عزل وتعريف بعض البكتيريا المنتجة لمضادات الميكروبات من كهوف هضبة الصمان

إعداد الطالبة

أمل حسان صالح العنبري

إشراف:

د. رضا حسن حسين عماشه

د. ساميه درويش صديق جستنيه

المستخلص

خلال العقود السابقة تم دراسة بعض البيئات الطبيعية في المملكة العربية السعودية من حيث محتواها الميكروبي ولكن لاتزال هناك بعض البيئات التي لم تدرس بشكل دقيق. هدفت هذه الدراسة إلى اختيار الكهوف كأحد هذه البيئات وبالتحديد كهوف هضبة الصمان المتواجدة شمال شرق مدينة الرياض للكشف عن إمكانية وجود بعض البكتيريا ذات القدرة على إنتاج مضادات للميكروبات حيث تم أخذ ٨ عينات من مناطق مختلفة من الكهف وتنميتها على بيئتين هما بيئة الآجار المغذي وبيئة مستخلص التربة وبعد تنمية المزارع الميكروبية وتنقية العزلات الميكروبية تم الحصول على ٥٦ عزلة. درست قدرة جميع العزلات على التضاد مع بعض الأنواع البكتيرية الممرضة والخمائر والفطريات. تم اختيار اثنين من أكثر العزلات قدرة على التضاد العزلة AC30 والعزلة AC32 لاستكمال التجارب عليها، وحيث أن أكبر تأثير كان ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* تم اختيارها لتقدير التضاد للعزلتين أثناء دراسة تأثير المتغيرات عليهما. تم تنمية العزلتين على بيئات مختلفة وكانت أفضل بيئة لنمو العزلة AC30 وإعطاء أفضل نتيجة تضاد هي بيئة المرق المغذي، بينما كانت بيئة نترات السكروز هي الأفضل في نتيجة التضاد للعزلة AC32 وأفضل بيئة لنموها هي بيئة المرق المغذي. كما قدر تأثير العوامل المختلفة مثل أفضل مصدر كربون وأفضل مصدر نيتروجين وأفضل قيمة لدرجة الحموضة وأفضل درجة حرارة وأفضل فترة تحضين على كل من نمو العزلة وكفاءة نشاطها ضد الميكروبات، وكان النتيجة لتأثير العوامل المختلفة بالتوالي على نمو العزلة AC30 هي الجلوكوز، مستخلص الخميرة في بيئة المرق المغذي، pH 5، ٣٧ درجة مئوية، ٢٤ ساعة وعلى نمو العزلة AC32 هي السكروز نترات الصوديوم، pH 9، ٣٥ درجة مئوية، ٧٢ ساعة، أما تأثيرها على التضاد وجد أن للعزلة AC30 هي الجلوكوز، مستخلص الخميرة في بيئة المرق المغذي، pH 7 ، ٣٧ درجة مئوية، ٤٨ ساعة. وللعزلة AC32 هي السكروز، نترات الصوديوم، pH 6، ٣٥ درجة مئوية، ٤٨ ساعة. لاحقا تم عمل التعريف الميكروبي للعزلتين البكتيرية المختارة حيث تم وصفها مورفولوجيا وتحديد خصائصها الفسيولوجية والبيو كيميائية كما تم تعريف العزلتين جينيا بواسطة 16S rRNA. حيث كانت العزلة الأولى تتبع النوع *Paenibacillus polymyxa* والثانية تم تعريفها على أنها *Paenibacillus peoriae* وهي من الاجناس الحديثة.

Isolation and identification of some antimicrobial producing bacteria from caves in Summan plateau

By

Amal Hassan Saleh Alanbari

Supervised By

Dr. Reda HassanHussein Amasha

Dr. Samyiah Darwish Saddig Jastaniah

Abstract

During the past decades, some natural environments in the Kingdom of Saudi Arabia have been studied in terms of microbial content, but there are still some environments that have not been studied thoroughly. This study aimed to select the caves as one of these environments, specifically the caves of the Summan plateau located northeast of Riyadh to detect the possibility of the presence of some bacteria with the ability to produce antimicrobials. From eight soil samples were taken from different areas of the cave, the bacterial isolates were obtained on nutrient agar medium and soil extract medium and after the development of microbial cultures and the purification of microbial isolates, 56 isolates were obtained. The ability of all isolates to antagonize with some pathogenic bacteria, yeasts and fungi was studied. Two of the most antagonistic effect isolates AC30 and AC32 were selected to apply further experiments, as the greatest effect was against *Staphylococcus aureus* bacteria, it was chosen to estimate the antagonism of the two isolates while studying the effect of the variables on them. The two isolates were cultivated on different media and the best medium for AC30 isolate growth and best antagonist result was the nutrient broth medium while the sucrose nitrate medium was the best for the antagonist result of isolate AC32 and the best media for the growth was nutrient broth medium (NB). The effect of different factors such as the best carbon source, the best nitrogen source, the best pH value, the best temperature and the best incubation period on the isolation growth and the efficiency of its activity against microbes were studied. The result of the effect of different

factors respectively on the growth of isolate AC30 were glucose, yeast extract in (NB)., pH5, , and on the growth of isolate AC32 are sucrose, sodium nitrate $NaNO_3$, pH .37 °C and 24 hrs Their effect on antagonism was found to isolate AC30 as glucose, yeast .9, 35 ° C, 72 hrs extract in (NB), pH 7, 37 ° C, 48 hrs. For isolation AC32 are sucrose, $NaNO_3$, pH 6, 35 ° C, 48 Next, the microbial identification of the two selected bacterial isolates was carried out. .hrs Morphology and physiological and biochemical characteristics were determined. The two isolates were genetically identified by 16S rRNA, where the first isolate belong to the species *Paenibacillus polymyxa* and the other was defined as *Paenibacillus peoriae,* it is one of the new species.