Menoufia J. Agric. Biotechnology, Vol. 5 May (2020): 97 - 98

Department : Genetics
Field of study : Genetics
Scientific Degree : Ph. D.
Date of Conferment: Mar. 18 , 2020

Title of Thesis : DIVERSITY OF NODD GENE OF SOME RHIZOBIUM ISOLATES FROM DIFFERENT LEGUMES.

Name of Applicant: Enas Mahrous Abd El-Ghany Abo Sherief

Supervision Committee:
- **Dr. Ragaa A. Eissa: Prof. genetics, Fac. of Agric., Menoufia Univ.**
- **Dr. A. I. Fahmi : Prof. genetics, Fac. of Agric., Menoufia Univ.**
- **Dr. A. M. El- Zanaty: Associate Prof. of genetics, Fac. of Agric., Menoufia Univ.**
- **Dr. H. H. Nagaty : Associate Prof. of genetics, Fac. of Agric., Menoufia Univ.**

ABSTRACT: This study was conducted to 1) isolate and characterize some rhizobia from some legumes, 2) determine the phylogenetic relationships among them; and 3) investigate their potential biological control agent. 24 Rhizobial isolates were obtained from five legumes namely; faba bean, lentil, pea, clover, and soybean. Morphological characterization classified isolates into fast grower and slow grower. Also, their biochemical profiles using API 20E and API 20NE system showed large diversity which may reflect their adaptation in different environments. Moreover, molecular detection by 16S rDNA gene was able to characterize 19 of them to species level. Isolates from pea, faba bean, clover and lentil were Rhizobium leguminosarum and isolates from soybean were Bradyrhizobium japonicum. This data supported the idea that there is a narrow diversity of species of rhizobia in Egypt. Phylogenetic analysis of the 19 isolates confirmed that the Bradyrhizobium japonicum isolates were phylogenetically divergent from all other isolates. Also, the phylogram revealed that each group of isolates originated from root nodule of a certain legume formed a separate sub-cluster. Besides a narrow range of interspecies variations was found which is consistent with the idea of biovars presence among species. In addition, the 24 isolates showed strong inhibition of growth of Fusarium and Rhizoctonia phytopathogens. However, results indicated that 25% of isolates were not able to solubilize tricalcium phosphate. On the other hand, the IAA production by the 24 isolates varied greatly among isolates. Therefore, these results demonstrated that they may have the potential to act as biocontrol agents. Moreover, we characterize Nod D gene on the molecular level. Upon its isolation its size came to be 820 bp of nucleotides. This came to be true for all bacterial isolates except four isolates we did not succeed to isolate NodD gene. Moreover we used Quantitative Real Time PCR to study NodD gene expression. Seven nod D gene were down regulated and five were up regulated than 16S housekeeping gene.

Key words: Nodd gene, rhizobium, legumes, phylogenetic relationships.

عنوان الرسالة: دراسه التنوع الوراثى لجين NodD لبعض عزلات الرايزوبيوم من نباتات بقوليه مختلفه

اسم الباحث : إيناس محروس عبد الغنى أبو شريف

الدرجة العلمية: الدكتوراه في فلسفه العلوم الزراعية

القسم العلمى : الوراثة

تاريخ موافقة مجلس الكلية : ٢٠٢٠/٣/١٨

لجنة الإشراف:
ا.د. رجاء عبد العزيز عيسى أستاذ متفرغ بقسم الوراثة ، كلية الزراعة، جامعة المنوفية
أ.د/عبدالمجيد إبراهيم فهمى أستاذ متفرغ بقسم الوراثة، كلية الزراعة ، جامعة المنوفية
د/ عبد الفتاح مندى الزناتى أستاذ مساعد بقسم الوراثة ، كلية الزراعة ، جامعة المنوفية
د/ هشام حسن نجاتـــــــى أستاذ مساعد بقسم الوراثة، كلية الزراعة، جامعة المنوفية

الملخص العربى

أجريت هذه الدراسة على (١) عزل وتوصيف بعض سلالات بكتريا الرزوبيا التى تم عزلها من نباتات بقوليه مختلفه ، ٢) تحديد علاقه القرابه فيما بينها ؛ و ٣) كما تم دراسه قدره العزلات على إستخدامها فى المكافحه الحيويه ضد بعض الممرضات النباتيه. تم الحصول على ٢٤ عزلة Rhizobial من خمسة نباتات بقوليه وهي: الفول والعدس والبازلاء والبرسيم وفول الصويا. تم تصنيف العزلات إالى سلالات بكتيريه سريعه النمو وسلالات بطيئه النمو تبعا للتوصيف المورفولوجي. كما ، أظهرت الدراسات البيوكيميائيه التي تستخدم نظام API 20E و API 20NE تنوعًا كبيرًا قد يعكس تكيفهم في البيئات المختلفة. علاوة على ذلك ، تم إجراء الاختبارات الجزيئيه عليها بعمل PCR لجين الـ16SrDNA. اتضح ان العزلات من البازلاء والفاصوليا البرسيم والعدس Rhizobium leguminosarum والعزلات من فول الصويا هي Bradyrhizobium japonicum. لقد دعمت هذه البيانات فكرة ضيق التنوع فى أنواع الرايزوبيا في مصر. أكد التحليل الوراثي لل ١٩ عزلة أن عزلات Bradyrhizobium japonicum كانت مختلفه phylogenetically من جميع العزلات الأخرى. أيضا ، كشف phylogram أن كل مجموعة من العزلات التى تم عزلها من العقد الجذرية لنباتات بقوليه معينة تشكل مجموعه فرعية منفصلة. إلى جانب مجموعة متماثله من بين الأنواع مما أوضح امكانيه وجود biovars بين الأنواع. بالإضافة إلى ذلك ، أظهرت بعض العزلات تثبيط قوي لنمو الفطريات النباتيه (الفيوزاريوم و الرايزوكتونيا). ومع ذلك ، أشارت النتائج إلى أن ٢٥ ٪ من العزلات لم تكن قادرة على إتاحه الفوسفات فى التربه. من ناحية أخرى ، اظهرت العزلات المدروسه تباينا واضحا فى كميه IAA المنتجه بكل منهما. لذلك ، أثبتت هذه النتائج أنها قد تكون لديها القدرة على العمل كمحفزات نمو نباتيه . وعلاوة على ذلك ، بالاضافه الى ذلك تم دراسه جين Nod D على المستوى الجزيئي. عند عمل الPCR للجين ، تم الحصول على حزم حجمها يصل إلى ٨٢٠ زوج من القواعد عند استخدام Real time PCR لدراسة التعبير الجيني NodD، اوضحت النتائج وجود تباين كبير فى التعبير الجيني بين العزلات المختلفه . أظهرت ٧ عزلات تعبير جيني منخفض بينما ال ٥ عزلات المتبقيه كانت منخفضه في تعبيرها الجيني وذلك بالمقارنه بينها وبين التعبير الجيني لجين 16S .