مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٥) العدد (٣) 2021
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (3) 2021

عزل وتصنيف الأنواع الجرثومية (*Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae &Bacillus Licheniformis*) من ترب قرية صليب التركمان في محافظة اللاذقية

أميمة ناصر*
نبيل أبو كف**
زينب يوسف نعمان***

(تاريخ الإيداع ٤ / ١٠ / ٢٠٢٠ . قُبل للنشر ٢ / ٨ / ٢٠٢١)

الملخص

عزلت بعض الأنواع الجرثومية من ترب قرية صليب التركمان في محافظة اللاذقية، تم تمييز العزلات الجرثومية بناءً على تلوينها بصبغة غرام، وبعض الخصائص الكيميا حيوية، وتبعاً إلى الخصائص اللونية على المستنبتات النوعية والانتقائية.

بينت النتائج عزل الأنواع الجرثومية العصوية اثنان منها سالبة صبغة غرام والأخرى موجبة صبغة غرام وذلك استناداً إلى تصنيف بيرجي ، وذلك خلال فترة حضانة استمرت (24–72) ساعة على درجة حرارة (37) درجة مئوية. الجراثيم المعزولة هي: الأولى *Escherichia coli* (A_1)، والثانية *Klebsiella pneumonia* (A_2) ، والثالثة *Bacillus Licheniformis* (A_3).

الكلمات المفتاحية: ترب، صليب التركمان، *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumonia*، *Bacillus licheniformis*

*أستاذ مساعد في معهد البحوث البيئية .
**أستاذ في كلية الزراعة .
***طالبة ماجستير .

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٥) العدد (٣) 2021

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (3) 2021

Isolation and identification of *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia* and *Bacillus licheniformis* from soil village Sulayip Alturkman in Lattakia province

Noumma Omiema Nasser [*]
Nabil Abo Kaff**
Zeinab Yousef***

(Received 4 / 10 / 2020 . Accepted 2 / 8 / 2021)

ABSTRAC

Some Bacterial species were isolated and identification from soil village sulayip al turkman in Lattakia province. The isolated bacteria were identified and characterized based on their gram stain reaction characteristics, morphological and biochemical properties. The results showed three typs of rod bacteria, the first and second were gram negative, but the third was gram positive. Then these types were incubated at (37)°C for (24-72) hours. This is based on comparison of results with Bergey Manual of systematic bacteriology. The isolates were identified to be: (A_1) *Escherichia coli*, (A_2) *Klebsiella pneumonia*, (A_3) *Bacillus licheniformis*.

Key words: soil, Sulayip Alturkman, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus licheniformis*.

[*] Assistant Professor at Higher Institute for Environmental Research,
**Assistant Professor in Agriculture of faculty
***Master student

مقدمة:

تتكون التربة من مواد صخرية متفتتة متغيرة نتيجة تعرضها للعوامل البيئية والحيوية والكيميائية، ومنها عوامل التجوية والتعرية، ومن الجدير بالذكر أن التربة تختلف عن مكونات الصخرة الأم ويعود السبب في تغييرها لعمليات التفاعل التي تحدث بين الأغلفة الأربعة لسطح الأرض، وهي الغلاف الصخري والمائي والجوي، والغلاف الحيوي [1]. وبناءً على ذلك تعد التربة مزيجاً من المكونات العضوية والمعدنية، التي تتألف منها التربة في حالاتها السائلة (الماء) والغازية (الهواء) [2]. حيث تحتفظ التربة بالمواد التي تتألف منها بين حبيباتها المتفككة بفجوات مسامية (مسام التربة) [3]، وهي بذلك تشكل هيكل التربة الذي تملؤه هذه المسام [4].

تحتوي التربة غالباً على كل أنواع الكائنات الحية الدقيقة كالجراثيم والطحالب والفطريات وجذور النباتات الراقية، بالإضافة إلى الحشرات والديدان، وتلعب الكائنات الحية في التربة، وبسبب تأثير العوامل البيئية على نمو وتكاثر هذه الكائنات الحية تظهر الاختلافات في أعدادها، وفعاليتها ونشاطها في التربة الواحدة أو بين تربة وأخرى [5].

فالجراثيم (Bacteria): كائنات مجهرية بدائية النواة تتألف من خلية واحدة لها قدرة كبيرة على التكاثر، وتتضاعف أعدادها بسرعة ولها عدة أشكال عصوية كروية حلزونية خيطية، ،مع أنه يمكن أن يظهر التنوع الواسع للجراثيم تعدداً كبيراً جداً في أشكالها، وتتواجد الجراثيم في كل مكان تقريباً، كما تستوطن التربة، الماء، ينابيع المياه الحارة الحامضية والكبريتية والمخلفات الإشعاعية، الأجزاء العميقة من القشرة الأرضية، وتعيش الجراثيم في النبات والحيوان، حيث يحتوي الغرام الواحد من التربة على ما يقارب (10) مليارات خلية جرثومية، مكونة بذلك كتلة حيوية تتعدى كل الحيوانات والنباتات [6]. للجراثيم الدور الرئيس في عملية إعادة تدوير المواد الغذائية، حيث تعتمد خطوات عديدة في عملية الدورة الغذائية لهذه الكائنات، مثل عملية تثبيت الأزوت من الغلاف الجوي وعملية التعفن [7]. كما أثبتت دراسة بوجود الجراثيم في كل مكان، لأنها تمتلك قدرة عالية على التكيف مع أي ظروف، ويمكنها البقاء على قيد الحياة أينما وجدت، إن معظم الجراثيم لم يتم كشفها وتنميطها ، وما يقارب نصف شعبة الجراثيم فقط تمتلك أنواعاً يمكن زراعتها في المختبر [8] ، لا تعود الغالبية العظمى من الجراثيم في جسم الإنسان عليه بالضرر بفضل تأثيرات الحماية من جهاز المناعة، والقليل منها ذو فائدة، ومع ذلك فهناك أصناف قليلة من الجراثيم تسبب بعض الأمراض والعدوى. تستخدم الصادات الحيوية في الطب لمعالجة العدوى بالجراثيم، و في الزراعة لمعالجة الأمراض النباتية، وبذلك أصبحت المقاومة للصادات الحيوية أمراً شائعاً وخطراً [9,10,11] . وتدخل بعض الجراثيم في التقانة الحيوية، لتصنيع الصادات الحيوية، ومواد كيميائية أخرى [12]. تقوم الجراثيم بتفكيك المواد العضوية الطبيعية جميعها وتحسين خصوبة التربة، وذلك من خلال تحطيم أنسجة النباتات والحيوانات فيها، ودمج النواتج مع المعادن المحررة في التربة، كما تحول الجراثيم في التربة الفلورا النباتية، والفونا الحيوانية، والمواد المتحللة منها إلى معقد عضوي مهم في التربة يسمى الدبال، كما تعمل الجراثيم في التربة على عملية تثبيت الأزوت الجوي، وتحوله إلى نشادر[13,14]، ومن الأنواع والأجناس الجرثومية التي لها أهمية في تحليل المواد العضوية في التربة *Bacillus subtilis, Pseudomonas, ... Clostridium* [15,16,17]

بينت دراسة [18] أن الجراثيم الممرضة للحشرات *Bacillus thuringensis* تتواجد بشكل طبيعي في ترب الساحل السوري، وهي تحتوي على الأجسام البلورية البروتينية، وبأشكال متعددة، وبينت النتائج أن الجراثيم *Bacillus thuringensis* تنتشر بشكل واسع في جميع النظم البيئية الزراعية المختلفة، وأكثر وجوداً في ترب الغابات والترب

الشاطئية، وتوجد في التربة السورية بنسبة97% من مجموعات العينات المختبرة، وترتبط وفرة وتعداد *Bacillus thuringensis*بعوامل متعددة منها نسبة المادة العضوية في التربة وحموضة التربة.

أوضحت دراسة [19] في اليابان أن بعض أنواع الجراثيم المعزولة من التربة هي المسؤولة عن تفكيك مبيد الغليكوزيدات، الذي يستخدم عادة في تربة الأراضي العشبية.

في دراسة [20] أجريت في ولاية نبراسكا، تم عزل بعض الجراثيم من ترب ملوثة بالصرف الصحي، بينت هذه الدراسة أن الرطوبة من أهم العوامل التي تؤثر على زيادة هذه الجراثيم، وقد ركزت الدراسة بشكل خاص على الجراثيم المسببة للأمراض عند الإنسان .

بينت دراسة [21] أجريت في أمريكا الشمالية والجنوبية تأثير pH على تنوع الجراثيم في التربة مع تزايد أعدادها بين درجتي حموضة pH (4–7) ودرجة الحرارة المثلى لنو *Escherichia coli* (37) درجة مئوية.

أهداف البحث:

- عزل بعض أنواع الجراثيم الموجودة في ترب قرية صليب التركمان في محافظة اللاذقية.
- تنقية و تحديد الجراثيم المعزولة بتنميتها على الأوساط الزرعية المغذية العامة والانتقائية والمعتمدة عالمياً.
- تشخيص الجراثيم المعزولة اعتماداً على الخصائص البيوكيميائية.

مواد و طرائق البحث:

1–جمع العينات وتحضيرها:

جُمِعَت عينات التربة خلال الأعوام 2019 و 2020 من بعض الحقول التابعة لقرية صليب التركمان الواقعة غرب محافظة اللاذقية. أخذت العينات من أربع مواقع من منطقة الدراسة من عمق(٥–١٥)سم بواسطة أداة حادة:

١–حقل حمضيات: مسمد بسماد عضوي.

٢–حقل خضراوات: مسمد بسماد عضوي ولاعضوي.

٣–بيت بلاستيكي: مسمد بأسمدة عضوية ولاعضوية ومعامل كثيرا بلمبيدات الحشرية.

٤–أرض بور: ملوثة وخارجة عن استخدام الزراعة.

تم أخذ ثلاثة عينات من كل موقع وخلطه جيداً ووضعت العينات في أكياس من البولي إيتيلين المعقم لحين الوصول إلى المخبر حيث أُجريت التحاليل الجرثومية عليها.

2 – تحضير مستخلص التربة :

مزجت عينة التربة لكل موقع من المواقع المدروسة بشكل جيد لتصبح متجانسة وأخذ 10 غ من التربة تم حلها في بالون يحتوي الماء المقطر والمعقم وأكمل الحجم إلى 100مل مع مراعاة التحريك المستمر لمدة (15) دقيقة، ثم رشحت، وأخذ منها بواسطة ماصة ميكرونية معقمة ميلي لتر واحد إلى أنبوب يحتوي 9 مل ماء مقطر ومعقم، وبذلك تم الحصول على تخفيف (1/100)، ثم عملت التخافيف حتى (1/10000) وتركت بالدرجة 37 درجة مئوية، ثم أخذ بواسطة إبرة التلقيح ذات العقدة بعد تعقيمها عينة من التخفيف المراد، وفتح الطبق فتحة صغيرة، وخطط الطبق بخطوط متوازية على الوسط الآغار المغذي (Nutrient Agar) وترك في الحاضنة بدرجة الحرارة (37) درجة مئوية

لليوم التالي، وبعدها استخدم المجهر ووصفت ودرست المستعمرات من حيث الشكل واللون والحواف والميزات الأخرى [22].

3-الأجهزة والأدوات المستخدمة:

1-الأجهزة المستخدمة:

جهاز الصاد الموصد (J.P Selecta, s. a)، غرفة عزل جرثومي (Telstar,Bio II A)، مجهر ضوئي (Olympus CX40)، مكبرة ضوئية (Optika)، حاضنة، براد لحفظ العينات، ميزان الكتروني.

2-الأدوات المستخدمة:

أكياس بولي إيتيلين لجمع العينات، أطباق بتري، قطن، سلفان، كحول إيتيلي، مصباح لهب، إبرة زرع جرثومي، أقماع، ورق ترشيح، ماصات، أنابيب، حوجلات.

4 -الأوساط الجرثومية المستخدمة لتنمية الأحياء الدقيقة

تم عزل الكائنات الحية الدقيقة وتفريقها وتوصيفها، بإجراء مجموعة من الاختبارات الشكلية و المزرعية و البيوكيميائية على الأوساط الزرعية الآتية وهي من إنتاج شركة (Merck) الألمانية:

الآغار المغذي السائل (NB) Nutrient Broth و الآغار المغذي الصلب (NA) Nutrient agar كوسطين عامين، وتم استخدام الأوساط الآتية لتفريق وتمييز الأحياء الدقيقة وهي: Simmons citrate agar، Kligler Iron Pseudomonas ،KF Streptococcal Agar Base ،Endo agar ، Eosin methylene blue،Agar Salmonella Shigella (SS) Agar ،Citrimid Agar .

5-الزرع الجرثومي وتوصيفه :

تمت عملية عزل الجراثيم والكشف عن هويتها اعتماداً على الطرائق العالمية [23]، حيث نُقل من كل تخفيف مقدار بإبرة تلقيح إلى ثلاثة أطباق تحتوي الوسط المغذي الصلب(Nutrient Agar)، وتركت بالحاضنة بالدرجة (37) درجة مئوية لمدة (24-72) ساعة، ودرست الأطباق التي ظهر فيها نمو جرثومي، حيث عزلت باستخدام طريقة التخطيط على الوسط المغذي، وحضنت بالدرجة (37)درجة مئوية لمدة (48) ساعة. وزرعت العينات على أوساط اصطفائية، وأجري لها الصبغ بطريقة صبغة غرام، قسمت إلى جراثيم موجبة صبغة غرام، وجراثيم سالبة صبغة غرام، وبعد الحصول على مستعمرات نقية لِكلا النوعين السالبة والموجبة صبغة غرام، تم انتقاء مستعمرات مفردة، حيث تم حلها بمحلول واقي (PBS X1) حسب عكارة (Mcfarland 2)، ثم أجري لها اختبارات بيوكميائية باستخدام تقانة المسطرة البيوكيميائية (API-20E) لتسهيل عملية التمييز بين الأنواع، وأجريت للعينات اختبارات تخمير السكريات، وحضنت بدرجة حرارة (37) درجة مئوية لمدة (24) ساعة، وتمت مراقبة النتائج لمدة (72) ساعة إضافية للتأكد من عملية التخمر، بالإضافة لما سبق تم إجراء مجموعة من اختبارات النمو بدرجات حرارة مختلفة (45,15,10) درجة مئوية، ودرجات ملوحة مختلفة (NaCl%) %(15,10,6.5)، وذلك فقط للجراثيم موجبة صبغة غرام.

6-تنميط الجراثيم:

هذا وتؤكد الدراسات الحديثة على وجود اختلافات وتنوع بين الجراثيم، وقد تصنف إلى أكثر من مجموعة اعتماداً على صفات محددة منها: الاستجابة لصبغة غرام نظراً لاختلاف التركيب الكيميائي بين جدار الخلايا في بعض أنواع الجراثيم يمكن التعرف على هذه الأنواع باستخدام الصباغ الملونة، ولكي تتم رؤية خلايا الجراثيم بوضوح تحت المجهر يجب استعمال أصبغة مختلفة وهي:

أ-الأصبغة العادية: مثل أزرق المتيلين، وهو أكثر استعمالاً حيث تظهر الجراثيم مصبوغة بلون أزرق.

ب-صبغة غرام: نسبة لمكتشفها كريستيان غرام، وتتلخص في استعمال صبغتين مختلفتين هما : البلورات البنفسجية أو بنفسجي جانسيان (Crystal violet) ، والصفرانين (Safranin)، تأخذ بعض أنواع الجراثيم الصبغة البنفسجية (الأزرق)فقط، وتسمى جراثيم موجبة صبغة غرام، بينما تأخذ أنواع أخرى صبغة الصفرانين وتظهر حمراء أو زهرية، وتسمى جراثيم سالبة صبغة غرام، وبذلك يمكن تمييز هذان النوعان من الجراثيم وتصنيفها، ويعتمد ذلك على تركيب الجدار الخلوي لكل نوع [24,25].

النتائج ومناقشتها:

عُزلت الجراثيم وتم الكشف عن هويتها اعتماداً على الطرائق العالمية المذكورة سابقاً ، كما هو موضح في الجدولين (1,2)

جدول(1) نسبة وتوع العزلات الجرثومية في المواقع المدروسة

	حقل حمضيات	حقل خضراوات	بيت بلاستيكي	أرض بور
عدد العينات	3	3	3	3
نوع الجراثيم	Bacillus licheniformis	Klebseilla pueniomonia Eschireshia coli Bacillus licheniformis	Eschireshia coli Klebseilla pueniomonia Bacillus licheniformis	Klebseilla pueniomonia Bacillus licheniformis

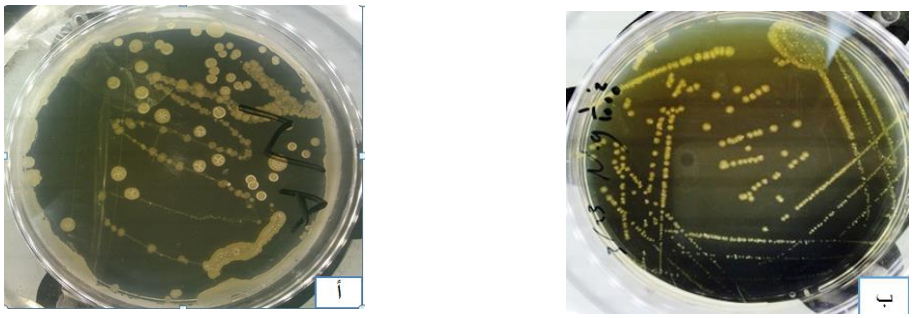
جدول(2) تعداد الجراثيم في المواقع المدروسة

	حقل حمضيات	حقل خضراوات	بيت بلاستيكي	أرض بور
1/10	8	11	12	10
1/100	6	9	8	8
1/1000	4	7	6	5
1/10000	2	4	3	3

التركيز الذي اعتمد عليه في إجراء الاختبارات والتحاليل وزراعة على الأوساط التفريقية هو 1/1000 وذلك لأن المستعمرات واضحة بشكل أكبر .

حيث بينت النتائج ظهور أعداد كبيرة من المستعمرات بعد زراعة العينات على الأوساط المغذية العامة والانتقائية مثل وسط الآغار المغذي[26] .

تم عزل وتفريق الجراثيم بطريقة التخطيط على الطبق وذلك من أجل الحصول على عينات جرثومية نقية، وذلك على الوسط المغذي الآغار المغذي.

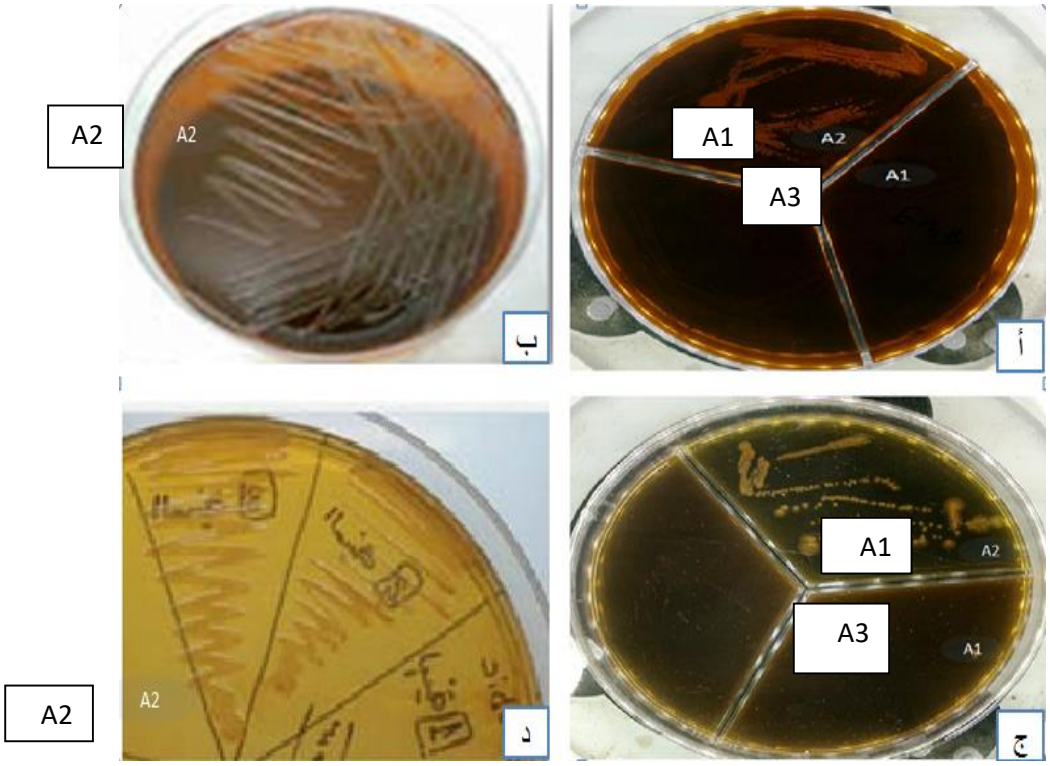


الشكل(1): (أ) نمو الجراثيم على nutrient agar، (ب) طريقة التخطيط لتفريق وعزل الجراثيم

بعد إجراء عملية العزل الانتقائي والحصول على العزلات الجرثومية تم تنميت مستخلص التربة على أوساط اصطفائية مثل وسط أغار الأيوزين أزرق الميتيلين (EMB) حيث حققت العزلة الجرثومية A_1 و العزلة الجرثومية A_2 نمو جيد على هذا الوسط المغذي، بينما العزلة الجرثومية A_3 لم تنمو على هذا الوسط، كما تم تنمية مستخلص التربة على وسط النمو Macconkey، حيث حققت العزلة الجرثومية A_1 و العزلة الجرثومية A_2 نمو جيد على هذا الوسط، أما العزلة الجرثومية A_3، لم تنمو على هذا الوسط، كماهو موضح في الجدول (3) اختبارات نمو العزلات على الأوساط الآتية (EMB, SS, Macconkey, MISA) [27]

الجدول(3): اختبارات نمو العزلات على الأوساط حيث (+)إيجابي، (−)سلبي.

العزلة الجرثومية وأوساط النمو	A_1	A_2	A_3
EMB	+	+	−
Macconkey	+	+	−
SS	+	FEW	−
MISA	−	−	+



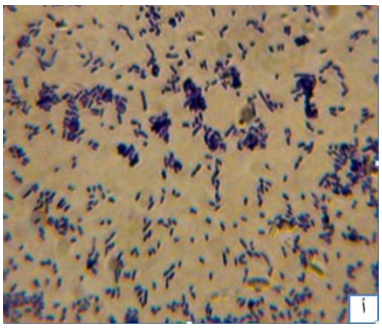
الشكل(2): النمو على الوسط EMB و SS-agar، حيث (أ) نمو العزلة (A_1) على وسط EMB وعدم نمو العزلة (A_3)عليه، (ب) العزلة (A_2)على الوسط EMB، (ج) نمو العزلة (A_1) على وسط SS-agar وعدم نمو العزلة (A_3) عليه، (د) العزلة (A_2) على الوسط SS-agar

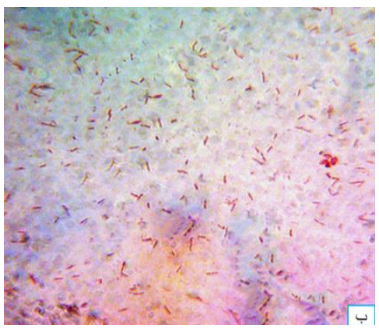
نتائج التلوين والفحص المجهري:

بهدف التحديد الدقيق للعزلات الجرثومية تم اعتماد صبغها بصبغة غرام، حيث تبين أن العزلة الجرثومية (A_1) والعزلة الجرثومية (A_2) هي عبارة عن عصيات سلبية صبغة غرام، بينما العزلة الجرثومية (A_3) هي عصيات موجبة صبغة غرام، كما في جدول (4)

جدول (4): اختبار صبغ العزلات بصبغة غرام

العزلة الجرثومية وصبغة غرام	A_1	A_2	A_3
Gr	−	−	+





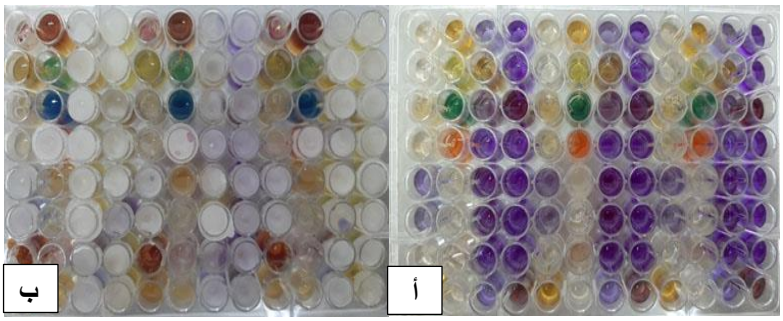
الشكل(3): (أ) شكل خلايا(A_3) بصبغة غرام، (ب) شكل خلايا (A_2) بصبغة غرام

نتائج اختبارات صفيحة API-20E

بعد التلوين بصبغة غرام، تم انتقاء مستعمرات جرثومية مفردة، وتم وضعها بمحلول موقي (PBS1x) حسب عكارة (Mcfarland 2) ثم أجري باستخدام تقانة الصفيحة بعض الاختبارات البيوكيميائية مثل (الأوكسيداز، الكاتلاز، النترات، الأندول، السترات، اليوريا، الجيلاتين) كما أجري للعزلات الجرثومية المعزولة اختبارات تخمير السكريات باستخدام الصفيحة، وذلك لتحديد مقدرتها على تخمير أنواع مختلفة من السكريات، حيث حضنت العينات في درجة حرارة (37) درجة مئوية لمدة (24) ساعة، كما هو موضح في الجدول(5).

جدول (5) بعض الاختبارات البيوكميائية للعزلات الجرثومية.

العزلة الجرثومية	A_1	A_2	A_3
Gelatin	−	−	+
Urea	−	+	−
Catalase	+	+	+
Oxidase	−	−	+
Nitrate	+	+	+
Citrate	+	+	+
Arginine	−	−	+
Esculin	+	+	+
Ornithine	−	−	−
Lactose	+	+	+
Sucrose	+	+	+
Mannitol	+	+	+
Maltose	+	+	+
Glucose	+	+	+
Raffinose	−	+	+
Arabinose	+	+	+
Trehalose	+	+	+
Inositol	−	+	+
Cellobiose	−	+	+
Glycerol	+	+	+



الشكل (4): صفيحة اختبارات تخمر السكريات حيث (أ) الشكل العام للصفيحة قبل إجراء الاختبار، (ب) شكل الصفيحة بعد إجراء الاختبار

نتائج فحص الحركة عند الجراثيم المعزولة:

هذا واستكمالاً للاختبارات البيوكيميائية العديدة التي تم تطبيقها على العزلات الجرثومية المعزولة، تم إجراء اختبار الحركة للعزلات الجرثومية المعزولة على الوسطMotility Agar فقد تبين أن العزلة الجرثومية A_1 والعزلة الجرثومية A_3 متحركة، بينما العزلة الجرثوميةA_2 غير متحركة كما هو موضح في الجدول(6).

جدول (6) اختبار الحركة على العزلات الجرثومية.

العزلة الجرثومية	A_1	A_2	A_3
Motility	+	–	+

بالإضافة لما سبق تم إجراء مجموعة من اختبارات النمو للعزلة الجرثومية A_3 بدرجات حرارة مختلفة (45–65) درجة مئوية، حيث بينت النتائج مقدرة نمو العزلة الجرثومية A_3 بدرجة حرارة 45 درجة مئوية كما هو موضح في الجدول (7)، وكذلك تم اختبار نموها بدرجة ملوحة 15% حيث بينت النتائج مقدرة العزلة الجرثومية A3 على تحمل الملوحة بتركيز 15% كما هو موضح في الجدول (7).

العزلة الجرثومية	Hemolysis	Nacl 15 %	Anaer obic	النمو عند الدرجة 45 درجة مئوية	النمو عند الدرجة 65 درجة مئوية	Growth at pH 7.5
A_3	+	+	+	+	–	+

جدول (7) اختبار نمو العزلة الجرثومية A3 بدرجات حرارة مختلفة (45 ,65) وتحملها للملوحة

يتبين مما سبق حسب معطيات نتائج الزرع الجرثومي وصفات المستعمرات النامية [٢٢] والتلوين بطريقة غرام[28] والفحص المجهري واختبار الحركة [24,25]. والاختبارات البيوكيميائية [29] على الجراثيم المعزولة من ترب حقول قرية صليب التركمان في محافظة اللاذقية ، تبين أن العزلات الجرثومية المعزولة كما هو موضح في الجدول (8).

جدول (8) العزلات الجرثومية المعزولة

العزلة الجرثومية	النوع	المجموعة
A_1	*Escherichia coli*	Enterobacteriaceae
A_2	*Klebsiella pneumoniae*	Enterobacteriaceae
A_3	*Bacillus Licheniformis*	Bacillus

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع دراسة [30,31] الذي حصل على الجنس *Escherichia coli* في منطقة مصب النهر الكبير الشمالي في محافظة اللاذقية وهي جراثيم ممرضة ، ويفسر ظهورها للتلوث القريب من منطقة المصب في الدراسة سبب ظهورها هو تلوث الترب.

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع دراسة [31,32] الذي حصل على الجنس *klebsiella pneumoniae* في سورية.

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع دراسة [32] الذي حصل على الجنس *Bacillus Licheniformis* من ترب سورية في منطقة السلمية.

الاستنتاجات والتوصيات

1-تم الحصول على ثلاث عزلات جرثومية من ترب المنطقة المدروسة:

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae, Bacillus licheniformis.*

2-تتميز العزلة الجرثومية الأولى *Escherichia coli* بأنها ذات خلايا عصوية الشكل سلبية صبغة غرام متحركة، أما العزلة الجرثومية الثانية *Klebsiella pneumoniae* فهي ذات خلايا عصوية الشكل مفردة أو ثنائية سالبة صبغة غرام غير متحركة، في حين العزلة الجرثومية الثالثة *Bacillus licheniformis* فهي ذات خلايا عصوية الشكل موجبة صبغة غرام متحركة.

3-نوصي بمتابعة الدراسة وزيادة النشاط البحثي في عزل الجراثيم من ترب مختلفة، ومتابعة العمل على تشخيص عزلات ذات أهمية بحثية لاستخدامها في مجالات صديقة للبيئة(مكافحة حيوية، مستخلص دوائي، غاز حيوي) ، لتكون بنك معلومات محلي يمكن الاعتماد عليه في دراسات مستقبلية.

المراجع:

[1] Sylvia.,(1998), *Principles and Application of Soil Microbiology*, Prentice Hall.

[2] Chesworth, Edited by Ward(2008), *Encylopedia of soil science*, Dordrecht, Netherland: Springer ISBN.

[3] James A. Danoff-Burg, Columbia University The Influence: Geology and Soils.

[4] McCarty, David.,(1982). Essentials of Soil Mechanics and Foundations.

[5] COMIS; DON.,(2002). *"Glomalin: Hiding Place for a third of The World's Stored Soil Carbon"* . *Agricultural Research* (United States Department of Agricultural Research Service).

[6] Michael Hogan.,(2010). *Bacteria*. Encyclopedia of Earth. Eds. Sidney Draggan and C. J. Cleveland, National Council for Science and the Environment, Washington DC.

[7] Sears CL (2005). " *Adynamic* partnership: celebrating our gut *flora*". Anaerobe 11 (5): 247-51. Doi:10.1016/ j.anaerobe.2005.05.001. PMID 1670157

[8] Rappe MS, Giovannoni SJ .,2003. "*The uncultured microbial majority*". Annual Review of Microbiology 57:369-94. Doi: 10:1146/annurev. Micro.57.030502.090759. PMID 14527284

[9] Waziri Umaru Federal Polytechnic, Birninkebbi, Nigeria., European Journal of Applied Sciences 4 (5): 211-215.,2012. *Screening and Isolation of the Soil Bacteria for Ability to Produce Antibiotics* Musliu Abdulkader and Salawudeen Waliyu.

[10] SCHAAD; N. W., 1998. *Laboratory Guide of plant pathogenic Bacteria*. ApS press. USA, PP:52.

[11] BERGY, HOLT., 1994. *Isolation and Identication of Pseudomonas aeruginosa From Syrian Oily-soils and Evaluation its Production for Lipa*.

[12] Delong EF, Pace NR(2001). "*Enviromental diversity of bacteria and archaea*". Syst Biol 50 (4): 470-8. Doi: 10.1080/106351501750435040. PMID 12116647.

[13] Halibia, M.(2016) *Isolation of some micro organisims that dissolve phosphates and stabilizeair nitrogen asymptomatic and test theireffect on yellow corn plants*.Tishreen University.Syria.

[14] Aislab,S. Jordan,B. *Relation between soil classification and bacterial diversity in soils of the Ross sea region*, Antractica, Geoderma 144(2008)9-2

[15] Postgate,J(1998). *Nitrogen Fixation,3rdEdition*. Cambridge University Press,Cambridge UK.

[16] Bergman,B.; Sandah,G; Lin,S.; Larsson,H.; and Carpenter,E.J.2012. *Trichodesmium-a widespread marine cyanobacterium with unusal nitrogen fixation properties*. FEMS Microboilogy Reviews.37 (3):1-17.

[17] Alhaj Ali, A; Yazaji,S,2008. *Isolation and Identication of Pseudomonas aeruginosa From Syrian Oily-soils and Evaluation its production for Lipase*, Damascus University.

[18] Kbibo I. .et.al(2011). *The spread and Distribution of Bacillus thuringiensis Berliner bacteria in Different Ecosystem and agriculture of soils in syria* www.tishreen edu.sy.

[19] Liang,C; Zhang,X.; Kennedy,F.;Rubert,V.; Teri,C.; 2007. *Effectof plant materials on microbial transformation of amino sugars in three soil microcosms. Bio Fertil Soils* 43;631-639.

[20] Jamieson1,R.J. Gordon2,K.E. Sharples3, G.W. Stratton3 and A. Madani2 *Movement and persistence of fecal bacteria in agriculture soils and subsurface drainage water*: A review 1 school of Engineering,University of Guelph,Ontairo, Canada N 1G2W1; 2Department of engineering and 3 Department of Enviromental Science, Nova Scotia Agriculture collage,P.O.Box550, Truro, Nova Scotia,Canada B2N5E3.

[21] Halina Podbielska, Igor Buzalewiczl؛ Agnieszka Suchwalko؛ Alina Wieliczko. (2012) *Bacteria classification by Means of the Statistical Analysis of Fresnel Diffraction Patterns of Bacteria colonies*. Biomedical Optics.

[22] Ohba, M. and K. Aizawa. (1986)a. *Distiribution of Bacillus thuringiensis in soils of Japan*. J. Inverteb. Pathol. 47:277-282.

[23] COWAN ST. (1974) *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. 2nd edn. London, Cambridge University Press, pp 217.

[24] Gram, HC. (1884) "*Über die isoliter Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparant*". Fortschr. Med. 2: 185-189.

[25] Gl, Walker DH (1996). "*Detection of infection or infectious agents by use of cytologic and histologic stains*". Clinical Microbiology Reviews 9 (3): 382-404. PMC 172900. PMID 8809467.

[26] Patricia, M Steubing., (1993). *Isolation of an Unknown Bacterium from Soil*. Department of Biological Sciences University of Nevda, Las vega Las vegas, Nevada 89154-4004.

[27]Stiti. Ferouz(2017) *Classification Survey of the bacteria in certain types of Soil in the province of Lattakia*. Master thesis, Department of Enviromental protection, Higher Institute for Environmental Research. Tishreen University, Syria.

[28]Guessas B and Kihal M, (2004) *Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk.* African Journal of Biotechnology,3(6), PP339-342.

[29] Piraino P, Zotta T, Ricciardia A, Mcsweeney PLH and Parente E, (2008) *Acid production, protyolysis,autolytic and inhibitory properties of lactic acid bacteria isolated from pasta filata cheeses*: A multivariate screening study, International Dairy Journal. 18: 81-92.

[30] Al-Deen, Rudwan Badr, et.al. (2014) *identification of enterobacteriacae foodborne bacteria in Syrian food by PCR and FTIR-ATR techniques.* Advances in Enviromental Biology. P.1233+.

[31] Stiti.Ferouz(2017) *Classification Survey of the bacteria in certain types of Soil in the province of Lattakia*. Master thesis, Department of Enviromental protection, Higher Institute for Environmental Research. Tishreen University, Syria.

[32] Akeed, Y. Atrash, F. Naffaa, W. (2020). *Partial purification and characterization of chitinase produced by Bacillus licheniformis B307.* Heliyon. 6(5).e03858.