عزل وتوصيف سلالات محلية من بكتيريا باسيلاس ثورينجينسيس ضد البعوض الناقل لحمّى الضنك أيديس أجبتاي

إعداد الطالب
جهاد أحمد محمد دين

تحت اشراف
د. محمد حسين فقيه **د. ناصر أحمد الكناني**

المستخلص

تنتمي بكتيريا (Bt) *Bacillus thuringiensis* إلى المجموعة الموجبة لصبغة جرام وهي عصوية الشكل وتتميز بقدرتها على إنتاج بروتينات كريستالية خلال عملية التجرثم ذات خصائص قاتلة للحشرات وتسمى δ-endotoxin. تعتبر البروتينات الكريستالية أو كما تسمى اختصاراً Cry proteins سامة لطائفة واسعة من الحشرات مثل حشرات حرشفية الأجنحة، الخنافس، البعوض وغيرها. ربما أهم ما يميز هذه البروتينات أنها آمنة للبيئة بالإضافة إلى فعاليتها وتخصصها العالي في قتل حشرات بعينها وهو ما جعلها تستخدم بشكل ناجح لمكافحة الحشرات خلال الست العقود الماضية. من المعلوم أن الظروف البيئية لمناطق العالم تختلف بشكل كبير وهو ما شجعنا كباحثين لإيجاد سلالات من بكتيريا *Bacillus thuringiensis* منتجة لأنواع جديدة من البروتينات الكريستالية ذات خواص مميزة. في هذا المقترح البحثي نهدف الى عزل وتوصيف سلالات Bt محلية ذات نشاطات قاتلة للبعوض مقارنة بالسلالات المتوفرة حالياً. تم جمع عينات تربة من مناطق مختلفة من المملكة العربية السعودية وتم عزل سلالات Bt وذلك باستخدام وسط انتقائي لأسيتيت الصوديوم وطريقة المعالجة الحرارية. من بين (85) عينة تم معالجتها واختبارها تم فصل 3 عزلات Bt. أظهرت اختبارات الكيمياء الحيوية والتحليل المعتمد على فك شفرة الجين ١٦s DNA أن العزلات الثلاثة تنتمي لـ *Bacillus thuringiensis*. وأكثر من ذلك، أظهرت الفحوصات تحت المجهر الضوئي أن البروتينات الكريستالية موجودة في جميع العزلات الثلاث، وأن لها أثر قاتل ليرقات بعوض *Aedes aegypti*.

Isolation and characterization of Indigenous *Bacillus thuringiensis* Strains for the bio-control of Dengue fever Mosquito *Aedes aegypti*

By

Jihad Ahmad Mohamad Din

Main Supervisor **Co- Supervisor**

Dr. Mohammad H. Fakieh **Dr. Naser A. Alkenani**

ABSTRACT

Bacillus thuringiensis (Bt) is a rod-shaped, Gram positive bacterium that produces insecticidal crystal proteins also known as δ-endotoxin during sporulation. Crystal proteins or Cry proteins are toxic to a wide range of insect pests such as lepidopteran insects, beetles and mosquitoes etc. Due to their high specificity, efficacy and safety, these Cry proteins have been successfully used as a biopesticide to control various insect pests for the last six decades. Significance of the Cry proteins has motivated the search for new strains of *Bacillus thuringiensis* from diverse habitats around the globe to identify new crystal proteins with unique target species. Our goal of the proposed project was to isolate and characterize the new endogenous Bt strains producing crystal protein with more potent mosquitocidal activity as compared to the currently available Bt strains, from different regions of Saudi Arabia. Soil samples were collected from various regions of Saudi Arabia and isolation of Bt strains was carried out using the selective sodium acetate medium and heat treatment method. Around 85 soil samples were processed and screened which resulted in the isolation of 3 Bt isolates. Biochemical tests and phylogenetic analysis based on 16S DNA gene sequencing revealed that the three bacterial isolates were *Bacillus thuringiensis* strains. A crystal-spore differential staining revealed the expression of crystal proteins in all the three new endogenous Bt isolates during the sporulation phase. Spore-crystal protein mixture of all the three Bt isolate was shown to possess insecticidal activity against the larvae of *Aedes aegypti*. Moreover, tests under light microscopy showed that crystal proteins are present in all three isolates and have a fatal effect on the *Aedes aegypti* mosquito larvae.