جامعة الزقازيق (فرع بنها)
كلية زراعة مشتهر
قسم النبات الزراعى (وراثة)

صفحة الموافقة على الرسالة

دراسات وراثية على استخدام سكر الزيلوز بواسطة الخميرة

رسالة مقدمة من

أمال محمد عباس

بكالوريوس في العلوم الزراعية-(وراثة) كلية الزراعة - جامعة عين شمس ١٩٧٨
ماجستير فى العلوم الزراعية-(وراثة) كلية الزراعة بمشتهر-جامعة الزقازيق ١٩٩٤

و قد تمت الموافقة على هذه الرسالة للحصول على درجة الدكتوراه في العلوم الزراعية (وراثة) من قبل كل من:

أ.د./ عبد الفتاح عرفة طايل : .....
أستاذ الوراثة، كلية الزراعة
جامعة عين شمس

أ.د./ حسين رشدى نظيم : .....
أستاذ الوراثة و تربية النبات،
كلية زراعة مشتهر ،جامعة الزقازيق (فرع بنها)

أ.د./ عبد الوهاب محمد حسن : .....
أستاذ الوراثة و تربية النبات
رئيس قسم النبات الزراعى،
كلية الزراعة بمشتهر ،
جامعة الزقازيق (فرع بنها)

أ.د./ محمد سراج الدين عبد الصبور : .....
أستاذ الوراثة، كلية الزراعة بمشتهر،
جامعة الزقازيق (فرع بنها)

التاريخ:٧/ ٩/ ٢٠٠٠ **(اللجنة المسئولة)**

الملخص العربى

ترجع أهمية دراسة تخمر السكريات الخماسية بواسطة الخميرة الى ما يمكن الوصول إليه من الحصول على مصدر للطاقة النظيفة من جهة و كذلك التخلص من النفايات لتقليل تلوث البيئة بها من جهة أخرى حيث أن سكر الزيلوز الخماسى هو السكر الذى ينتج من تحليل مادة الهيميسليلوز الموجودة فى كثير من النفايات كنشارة الخشب و قش الأرز و غيره من البقايا النباتية.

و تهدف الدراسة الى الحصول على الخمائر التى لها القدرة على تخمير سكر الزيلوز و إنتاج الكحول الايثيلى منه ثم محاولة نقل العوامل الوراثية المتحكمة فى إنتاج الإنزيمات المشتركة فى هذه العملية الى خميرة الخباز (سكارومايسيس سيرفيسى) المعروفة بقدرتها على إنتاج الكحول من السكريات السداسية بهدف الحصول على سلالة منها يمكنها إنتاج الكحول من الزيلوز. و لتحقيق هذا الهدف تم إجراء العديد من تجارب استحداث الطفرات المصحوبة بالانتخاب بالإضافة الى الحصول على تراكيب وراثية جديدة عن طريق الدمج البروتوبلاستى (الدمج الخلوى) و يمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فيما يلى:

١. أمكن الحصول على سلالة خميرة تنتمى لعائلة سكارومايسيس *Saccharomyces* من جنس البيتشيا *Pichia* تبين انه يمكنها استخدام سكر الزيلوز و إنتاج الإيثانول هى السلالة *Pichia stipitis* .

٢. أدى استخدام الأشعة فوق البنفسجية بجرعات مختلفة لسلالة ال *Pichia stipitis* الى الحصول على بعض طافرات العوز الغذائى و تم اختبار كفاءتها لاستهلاك سكر الزيلوز الخماسى و اختيار انسبهما لإدخالها فى تجارب الدمج البروتوبلاستى مع السلالات المختارة من السكارومبسيس سيرفيسى من جنس السكارومايسيس *Saccharomyces* و من هذه الطافرات المختارة طفرة العوز الغذائى (٧٣) لكل

من الحمض الامينى الليوسين و الهستيدين و السيستين و طفـــرة العـــوز الغذائـــى (١٧١) للهستيدين.

٣.تم إجراء أربعة محاولات لدمج البروتوبلاست و ذلك لكل من سلالة السكارومبسيس سيرفيسى (S. c. GT 160-34 B)مع طفرة العوز ٧٣ (M1) و المحاولة الثانيـة بين السكارومبسيس سيرفيسى (S. c. GT 160-34 B) مع طفـــرة العـــوز ١٧١ (M2) و المحاولة الثالثة بين السكارومبسيس سيرفيسى (S. c. XJ 133-1 B) مـع طفرة العوز ٧٣ (M1) و المحاولة الرابعة بين السكارومبسيس سيرفيســى (S. c. XJ 133-1 B) مع طفرة العوز ١٧١ (M2) .

و قد تم إنمائهم على بيئتين مختلفتين (Minimal media) إحداهما تحتوى على السكر الكحولى (الجليسرول) مع السكر الخماسى الزيلوز و البيئة الأخرى تحتوى على السكر الكحولى السوربيتول مع سكر الزيلوز و ذلك فى محاولة للوصول الى افضـــل النتائج.

٤.آدت النتائج الى إمكانية عزل ٩١ متحولة وراثيا من السكارومبســـيس سيرفيســـى (Fusants) باستخدام هذا الدمج الخلوى (البروتوبلاستات) كمستقبلات و قد كـــانت مستعمرات هذه المتحولات الوراثية اكبر حجما من الآباء الأصلية.

٥.أظهرت الاختبارات قدرة هذه المتحولات الوراثية من ســـلالات السكارومبســـيس سيرفيسى على تمثيل سكر الزيلوز بكفاءة عالية.

٦.أمكن عن طريق جهاز الريفراكتوميتر اختبـــار مقـــدرة ال ٩١ متحولـــة وراثيـــا (Fusants)على استهلاك سكر الزيلوز و انتخاب أفضلها استهلاكا لهذا الســـكر و ذلك لإدخالها فى تجارب إنتاج الإيثانول.

٧.تم اختيار ١٧ متحولة وراثية من ال ٩١ متحولة (Fusants) أثبتـــت تفوقـــا فـــى استهلاك سكر الزيلوز الخماسى و إدخالها بجانب الآباء الأصلية فى تجارب مقارنة لانتاج الإيثانول.

٨.أظهرت بعض المتحولات الوراثية لانتاج الإيثانول –تفوقا إنتاجيا بالمقارنة بالآبـــاء الأصلية من السكارومبسيس سيرفيسى التى ليس لها القدرة علـــى اســـتخدام ســـكر

الزيلوز و بالتالى ليس لها المقدرة على إنتاج الإيثانول و عند المقارنة بين هذه المتحولات و بين الأب *Pichia stipitis* و الطفرتين الناشئتين عند M1, M2 أظهرت أيضا بعض المتحولات تفوقا على هذه الآباء فى إنتاج الإيثانول. و تبشر هذه الدراسة بإمكانية إدخال نظام الدمج الخلوى باعتبارها إحدى الطرق التى ينشأ عنها تراكيب وراثية غير موجودة فى الآباء و ذلك فى برامج التربية و الانتخاب للسلالات الأفضل إنتاجا. حيث ان هذه الطريقة يمكن من خلالها إنتاج سلالات ثابتة وراثيا – تدوم إذا ما تم المحافظة عليها.

٩. أيضا تم دراسة السلوك الوراثى او مقدرة هذه المتحولات الوراثية السبعة عشر و آباءهم على النمو و ذلك على مصادر كربونية مختلفة و هى الجلوكوز و السيلوبيوز و النشا و اللاكتوز و الرافينوز لمعرفة السلوك الوراثى الجديد لكل منهم و الوقوف على الصفات الجديدة التى اكتسبتها هذه المتحولات نتيجة إدخال نظام الدمج البروتوبلاستى (الدمج الخلوى) و مقارنتها بالسلوك الوراثى لاباءها الأصلية من خلال مقدرتها او عدم مقدرتها على النمو على مثل هذه المصادر الكربونية المختلفة.

و قد أوضحت النتائج أن المتحولات الوراثية الناتجة من الدمج الخلوى بين سلالات ال *Saccharomyces cerevisiae* و سلالة ال *Pichia stipitis* عندما تم إنمائها على سكر الجلوكوز أعطت نتائج جيدة – وعندما تم إنمائها على النشا لم يمكنها استخدامه وبالتالى لم تتمكن من النمو لافتقادها للجينات الخاصة بإنزيم الاميليز الذى يحلل النشا مما يقربها من الناحية الوراثية للأب *Saccharomyces cerevisiae* الذى يفتقد لهذه الجينات. أيضا لم تتمكن المتحولات الوراثية من استخدام سكر اللاكتوز كالأب *Saccharomyces cerevisiae* فيما عدا اثنين من المتحولات الوراثية باللاضافة الى M2 (١٧١) استطاعت النمو بشكل طبيعى.

أيضا عند إستخدام سكر الرافينوز لم تتمكن جميع المتحولات الوراثية و آبائها من استخدامه – أما مع سكر السيلوبيوز فلقد استطاعت جميع المتحولات الوراثية

بالإضافة الى الأب *Pichia stipitis* استخدام هذا السكر و النمو جيدا فيما عدا ال *Saccharomyces cerevisiae* لم يمكنها النمو على سكر السيلوبيوز .

هذه النتيجة ربما تشير الى أن الصفات الوراثية للأب *Pichia stipitis* المسئولة عن استخدام هذا السكر ربما نقلت الى الأبناء (المتحولات الوراثية) خلال عملية الدمج الخلوى.

و بذلك تكون الدراسة قد أظهرت إمكان الاستفادة من المخلفات السليلوزية لإنتاج مصدر للطاقة و هذا أمر يجعل من الممكن الاستفادة من السلالات المتحصل عليها تجاريا و هو الهدف من إجراء هذا البحث.

دراسات وراثية على استخدام سكر الزيلوز بواسطة الخميرة

رسالة مقدمة من

أمال محمد عباس

بكالوريوس في العلوم الزراعية-(وراثة) كلية الزراعة - جامعة عين شمس ١٩٧٨

ماجستير فى العلوم الزراعية-(وراثة) كلية الزراعة بمشتهر-جامعة الزقازيق ١٩٩٤

و ذلك كجزء من المتطلبات للحصول على درجة

الدكتوراه في العلوم الزراعية

(وراثة)

قسم النبات الزراعى

تحت إشراف

أ.د./ محمد سراج الدين عبد الصبور
أستاذ الوراثة
كلية الزراعة بمشتهر

أ.د./ عبد الوهاب محمد حسن
أستاذ الوراثة و تربية النبات
رئيس قسم النبات الزراعى،
كلية الزراعة بمشتهر

أ.د./ عمر الجبالى
أستاذ الوراثة الميكروبية، قسم الوراثة الميكروبية،
المركز القومى للبحوث

كلية الزراعة بمشتهر

جامعة الزقازيق-فرع بنها

٢٠٠٠