.6% على التوالي، وقد أعطت العزلة *K. ohmeri* - AR2 أعلى تثبيط للفطرين *F. solani* و *B. cinerea* اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 69.3 و 32.4% على التوالي. تم

اختبرت قابلية العزلات على انتاج السموم القاتلة وأوضحت النتائج أن العزلات جميعها كانت لها القابلية على انتاج السموم القاتلة تجاه واحد او اكثر من فطريات الاختبار عدا العزلة *C. pelliculosa* التي لم تظهر أي فعالية تجاه فطريات الاختبار جميعها .

وبينت النتائج أن عزلات الخمائر كان لها القابلية على انتاج المركبات العضوية المتطايرة فقد كان أعلى نسبة مئوية للتثبيط للفطرين *F. solani* و *S. sclerotiroum* بالعزلة *C. guilliermondii* اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 89.3 و 86.0% على التوالي في حين كانت أقل نسبة مئوية للتثبيط بالعزلة *C. intermedia* للفطر *B. cinerea* اذ بلغت النسبة المئوية للتثبيط 10.0%.

اختبرت قابلية العزلات على انتاج الانزيمات المحللة لجدار الخلية واذابة الزنك والفوسفور وانتاج الامونيا ومتعدد الامين اذ أظهرت النتائج أن عزلة واحدة فحسب كان لها القدرة على انتاج انزيمي السليلوليز والبروتينيز وهي *P. guilliermondii* ، في حين أن العزلة *C. pelliculosa* كان لها القدرة على انتاج انزيم البروتينيز فقط . أوضحت النتائج أن جميع العزلات لها القابلية على اذابة الفوسفور والزنك عدا العزلتين *C. pelliculosa* و *P. guilliermondii* ليس لها القابلية على اذابة الفوسفور . كذلك جميع العزلات لها القابلية على انتاج الامونيا عدا *C. pelliculosa* ، في حين أن عزلتين فحسب كان لها القدرة على انتاج متعدد الامين هما *C. pelliculosa* و *K. ohmeri* - AR1 . وتضمنت هذه الدراسة ايضاً اختبار قدرة عزلات الخمائر على انتاج اندول حامض الخليك (IAA) ودراسة الظروف المثلى لانتاجه وتنقيته وتقديره كميأً، اذ تبين أن (5) عزلات لها القدرة على انتاج هرمون IAA اختيرت العزلات الاكثر كفاءة في انتاجهما لهذا الهرمون وهي *K. ohmeri* - AR1 و *Rh. mucilaginosa* و *M. caribbica* على التوالي. اذ بلغ انتاجه 109، 107 و 95 مايكروغرام/ مل وبينت نتائج دراسة الظروف المثلى لانتاج IAA أن اليوم السابع من التحضين كان هو الاعلى في انتاج الهرمون ، وأن الكلوكون كان أفضل مصدر كاربوني لانتاج IAA للعزلة *K. ohmeri*- AR1 والمانيتول الفركتوز للعزلتين *Rh. mucilaginosa* و *M. caribbica* والمصدر النيتروجيني الببتون وكلوريد الامونيوم NH_4Cl للعزلتين *Rh. mucilaginosa* و *M. caribbica* على التوالي والتريتون للعزلة *K. ohmeri*-AR1، وكان للرقم الهيدروجيني تأثيراً واضحاً في IAA اذ كان اعلى انتاج عند pH6 للعزلتين *Rh. mucilaginosa* و *M. caribbica* و pH7 للعزلة *K. ohmeri*- AR1، وكان اعلى انتاج لـ IAA عند استخدام التريتوفان بتركيز 0.3% للعزلة *Rh. mucilaginosa* و 0.4% للعزلتين *K. ohmeri*- AR1 و *M. caribbica* وقدر

الهرمون كميّاً باستعمال جهاز HPLC اذ بلغ تركيزه 44،96 و 36 مايكروغرام/ مل للعزلات *M. caribbica* و *Rh. mucilaginosa*- AR و *K. ohmeri*- AR1 على التوالي.

تناولت هذه الدراسة ايضاً تأثير معلق عزلات الخمائر الثلاث التي كانت لها القابلية على انتاج هرمون IAA في انبات بذور نبات الحنطة ونمو بادراتها اذ اظهرت النتائج أن معاملة بذور نبات الحنطة بمعلق الخمائر ادت الى تعزيز انبات البذور واستطالة الجذور وبفارق معنوي عن معاملة السيطرة. كما ادت ذات المعاملة في وسط البتموس الى تحسين مواصفات نمو النبات بالنسبة لارتفاع البادرات وطول الجذور وعدد الجذور الجانبية ومساحة الورقة والوزن للمجموع الخضري والجذري وبفارق معنوي. كما ادت النبات براشح الخمائر الى زيادة عدد طبقات القشرة وزيادة سمك الخلايا مقارنة مع معاملة السيطرة .

Abstract

The Present study includes the collection of (40) isolates of yeasts, taken from different plant sources and soil in Mosul city, Eight isolates of Yeasts were identified according to their morphological, cultural and biochemical tests. The identification of 3 isolates were confirmed using Vitek 2 Compact System were belong to the genus *Candida* i.e. *C. Pelliculosa*, *G.intermedia* and *C. guilliermondii*. Identification of other isolates were performed by the use of molecular identification depending on the region ITS 1-5.85. ITS2 with the primer ITS4-ITS5. Determination of the nitrogen base sequences was done through the analysis product of polymerase chain Reaction (PCR) by using Ncbi Blast program. The results. Indicated that the isolates were belong to the genera *Kodamaea ohmeri* AR1, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Meyerozyma caribbica* *Pichia guilliermonelii* and *K.ohmeri*- AR2.

Testing the antagonistic ability of the yeast isolates against some plant pathogenic fungi i. e. *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* revealed that (19) isolates (47.5%) was effective in inhibiting the growth of *A. alternata* and (15) isolates (37.5%). suppressed the growth of *B.cinerea*, while (18) isolates (45%) caused inhibition to the growth of *F. solani* and (20) isolates (50%) inhibited the radial growth of *S. sclerotiorum*.

Study the effect of culture filtrates of they yeast isolates on the growth of tested fungi, proved that all yeasts isolates had the ability to control the growth of these fungi with various percent degrees which where between 85- 94% for *A. alternata*, 94.11% for *B.cinerea* and also *F.solani* which was inhibited by 88.6-94.11% Results also indicated that most yeast isolates inhibited the growth of *S.sclerotiorum* significantly

accept tow isolates *M.caribbica* and *C.pellieulosa* where 49.7 and 40.3.1 respectively. when culture filterats of yeast isolates was exposed to high degress of temperature (120°C) for 15 mints, most of the yeast isolates was able to produce thermal stable compounds against tested fungi with *C.guilliermondii* which gave the best inhibition reached 32.2 and 26.6% for *A. alternate* and *S.sclerotiroum* respectively. and isolation has given *K. ohmeri* – AR2 the highest inhibition of *F. solani* and *B. cinerea* as the percentage of inhibition 32.4 and 69.3% respectively.

Ability of yeast isolates to produce killer toxins pointed that all yeast isolates have the ability to produce against tested fungi accept the yeast *C.pelliculosa*. Results also Cleared that all yeast isolates produced volatile organic compounds with highest ratio for *C.guilliermondii* against *F.solani* and *S.sclerotiorum* with 89.3 and 86% respectively, while the least production was noticed with *C.intermedia* against *B.cinerea* which was 10% only.

Production of yeast isolates for cell wall lytic enzymes, desolving Zinc and phosphorus and production of Amonia, Polyamine was tested, and results showed that one isolate only *P.guilliermoudii* have the capability to screte cellulose and protase enzyme while *C.pelliculosa* was able to produce protase only. All yeast isolates were able to de solve phosphorous and Zinc accept *C.pelliculosa* and *P.guilliermondii*. Which could not de solve phosphorus. All tested yeast isolates were able to produce ammonia accept *C.pelliculosa* while only two isolates i.e. *C.pelliculosa* and *K.ohmeri*- AR1 Produced polyamine.

Test of yeast ability to produce hormone Indole Acetic Acid (IAA) and the optimum conditions forits production, purification and quantitative determination, revealed that these isolates produced IAA, and the best three isolates for IAA production were choosen were i.e.

K.ohmeri-AR₁, *Rh. mucilaginosa*- and *M.caribbiea*. which gave 109, 107 and 95 µg/ml respectively. optimum conditions for IAA production showed. that the 7th day of incubation was the best for highest production and the glucose was the best carbon source for *k.ohmeri*-AR₁ while manitol and fructose for each of *Rh.mucilaginosa* and *M.caribbica* respectively. on the other hand Trepton was the best nitrogen source for *k.ohmeri*-AR₁ and Pepton and amonium chlorid for *Rh.mucilaginosa* and *M.caribbica* respectively. pH had a limited effect on IAA production were the best production was achived at Ph6 whit *Rh.mucilaginosa*. and *M.caribbica* while pH7 for *k.ohmeri*-AR₁. highest hormone production was noticed with treptophan at 0.3% Conc. for *Rh.mucilaginosa* and 0.4% for each of *K.ohmeri*-AR₁ and *M.caribbica*. Quantitative determination of IAA was done using HPLC and gave the concs of 36, 44 and 96 µg/ml for each of *K.ohmeri*-AR₁, *Rh.mucilaginosa* and *M.caribbica* respectively

Treatment of wheat seeds and Seedlings with the three yeast suspentions and planting it on water agar induced plant growth and root elongation significantly as compared to control plants. Also the treatment of seeds and seedlings of wheat with yeast suspension and planting it on peatmoss caused significant increase of plant growth characters i.e. plant hight, root length, number of lateral roots, leaf area and fresh and dry weight of the plant as compared to controls.

Also it improved the anatomic characters of treated plants since it incrazed the development of number of cortical layers, and the thickness of cortical cells of treated plants as well as increasing the intensity of cell arrangement of vascular cylinder and the thickness of endodermis and the metaxylem by all three isolates as compared to control plants.

**University of Mosul
College of Education
for Pure Sciences**



Evaluation of the Efficiency of Some Species of Yeasts on the Production of Indole Acetic Acid Hormone and Its Effect on the Growth of Wheat Plant

Arwa Shawkat Thanon AL-Sofe

Ph. D. Thesis
Biology / Botany

**Supervised By
Prof.**

Dr. Esam Dawood Suliman

1441 A.H.

2019 A.D