

نام دانشگاه:	دانشگاه تربیت مدرس
عنوان پایان نامه:	شناسایی آسپرژیلوس های موجود در هوای مناطق تهران با استفاده از ویژگیهای مورفولوژیک و تکنیک ملکولی RFLP
نام استاد/ اساتید راهنما/ مشاور:	استاد راهنما: دکتر معصومه شمش قهفرخی استاد مشاور: دکتر مهدی رزاقی ایبانه
نام دانشجو:	ساناز آقائی قره بلاغ
تاریخ دفاع:	۹۱/۱۱/۱۷
مقطع تحصیلی:	کارشناسی ارشد
پست الکترونیکی:	Sanaza97@gmail.com
شماره تماس:	09143233400

مقدمه:

گونه های آسپرژیلوس جزو آن دسته از قارچ ها هستند که به طور گسترده ای قادر به توزیع مقادیر زیادی از اسپورهای هوابرد در محیط می باشند. گونه های متعددی متعلق به جنس آسپرژیلوس به عنوان عوامل پاتوژن بیماری های انسانی توصیف شده است.

اسپورهای آسپرژیلوس، جزو آلاینده های استنشاقی رایج می باشند که در ایجاد انواع مختلف آسپرژیلوزیس مانند عفونتهای بینی-ارینی، آسپرژیلوزیس برونشی ریوی آلرژیک، اسپرژیلومای ریوی و آسپرژیلوزیس مهاجم نقش مهمی را ایفا می کنند. از آنجائی که شناسایی این جنس در سطح گونه از نظر پراکندگی و میزان شیوع گونه های غالب حائز اهمیت است در این مطالعه با استفاده از تلفیق روش مورفولوژیک، تعیین توالی نواحی ITS1/ITS4 و تکنیک ملکولی RFLP، گونه های آسپرژیلوس موجود در هوای مناطق ۲۲ گانه تهران شناسایی گردیدند.

مواد و روش ها:

نمونه برداری از هوای تهران به روش پلیت باز انجام گرفت و از نظر میکروسکوپی و ماکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت سپس استخراج DNA و به دنبال آن با استفاده از پرایمرهای ITS1/ITS4 PCR انجام شد و محصول بدست آمده تحت تاثیر آنزیم های برش دهنده EcoR1 و Taq1 قرار گرفت.

نتایج:

شایعترین عوامل قارچی جدا شده به ترتیب فراوانی شان متعلق به جنس های : آسپرژیلوس (۳۱/۳٪)، کلادوسپوریوم (۲۲/۱٪)، پنی سیلیوم (۱۳/۸٪) و آلترناریا (۱۲/۲٪) بودند. با استفاده از تلفیق روش های مورفولوژیک و تعیین توالی نواحی ITS1/ITS4، مشاهده شد که آسپرژیلوس های جداسازی شده متعلق به ۱۲ گونه شامل آسپرژیلوس نیجر (۳۰٪)، آسپرژیلوس فلاووس (۱۹/۱٪)، آسپرژیلوس ژاپونیکوس (۱۱/۸٪)، آسپرژیلوس توینجنسیس (۱۷٪)، آسپرژیلوس آمستلودامی (۵/۳٪)، آسپرژیلوس اوریزه ای (۵/۲٪)، آسپرژیلوس فومیگاتوس (۴/۶٪)، آسپرژیلوس اخراستوس (۳/۳٪)، آسپرژیلوس ترئوس (۲/۶٪)، آسپرژیلوس فلاویپس (۲/۶٪)، آسپرژیلوس ورسیکالر (۲٪) و آسپرژیلوس نیدولانس (۱/۶٪) بودند. الگوی قطعات حاصل از اثر آنزیم EcoR1 در تمامی گونه ها مشابه بوده و ایجاد قطعه ۳۰۰ جفت بازی می کند همچنین مشاهده شد که الگوی قطعات حاصل از اثر آنزیم Taq1 در گونه های ترئوس، فلاووس، آمستلودامی، توینجنسیس، نیجر، ورسیکالر و اوریزه ای بسیار مشابه می باشد و تمامی گونه های مذکور قطعات سه باندی حدود ۶۰ جفت باز، ۱۶۰ جفت باز و ۲۱۰ جفت بازی تولید می کنند در حالیکه الگوی قطعات حاصل از اثر آنزیم Taq1 در سایر گونه ها متفاوت می باشد بطوریکه در آسپرژیلوس فلاویپس ۴ قطعه با اندازه های حدود ۶۰، ۹۰، ۱۵۰ و ۱۹۰ جفت باز، در آسپرژیلوس اخراستوس ۲ قطعه با اندازه های حدود ۶۰ و ۱۸۰ جفت باز، در آسپرژیلوس ژاپونیکوس سه قطعه با اندازه های حدود ۶۰، ۱۲۰ و ۲۲۰ جفت باز، در آسپرژیلوس نیدولانس سه قطعه با اندازه های حدود ۶۰، ۱۸۰ و ۲۰۰ جفت باز و در آسپرژیلوس فومیگاتوس دو قطعه با اندازه های حدود ۸۰ و ۱۴۰ جفت باز ایجاد گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که آنزیم Taq1 با ایجاد ۶ الگوی باندی متفاوت منجر به افتراق ۵ گونه آسپرژیلوس فلاویپس، آسپرژیلوس اخراستوس، آسپرژیلوس ژاپونیکوس، آسپرژیلوس نیدولانس و آسپرژیلوس فومیگاتوس از یکدیگر و سایر گونه ها می گردد.

بحث:

با توجه به نقش بارز آسپرژیلوسها در ایجاد انواع بیماریها نظیر آسپرژیلوزیس مهاجم، آسپرژیلوما و...، شناسایی پراکندگی و شیوع گونه های غالب، حائز اهمیت است و راه اندازی یک سیستم تشخیص ملکولی بر اساس تکنیکهایی نظیر تعیین توالی نوکلئوتیدی نظیر ناحیه ITS1/4 و RFLP، اطلاعات جامعی در خصوص تعیین الگوی جمعیتی این جنس قرار می دهد که می تواند در برنامه ریزیهای موثر با هدف جلوگیری و کنترل عفونتهای ناشی از گونه های آسپرژیلوس راهگشا باشد.

کلمات کلیدی:

گونه های آسپرژیلوس، شناسایی مورفولوژیک، تعیین توالی، تکنیک ملکولی RFLP.