

**MENOUFIA JOURNAL OF
AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY**

<https://mjab.journals.ekb.eg>

- ζTitle of Thesis** : Genetic diversity and symbiotic efficiency of *Rhizobium leguminosarum* nodulating faba bean (*Vicia faba*)
- Name of Applicant** : Dina Rasmi Mohammed Elhoshi
- Scientific Degree** : M.Sc.
- Department** : Genetics
- Field of study** : Genetics
- Date of Conferment** : Jan. 18 , 2023
- Supervision Committee:**
- Dr. Ragaa A. Eissa : Prof. of Genetics, Fac. of Agric., Menoufia Univ.
 - Dr. A. M. El- Zanaty : Assistant Prof. of Genetics, Fac. of Agric., Menoufia Univ.

ABSTRACT: We performed this search on *Rhizobium leguminosarum* bacteria that fix nitrogen symbiotically with faba bean. We selected twenty-five isolates from different locations in menoufia governorate. we characterized the selected isolates, morphologically, biochemically, and molecularly to detect their diversity and symbiotic effectiveness. Moreover, we planted faba bean in pots experiment and inoculated them with all isolates in three replicates each. We measured plant fresh and dry weigh, nodules fresh and dry weigh. Moreover, measured total nitrogen content to detect their symbiotic efficiency. Least symbiotic efficiency appeared in isolates numbers RL 9(87.95), RL15(84.77), RL13(73.98) and RL12 (78.46). Highest symbiotic efficiency appeared in isolate numbers RL21(169.3), RL23(138.72) and RL25 (132.85). Morphological characterization of all isolates is motile, negative to gram stain and positive to fucshin stain. Biochemical characterization for all isolates came to be tolerate NaCl at various concentration (0, 0.5, 1, 2 and 4%) and able to grow over a wide range of pH (4-9). Isolates are able to utilize various sugars (Glucose, Fructose, Sucrose, Lactose, Sorbitol, Mannose, and Maltose) as sole carbon sources. All tested isolates are acid producers. Moreover, they are able to hydrolyse starch but not able to hydrolyse urea except isolates (RL4 and RL16). *Rhizobium leguminosarum* isolates came to be either tolerant to tested antibiotics. Biodiversity of tested *Rhizobium leguminosarum* isolates were detected by using rep-PCR marker technique. The highest polymorphism among *R. leguminosarum* isolates was revealed by BOX-A1 primer (88.3%), followed by that revealed by ScoT-12 primer (87.5%). However, the lowest polymorphism was 68.75% resulted from application of rep-16 primer. 16s rRNA sequence used to study genetic diversity between isolates. NifH amplification in 25 tested *Rhizobium leguminosarum* isolates showed the same molecular weight which came to be 336bps.

Key words: *Rhizobium leguminosarum*, morphological, biochemical, faba bean, 16s rRNA.

عنوان الرسالة: الاختلافات الوراثية والقدرة على تكافل الريزوبيوم المكونة لعقد جذرية في الفول البلدي

اسم الباحث: دينا رسمي محمد الحوشي

الدرجة العلمية: الماجستير في العلوم الزراعية

القسم العلمي: الوراثة

تاريخ موافقة مجلس الكلية: ٢٠٢٣/١/١٨

لجنة الإشراف: أ.د. رجاء عبد العزيز عيسى استاذ الوراثة، كلية الزراعة، جامعة المنوفية

د/ عبد الفتاح مندي الزناتي أستاذ الوراثة المساعد، كلية الزراعة، جامعة المنوفية

الملخص العربي

تم اجراء هذه الدراسة على بكتيريا *Rhizobium leguminosarum* التي تثبت النيتروجين بشكل تكافلي مع الفول. وقد تم اختيار ٢٥ عزلة من مواقع مختلفة في محافظة المنوفية. تم تمييز العزلات المختارة مورفولوجيا وكيميائيا وجزئيا للكشف عن تنوعها وفعاليتها التكافلية. علاوة على ذلك تم زراعة الفول في أصص حيث تم تلقيحهم بجميع العزلات في ثلاث مكررات لكل منهما. ثم تم قياس وزن النبات الطازج والجاف، ووزن العقيدات البكتيرية الطازجة والجافة. علاوة على ذلك، تم قياس محتوى النيتروجين الكلي للكشف عن كفاءتها التكافلية. ظهرت أقل كفاءة تكافلية في العزلات بأرقام (RL 9 (87.95) و (RL15 (84.77) و (RL13 (73.98) و (RL12 (78.46). ظهرت أعلى كفاءة تكافلية في العزلات ذات الأرقام (RL21 (169.3) و (RL23 (138.72) و (RL25 (132.85). التوصيف المورفولوجي لجميع العزلات اثبت أن جميع العزلات متحركة وسالبة لصبغة جرام وعصوية الشكل طبقا لصبغة الفوكسين. اتضح من التوصيف الكيميائي الحيوي أن جميع العزلات تتحمل كلوريد الصوديوم بتركيز S مختلفة (٠، ٠.٥، ١، ٢، ٤٪) وقادر على النمو على مدى واسع من الأس الهيدروجيني (٤-٩). يمكن للعزلات استخدام السكريات المختلفة (الجلوكوز والفركتوز والسكروز واللاكتوز والسوربيتول والمانوز والمالتوز) كمصدر وحيد للكربون. جميع العزلات المختبرة منتجة للحمض. علاوة على ذلك، فهي قادرة على تحلل النشا، ولكنها غير قادرة على تحليل اليوريا بالماء ماعدا العزلات (RL4) و (RL16). أصبحت عزلات *Rhizobium leguminosarum* متحملة للمضادات الحيوية المختبرة. تم الكشف عن التنوع البيولوجي لعزلات *Rhizobium leguminosarum* المختبرة باستخدام تقنية علامة rep-PCR. تم الكشف عن أعلى تعدد أشكال بين العزلات باستخدام البادئ (BOX-A1(88.3%) ومع ذلك، كان أقل تعدد الأشكال (٦٨.٧٥٪) ناتجا عن استخدام البادئ rep-16. استخدم التتابع الخاص بجين الـ 16s rRNA لدراسة التنوع الجيني بين العزلات. أظهر تضخيم NifH في ٢٥ عزلة من *Rhizobium leguminosarum* نفس الوزن الجزيئي الذي وصل إلى ٣٣٦ زوج من القواعد.