



جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

تشخيص جزيئي لعزلات محلية مختلفة من الخميرة
Saccharomyces cerevisiae من الفواكه في مدينة الموصل

هيثم عبدالإله مجيد اللهيبي

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

مدرس

الدكتور زينة وجيه حميد الجادر

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة عزل 10 عزلات محلية للخميرة *Saccharomyces* من مصادر مختلفة من الفواكه من الأسواق المحلية لمدينة الموصل ، شُخصت العزلات بالإعتماد على الإختبارات المظهرية والزربية بالإضافة إلى الإختبارات الكيموحيوية وأظهرت النتائج على انها تعود إلى الجنس *Saccharomyces cerevisiae* .

أُختبرت مُقاومة العزلات المحلية لـ 8 أنواع مختلفة من المضادات الحيوية وكانت جميع العزلات مقاومة لكل من المضادات كلورامفينيكول (Cm) ، أمبسيلين (Ap) ، تتراسيكلين (Tc) والستربتومييسين (Str) وبنسبة 100% أما المضاد الحيوي إيرثرومييسين (Ery) فكانت العزلات مقاومة وبنسبة 70% وكذلك بالنسبة للمضاد الأموكسيلين (Am) كانت نسبة مقاومتها 90% في حين أبدت العزلات حساسية للنيستاتين (Nys) وبنسبة 80% وللفلجليل (Fla) 90% . فضلاً عن ذلك أُختبرت مقاومة العزلات المحلية قيد الدراسة لـ 5 أنواع من أملاح المعادن الثقيلة وأظهرت النتائج مقاومة العزلات لكل من كلوريد الزنك ($ZnCl_2$) ، كلوريد النيكل ($NiCl_2$) وكلوريد الكوبلت ($CoCl_2$) بنسبة 100% وكلوريد الزئبق ($HgCl_2$) 90% بينما كانت حساسية العزلات واضحة لكلوريد الكاديوم ($CdCl_2$) وبنسبة 70% .

أُجري التشخيص الجزيئي للعزلات المحلية أولاً بإستخدام مؤشر النوع المتخصص لتفاعل البلمرة المتسلسل Specific-PCR وبواسطة بادئات متخصصة (SC2،SC1) وأظهرت النتائج 8 حزم من الـ DNA الجينومي المنقى من العزلات المحلية بحجم واحد (1170) زوج قاعدي. من جهة أخرى لم تظهر أي حزمة من الـ DNA نتيجة تفاعل التضاعفي المتسلسل الخاص بالعزلات (SY3،SY1) في هلام الأكاروز.

حدد تسلسل القواعد النيروجينية لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل المتخصص Specific-PCR لعينات الـ DNA المنقى من ثلاث عزلات محلية منتخبة وأظهرت نتائج التحليل بإستخدام برنامج DNA BLAST/NCBI وجود تشابه بنسبة (87،98،99)% بين تسلسلات العزلات المحلية وتسلسلات السلالات القياسية *Saccharomyces cerevisiae* المسجلة في بنك الجينات. فضلاً عن ذلك لوحظ وجود طفرات نقطية والتي تشمل طفرات إستبدال أو إضافة أو حذف بعض القواعد النيروجينية في بعض المواقع عند مقارنة التسلسلات العائدة للعزلات المحلية وتلك القياسية علماً أن هذه الطفرات قد حدثت تلقائياً.

وهكذا فإن نتائج تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل للنوع المتخصص وتحليل تسلسل القواعد النيتروجينية لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل المتخصص للعزلات المحلية والقياسية تعطي دلالة جيدة على المستوى الجزيئي بأن هذه العزلات المحلية تعود للخميرة *Saccharomyces cerevisiae*.

Summary

This study included isolating 10 local isolates of *Saccharomyces* Yeast from the local markets of the city of Mosul . The isolates were diagnosed based on phenotypic and cultural tests in addition to biochemical tests , the results showed that these isolates belong to genes *Saccharomyces cerevisiae*.

The resistance of local isolates were tested for 8 different types of antibiotics. all the isolates showed resistance to Chloramphenicol Cm , Ampicillin (Am) , Tetracycline (Tc) and Streptomycin (Str) with a ratio 100% as for the antibiotic Erythromycin (Ery) the isolates were resistant either ratio 70% as well as for Amoxylin (Am) the percentage of resistance was 90% while the isolates showed sensitivity to Nystatin (Ny) With ratio 80% and to Flagel (Fla) 90% . In addition the resistance of the local isolates under study were tested for five salts of heavy metal, the results showed resistance of the isolates to Zinc chloride ($ZnCl_2$) , Nickel chloride ($NiCl_2$) and Cobalt chloride ($CoCl_2$) with ratio 100% and Mercury chloride ($HgCl_2$) is 90% while the sensitivity of the isolates was clear of Cadmium chloride with ratio 70% .

Molecular diagnosis of local isolates were carried out using firstly the specific PCR indicators and by specialized primers (SC1 , SC2) . The results showed 8 bands of purified genomic DNA from local isolates of similar size at (1170) bp. On the other hand, it did not show any band of the DNA as a result of the specific-PCR reaction specialize of isolates (SY1 , SY3) in the agarose gel .

The Sequence of the nitrogenous bases of the specific PCR products were determined for three chosen local isolates. The results were analyzed using DNA BLAST/NCBI program revealed that there is a similarity with ratio (99,98,87)% between the local isolate (SY2, SY4, SY7) respectively and the standard strains sequences of *Saccharomyces cerevisiae* already recorded in the Gene Bank. Additionally, the point mutations whether they are substitution or addition or deletion were observed in some position of the nitrogenous bases after comparing the sequences of the tested local isolates and the standard. These mutation may occur spontaneously .

Thus, the results of the specific PCR reaction technique the analysis of the nitrogenous bases sequence of the specific PCR products of the local isolates and standard strains give a good indication at the molecular level that these local isolates belong to *Saccharomyces cerevisiae* .

University of Mosul
College of Education
For Pure Sciences



Molecular Diagnosis of Different Local Isolates of Yeast *Saccharomyces cerevisiae* From Fruits in Mosul City

Haitham Abdulilah Majeed AL-Luhaiby

M. Sc. Thesis
Biology

Supervised By
Lec.
Dr. Zena Wajeesh Hameed AL-Jader

2020 A. D.

1442 A. H.