مؤسسة الموازنة الفيدرالية الحكومية للتعليم العالي
" جامعة ساراتوف الحكومية الوطنية للبحوث سميت بعد (ن.ج. تشيرنيشيفيسكفا)"

إبراهيم محمد إبراهيم إبراهيم

الخصائص الهيكلية والوظيفية للبوليمرات الكربوهيدراتية المتواجدة علي سطح الكائنات الحية الدقيقة المعزولة من الأوساط البيئية عالية الملوحة وتحديد امكانياتها البيوتكنولوجية

ميكروبيولوجى - 03.02.03

رسالة

للحصول على درجة

الدكتوراه فى العلوم البيولوجية

(دكتوراه فى الميكروبيولوجى)

المشرف العلمى :

الأستاذة الدكتورة/ **كونوفا سفيتلانا أناتوليفنا**

أستاذة العلوم البيولوجية
ورئيس قسم الكيمياء الحيوية والفيزياء الحيوية

ساراتوف – ٢٠١٩

الملخص

تم عزل 49 عزلة من الكائنات الحية الدقيقة المحبة للملوحة والمنتجة لل Exopolysaccharide من الوسائط البيئية شديدة الملوحة (محلول ملحي ، ملح مجفف ملون ، تربة ملحية ، طين ملحي وأملاح خام من بحيرة قارون ، الفيوم ، مصر وبحيرة إلتون ، فولغوغراد ، روسيا) باستخدام بيئة ال SG المدعمة بالسكر وتركيزات مختلفة من الملح. بناءً على قدرة النمو في تركيزات مختلفة من الملح (NaCl) ، تم تمييز جميع العزلات في أربع مجموعات. تم أختيار ١٧ عزلة واعدة وبناءً على تحليل تسلسل النوكليوتيدات لجينات 16S rRNA ، والخصائص المظهرية والفسيولوجية للعزلات السبعة عشر ، تم تحديد أنتماءهم لعشرة أجناس ، ثمانية منهم ممثلون للبكتيريا: *Bacillus, Salinibacillus, Virgibacillus, Piscibacillus, Halobacillus, Marinococcus, Chromohalobacter, Halomonas* وعزلتان ممثلين لل archaea: *Halobacterium , Haloterrigena*. تم تسجيل تتابعات 16S rRNA الخاصة بال ١٧ عزلة ببنك الجينات NCBI (National Center for Biotechnological Information (https://www.ncbi.nlm.nih.gov))، كما تم إيداع خمس سلالات في مجمع الكائنات الحية الدقيقة المفيدة للأغراض الزراعية التابعة لأكاديمية العلوم الزراعية التابعة لأكاديمية العلوم الروسية (BKCM)، سانت بيترسبرغ. تم أختيار ٩ عزلات من الكائنات الحية الدقيقة المحبة للملوحة والمنتجة لل Exopolysaccharide (EPS)، وتأسيس انتماءهم لانواع محددة وتحديد الظروف المثلى لإنتاج EPS. وقد تبين أنه في ظل الظروف المثلى ، لوحظ أعلى أنتاجية للEPS بواسطة السلالات EG1QL3 *Chromohalobacter salexigens* (13.7 جم / لتر) و *Bacillus licheniformis* EG1QL30 (9.3 جم / لتر). تبين أن الفروكتان (عديد السكريات من الفركتوز) يهيمن علي تكوين ال EPSs للسلالات EG1QL3 *Chromohalobacter salexigens* و *Bacillus licheniformis* EG1QL30 بتركيب وحدات مكررة من الهيكل التالي: →β-D-Fruf-(2-(٦→ (ليفان Levan). بالإضافة إلى الفركتان ، تم العثور في الEPSs للسلالة EG1QL30 *B. licheniformis* على وجود حمض التيكويك ، وهو هيكل (Poly-galactosylglycerophosphate) باللهيكل التالي: α-D-Gal*p*-(1→1)-sn-Gro-(3-P-)n-(٦). تم اكتشاف هذا البوليمر مع هذا الهيكل لأول مرة بين السكريات البكتيرية. تم عزل ال O- specific polysaccharides (OPS) من الLipopolysaccharides (LPS) للسلالة RU5S2EL *Halomonas ventosae* ، مع بنية جديدة للسكريات البكتيرية. حيث يتكون الOPS من وحدات مكررة (خماسية السكريات) من الهيكل التالي:

→4)-α-L-Rha*p*-(1→3)-α-L-Rha*p*-(1→3)-β-L-Rha*p*-(1→4)-β-L-Rha*p*-(1→
3
↑
1
α-D-Glc*p*

أظهرت محاليل ال EPS نشاط استحلاب عالي ضد المواد الكارهة للماء مع ثبات عالي للمستحلبات مع مرور الوقت. لوحظ أن أكثر نشاط استحلاب (E24)٪ مقابل الكيروسين بواسطة محاليل الEPS لسلالات *H. ventosae* RU5S2EL و *H. caseinilytica* EG33S7QL حوالي ٨٠٪. كما ظهر أكبر قدر من الثبات لمستحلبات الكيروسين مع محاليل ال EPS لسلالات *H. caseinilytica* EG33S7QL و *Ht. saccharevitans* EG3QL57 . تم الكشف عن مقاومة متعددة لسبع سلالات من أصل تسع سلالات منتجة لعديد السكريات ضد تأثيرعمل أيونات المعادن الثقيلة. كما أظهرت السلالات التي تم اختبارها ثبات (مقاومة) مقابل المعادن المدروسة بالترتيب التالي: Cu> Ni> Pb> Zn ≥ Cd. وقد تبين أن التركيزات العالية للمعادن بالإضافة إلى أنخفاض تراكم الكتلة الحيوية أنخفض انتاج الEPS، ولكن عند التركيزات المنخفضة (٠,٢ ملي مول) في وسط النمو ، أدى الي زيادة كبيرة في انتاج الEPS من معظم السلالات. أظهرت الكائنات الحية الدقيقة المنتجة لل EPS، *H. caseinilytica* EG33S7QL, *H. ventosae* RU5S2EL, *C. salexigens* EG1QL3, *B. licheniformis* EG1QL30, *B. subtilis* EGP5QL12, *Halobacillus dabanensis* EG1HP4QL, *Salinibacillus aidingensis* EG2QL8, *Ht. saccharevitans* EG3QL57 القدرة على استخدام البترول (Crude oil) كمصدر وحيد للكربون. كما أظهرت السلالة *H. caseinilytica* EG33S7QLنشاطًا عاليًا في تحلل البترول في ظل ظروف الملحية (٦٨٪) في ١٢يومًا ، بينما أستطاعت السلالات المتبقية تكسير من ٢٣ إلى ٣٤٪ من البترول في ظل الظروف الملحية.