

الملخص العربي

يعتبر الأساس الرئيسي لتعريف الأسبرجيللاس هي الصفات الشكلية كالشكل ولون رؤوس الأبواغ وصفات الحامل الكونيدي ووجود metulae وخلايا Hull . ويعتبر الأسبرجيللاس هو الأكثر أهمية إقتصاديته بين الأجناس الفطرية. هناك العديد من أنواع الأسبرجيللاس بما فيها اسبرجيللاس نيدبولانس له طور جنسي (فمثلا إميريسيللا تنتج جراثيم اسكويه). خلافا لبعض أنواع الأسبرجيللاس الاخرى التي لا تكون اعضاء جنسية محددته كما في أنواع داخل جنس إميريسيللا.

تهتم الدراسة الحاليه بتحليل النشأة والتطور لمجموعة الاسبرجيللاس نيدبولانس ويمكن تلخيص النتائج كما يلي:

١- تم عزل ثمانية عزلات من مواقع مختلفه بمحافظة الفيوم تنتمي لجنس اسبرجيللاس وهي (اسبرجيللاس ايجيبتياكس AUMC 3603 و اسبرجيللاس ايجيبتياكس AUMC 6122 وإميريسيللا نيدبولانس و إميريسيللا فاريكولور و إميريسيللا روجبولوزا) ؛ باستخدام طريقة تخفيف الاطباق .

٢- فحصت الخصائص الشكلية والمزرعية للعزلات لإختيار الفطريات المطلوبة (نوع الاسبرجيللاس). بعد ذلك أرسلنا الفطريات المعزوله إلي AUMC وذلك لضمان تعريفهم وأخذوا الأرقام التعريفية التاليه : إميريسيللا نيدبولانس ١٥٢ و عزلتين من اسبرجيللاس ايجيبتياكس ٣٦٠٣ & ٦١٢٢ و إميريسيللا روجبولوزا ١٦٤ و إميريسيللا فاريكولور ١٦٥ .

٣- كان أفضل نمو للميسليوم الخاص الاسبرجيللاس علي الوسط السائل Czapek's-Dox مزودا بواحد جرام/ لتر مستخلص خميره لمدة اسبوع واحد في الظلام عند درجة حراره ٢٨ مئوية. بينما في غياب مستخلص الخميره فشلت الفطريات في النمو حتي بعد اسبوعين من التحضين تحت نفس الظروف.

٤- تم استخلاص كميات كبيره من الحمض النووي DNA عالية الوزن الجزيئي لعزلات الاسبرجيللاس الخمس. وقد ظهرت اشرة الحمض النووي واضحه وكثيفه وحاده باستخدام طريقة CTAB.

٥- وباستخدام تحليل RAPD لدراسة التعدد الشكلي لجميع العزلات من خلال ست بادئات عشوائيه (A₁, A₂, A₃, B₁, B₂, B₄) سجلت الست بادئات العشوائيه اختلافات بين العزلات. وقد كان العدد الكلي للأشرطة ١٤٢ لكل البادئات الست؛ أعطت البادئه A₁ أعلى رقم من الأشرطة وهو ٣٢ بينما أن أقل عدد من الأشرطة (١٨) حصلنا عليه بواسطة البادئه B₂. بإختلاف البادئات أختلف حجم الأشرطة المكبره. حيث كان أكبر شريط ٣٠٠٠ زوج قواعد والذي تضخم بواسطة البادئه B₄ في العزله رقم ٢ (إميرسيلا فاريوكولور) بينما اصغر شريط (١٠٠ زوج قواعد) تضخم بواسطة البادئه B₁ في العزله رقم ٣ (اميرسيلا روجيولوزا).

٦- بإستخدام برنامج UPGMA حددنا درجة التشابه وأنشأنا الدندوجرام لعزلات الاسبرجلس الخمس ومنها تجمعت عزلات الاسبرجللاس في مجموعتين اساسيتين (مجموعه ١ و مجموعه ٢)؛ مجموعه ٢ تحتوي علي الاسبرجلس ايجيبتيكس 3603 (AUMC) فقط بينما مجموعه ١ تنقسم الي مجموعتين تحتيتين (مجموعه أ ومجموعه ب)؛مجموعه أ تحتوي إميرسيلا نيديولانس وإميرسيلا روجيولوزا في حين ان مجموعه ب بها إميرسيلا فاريكولور.

٧- النتيجة التي حصلنا عليها بواسطة التسلسل الجزيئي لمنطقة ITS جين أظهرت شريط فريد في المدى ٢٤٠-٢٥٠ في المجموعتين (مجموعة فطرة الاسبيرجيللاس نيديولانس ومجموعة فطرة الاسبيرجيللاس فيرسيكولور في منطقة ال ITS₁ و ٣٢٠-٣٥٠ في المنطقة ال ITS₂).

٨- بإجراء تنقية وتسلسل لنواتج ال PCR للعزلات تحت الدراسة في وحدة محلل الجينات CLINILAB (الوان)،الماضي ، مصر. حصلنا علي تسلسل الحمض النووي بإستخدام ABI PRISM 310 ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle sequence. كما استخدمت برنامج بلاست (www.ncbi.nlm.gov/blast) لتقييم أوجه التشابه لتسلسل هذه العزلات وسجلت في بنك الجينات كما اخذت أرقام إنضمام.

٩- إعتادا علي طول ITS_١ أمكن تقسيم الانواع الثمانية للاسبرجيللاس إلي مجموعتين عند القيمة ١,٢ تتكون المجموعه الاولى من إميريسيلا نيدبولانس و إميريسيلا فاريكولور و إميريسيلا روجبولوزا حيث شملت تحت المجموعه التي تتكون من إميريسيلا نيدبولانس و إميريسيلا فاريكولور عند القيمة 0.5 بينما شملت المجموعه الثانيه عند القيمة ٢,٤ العزلات المختلفه للاسبرجيللاس ايجيبتياكس (AUMC 3603 و AUMC 6122) واسبيرجيللاس شيديوى واسبيرجيللاس فيرسيكولور واسبيرجيللاس كاسبييتيس وايضا لوحظ تحت المجموعه تتكون من العزلات المختلفه للاسبرجيللاس ايجيبتياكس (AUMC 3603 و AUMC 6122) واسبيرجيللاس شيديوى واسبيرجيللاس فيرسيكولور عند القيمة ١,٧ من كشف تصور علاقته الوراثيه بين انواع الاسبرجيللاس عن التشابهه الكبير بين إميريسيلا نيدبولانس و إميريسيلا فاريكولور و إميريسيلا روجبولوزا وإرتباطهما الوثيق في النشو والتطور وايضا لوحظ التشابه والارتباط الوثيق بين العزليتين لفطر الاسبيرجيللاس ايجيبتياكس (AUMC 3603&6122) مع واسبيرجيللاس شيديوى واسبيرجيللاس فيرسيكولور.

٩- بناء علي ITS₂ طول التسلسلات أمكن تقسيم الخمس عزلات من الاسبرجيللاس إلي مجموعتين. المجموعه الاولى عند القيمة ٠,٥٨ تتكون إميريسيلا نيدبولانس و إميريسيلا فاريكولور و إميريسيلا روجبولوزا وعزلة من الاسبيرجيللاس ايجيبتياكس (AUMC 3603) حيث ايضا شملت تحت المجموعه إميريسيلا نيدبولانس و إميريسيلا فاريكولور وإميريسيلا روجبولوزا والاسبيرجيللاس عند القيمة ٢,٥ . بينما شملت المجموعه الثانيه عند القيمة ٠,٧ علي عزله واحده فقط من الاسبيرجيللاس ايجيبتياكس (AUMC 6122). برسم علاقته الوراثيه بين أنواع الاسبيرجيللاس تحت الدراسة اتضح ان التشابه الاكبر يوجد بين إميريسيلا نيدبولانس و إميريسيلا فاريكولور وإميريسيلا روجبولوزا والاسبيرجيللاس ايجيبتياكس (AUMC 3603)، وان الارتباط وثيق بينهما في النشو والتطور.