**الخلاصة**

تم توصيف عزلات الفطر *Alternaria* *alternata* التي لها القدرة على انتاج سم الالترناريول Alternariol (AOH) مظهرياً باعتماد الصفات المظهرية والمجهرية, وجزيئياً باستخدام تقنية البلمرة وتقنية تتابع الدنا DNA Sequencing, وتحديد نسبة تردد وظهور هذا الفطر خلال عملية العزل الاولي من ثمار نبات الطماطة المصابة. وتم تحديد الجين المسؤول عن انتاج سم الالترناريول AOH باستخدام بادئ متخصص .

وتضمنت الدراسة استخلاص سم AOH والكشف عنة باستخدام كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة(TLC) Thin Layer Chromotographyوجهاز سائل الكروموتوغرافيا عالي الكفاءة High performance liquid chromatography (HPLC). ودراسة تاثير الظروف البيئية المختلفة (درجة الحرارة, دالة الحموضة, نوع الوسط الزرعي, الضوء والظلام ) في نمو الفطر*A. alternata* وانتاج السم .AOH

وتم حساب الجرعة القاتلة لنصف الجماعة السكانية لسم AOH وتاثيراته الوراثية الخلوية في خلايا نقي عظم ذكور الفئران والتي شملت حساب معامل الانقسام الخلوي والانحرافات الكروموسومية ومعامل تكون الانوية الصغيرة.

اوضحت النتائج انتشار الفطر *A. alternata* بشكل واسع في محافظة كربلاء اذ تم الحصول على 23 عزلة انطبقت عليها الصفات المظهرية للفطر *A. alternata* وبنسبة تردد بلغت 38% وونسبة ظهور 21.5%. وبينت نتائج التشخيص الجزيئي نجاح زوج البادئ AAR3 ,AAF2 في تشخيص الفطر *A. alternata* جزيئياً باستخدام تقنية البلمرة بوزن جزيئي 340bp اما نتائج تقنيةDNA Sequencing فقد اكدت نتائج التشخيص المظهري ونجاح زوج البادئ في التشخيص الجزيئي, وباستخدام موقع الــ NCBI BLAST تبين ان جميع العزلات كانت تعود للفطر *A. alternata* وان هناك مجموعتين مختلفتين وقد تطابقت عزلة المجموعة الاولى من ناحية البعد الوراثي بنسبة 100% مع العزلات الصينية وبنسبة 99% مع العزلات السعودية اما عزلة المجموعة الثانية فقد تطابقت بنسبة 100% مع عزلات تركية واخرى مكسيكية. وقسمت نتائج تحليل برنامج Mega 6 هذه العزلات على مجموعتين ضمت المجموعة الاولى العزلات (24 ,22, 20, 17, 16, 15, 14, 13, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 3, 1) فيما ضمت المجموعة الثانية العزلات 23, 21, 19, 18, 12, 4) ).

ونجح الزوج البادئي *لجينpksJ* في الكشف عن الجين المسؤول عن انتاج سم الالترناريول على وزن جزيئي 514bp .

واوضحت النتائج ان معامل سريان سمAOH بلغ 0.43 باستخدام مذيب الميثانول والطور المتحرك tuleun : athylacetate : formic acid وبنسبة 6 : 3 : 1 وقد تطابق السم المستخلص في الدراسة مع السم القياسي حسب قراءة جهاز سائل الكروموتوغرافي عالي الكفاءة HPLC.

واثرت الظروف البيئية المختلفة على نمو الفطر *A. alternata* وانتاجه السم AOH فقد حققت درجة الحرارة 25 مº افضل حالة نمو للفطر بلغ فيها قطر المستعمرة 8.2 سم لمدة حضن بلغت 7 ايام متفوقة معنوياً على بقية الدرجات الحرارية الاخرى 35 ,30 ,20فيما انخفض معدل النمو بارتفاع وانخفاض درجة الحرارة وصولاً الى 2.1 سم عند درجة 35 مº. وحققت الدرجة 30 مº اعلى كمية انتاج للسم بلغت 141.1 مايكروغرام/مل فيما بلغ اقل كمية انتاج 74.5 مايكروغرام/مل عند 35 مº.

وتفوق الرقم الهيدروجيني 6 معنوياً على بقية معاملاته 8, 7, 5 اذ حقق افضل حالة نمو للفطر *A. alternata* بلغت 8.5 سم وانخفض معدل النمو لقيم pH الاخرى وصل الى اقل معدل نمو بلغ 4.3 عند pH يساوي 8 كذلك تأثرت كمية انتاج السم بعامل الحموضة وحقق الرقم الهيدروجيني 6 اعلى كمية بلغت 116.1 مايكروغرام/مل وبفارق معنوي عن بقية المعاملات وصولاً الى اقل كمية انتاج 57.8 عند pHيساوي 8. كما واثر نوع الوسط الزرعي على نمو الفطر وانتاجه سمAOH حيث حقق وسطPSA افضل حالة نمو بلغت 8.2 سم واعلى كمية انتاج بلغت 112.8 مايكوغرام/مل وبفارق معنوي عن معاملة عن بقية الاوساط الاخرى.

وحققت معاملة الظلام تفوقاً معنوياً على معاملة الضوء لمعدل النمو اذا بلغ قطر المستعمرة 8.2 سم للظلام و6.5 سم للضوء وحققت ظروف الظلام اعلى كمية انتاج لسم AOH بلغت 182.8 مايكروغرام/مل وبفارق معنوي كبير عن معاملة الضوء التي بلغ فيها معدل الانتاج 74.5 مايكروغرام/مل.

واظهرت النتائج ان الجرعة 368 مليغرام/ كغم لسمAOH كانت الجرعة القاتلة لنصف الجماعة السكانية للفئران واثر هذا السم في مختلف المعايير الوراثية الخلوية لخلايا نقي عظم ذكور الفئران , اذ انخفض معامل الانقسام الخلوي وبفارق معنوي مع زيادة تركيز الجرعة مقارنةً بمعاملة السيطرة البالغ قيمته فيها %14.2 حيث انخفضت هذه القيمة لتصل الى %2.1 عند الجرعة 80 مليغرام/كغم. وسبب السم ظهور انواع مختلفة من الانحرافات الكروموسومية ازدادت معدلاتها وبفارق معنوي مع زيادة تركيز الجرعة اذ حققت الجرعة 80مليغرام/كغم اعلى نسبة انحرافات بلغت 3.55% مقارنة بمعاملة السيطرة%0.10 . وازداد معامل تكون الانوية الصغيرة وبفارق معنوي ايضاً لجميع المعاملات اذ بلغ مع الجرعة 80 مليغرام/كغم 16.2 مقارنة بمعاملة السيطرة البالغة 3.7.