تأثير الاشعة فوق البنفسجية في حيوية ابواغ الفطر *Aspergillus niger* Van Tieghem

هدى عباس محمد مخيف الجرياوي زيدان خليف عمران المعموري

جامعة بابل / كلية العلوم للبنات

zaidan_omran@yahoo.com

الخلاصة

أجريت في هذه الدراسة معاملة النوع *Aspergillus niger* بالاشعة فوق البنفسجية, حيث أظهرت النتائج إن أفضل جرع من الاشعة فوق البنفسجية مقاسة بزمن التعريض exposure time (80 دقيقة) كانت أكثر فعالية في تطفير العزلة المنتخبة من هذا الفطر وعلى وسطي اكار مستخلص الشعير واكار الزابك ، حيث كانت نسبة التطفير على وسطي مستخلص الشعير والزابك(73.62% و 100%) على التوالي ، على حين كان معدل عدد الابواغ في كلا الوسطين ($4x10^6$)، اما جرعة الاشعة (100 دقيقة) اكثر فعالية في قتل ابواغ الفطر حيث كانت نسبة القتل على وسط مستخلص الشعير والزابك (92.33% و 98.50%) على التوالي، وأثرت الاشعة فوق البنفسجية في اختزال معدل عدد الابواغ في مستعمرات الفطر *Asp.niger* التي تطورت من ابواغ قد عرضت الى مصدر التشعيع . فقد أختزل معدل عدد الابواغ في وسطي اكار الشعير والزابك ($4x10^6$ و$2x10^6$)على التوالي بالمقارنة مع معاملة السيطرة التي أظهرت معدل عدد الابواغ على الوسطين اكار مستخلص الشعير واكار الزابك ($3x10^7$ و$2x10^7$)على التوالي وأظهرت النتائج أن أعلى نسبة تطفير لفطر *Asp. niger* بالاشعة فوق البنفسجية بلغت (100%) على وسط الزابك وبأوقات تعريض(60 و80 و100 دقيقة) على حين كانت أعلى نسبة تطفير على وسط مستخلص الشعير (73.62%) في وقت تعريض 80 دقيقة، اما أعلى نسبة قتل فكانت على وسطي الزابك ومستخلص الشعير(98.50% و92.33%) على التوالي لمدة تعريض (100 دقيقة) .

الكلمات المفتاحية : Aspergillus niger ,Van Tieghem

Abstract

The results of this experiment has affected exposure time of ulta- violat light on isolate on Meal extract agar and Czapek's Dox agar that greatest activity in mutant of election isolates in exposure time (80min.)that the mutation percentage on Meal exract agar and Czapek's Dox agar (73.62% and 100% respectively), while the averge of spores in both media($4x10^6$), while final exposure time (100min.) that greatest activity to kill fungal units(spores) on Meal extact agar and Czapek's Dox agar that the kill rate (92.33% and 98.50% respectively) and ultra violet affected to lower Average spores of colonies of *Asp.niger* that development from spores that exposure to u.v.

The Averge of spores was reduced in Czapek's Dox agar and Meal extract agar($2x10^6$ and $4x10^6$ respectively) in contrast with control that the Averge spores on Meal extract agar and Czapek's Dox agar ($3x10^7$ and $2x10^7$ respectively).

Highest mutation percentage by ultra violat light in exposure time (60,80,100min.)related of *Asp.niger* (100%),while higher mutation percentage on Meal extract agar (73.62%)in exposure time 80min.while higher kill rate on Meal extract agar and Czapek's Dox agar (92.33% and 98.50% respectively) onexposure time 100min.

Key words: Aspergillus niger ,Van Tieghem

المقدمة Introduction

هناك العديد من الفطريات الانتهازية Opportunistic fungi التي غالبا ما تسبب امراضاً فطرية في المرضى الذين يعانون من خلل في آليات دفاعهم الطبيعية(Ellis,2002) . وأن العديد من أنواع *Aspergillus* ترتبط باهتمامات طبية واقتصادية حيث ان أكثر هذه الانواع *Asp.niger* يسبب إصابة الأذن الوسطى ، وتتراوح العدوى من التهاب الاذن الخارجية والأذن الوسطى والاصابات الجلدية الى التقرحات ولذا يتعين السعي لاختزال جهد اللقاح الفطري في مختلف نشاطات الانسان (الطرفي،2002).

تعد العديد من الانواع الفطرية أنموذجاً جيداً لدراسة الجوانب الوراثية في الكائنات الحقيقية النواة لاسباب متعددة منها انها حقيقية النواة وذات دورة حياة قصيرة قد لاتتجاوز (3-7 أيام) وسهولة انتخاب الطفرات وتحديدها فضلاً عن كونها تظهر صفات واضحة وامكانية تنميتها على اوساط طبيعية او صناعية في المختبر بالمقارنة مع صعوبة التطبيقات الوراثية على الكائنات حقيقية النواة الاخرى كما في الحيوانات الكبيرة .وأن التطبيقات الوراثية في الفطريات هي أفضل من التطبيقات على البكتريا والفايروسات بدليل انه يمكن متابعة التغيرات الوراثية التي تقع في الفطريات بالعين المجردة او بالمجهر الضوئي او الاستدلال عليها فسلجياً وذلك يتناسب وحجم الفطريات بالمقارنة مع حجم البكتريا والفايروسات ، وتلعب الفطريات دوراً مهماً في موضوع الفطريات التطبيقي ولاسيما في انتاج المضادات الفطرية وتنقية الفطريات للملوثات في البيئة . وشرعت الدراسات الوراثية بدراسة الفطريات منذ الاربعينيات في القرن الماضي عندما تم التعامل مع دور وراثة الفطريات والتغيرات فيها وعلاقتها بالجوانب الايضية. وتُعدُّ الفطريات من اوسع الاحياء انتشاراً في الطبيعة اذ بلغ عدد الانواع المشخصة منها (80,000نوعاً) ويحتمل ان يزداد هذا الرقم حتى يصل الى (120,000 نوعاً) وهو عدد مضاعف بستة مرات عن عدد الانواع النباتية الزهرية(Webster & Weder, 2007). بين Kaberaوجماعته (2010) أن العزلات الطافرة من *Asp.niger* تكّون مستعمرات مختلفة مظهرياً وفسيولوجياًعن العزلات البرية وبالتالي تم إدراك أهمية الاحاطة الجيدة بالنظام الوراثي للفطريات من اجل تنفيذ برامج ناجحة وفعالة في احتواء تأثيرات الفطريات عن طريق الانتخاب والتربية كالطفرة (Mutation) واعادةالارتباط او التهجين(Recombination)وغيرهاعلى الصعيد التطبيقي(Agrios,2005). تلعب الأشعة فوق البنفسجية ultraviolet rays دور مهم في هلاك وتثبيط نمو وازدهار وتنوع الاحياء المجهرية في الطبيعة ومنها فطر *Asp. niger* خاصة تلك التي تنتشر في الجو وعلى سطوح المواد وهي اشعة كهرومغناطسية تنقل طاقتها بالفوتونات وتقاس بوحدات الجول Joule والارك Erg حيث تأين الذرات في الاطوال الموجية اقل من 200 نانومتر وتستحثها في الاطوال الموجية الاعلى من 200 نانومتر, ويتركز التأثير الحيوي للاشعة فوق البنفسجية في الحوامض النووية DNA و RNA التي تشكل المادة الوراثية الرئيسية للخلايا. ويحصل الضرر الخلوي نتيجة لتكوين مزدوجات بيريميدنية(Pyrimidine dimer) وبشكل خاص منها مزدوجات الثايمين(Thymine dimers) حيث تشكل أعلى نسبة من هذه المزدوجات (Setlow & Carrier,1966) ، حيث أن الاشعة فوق البنفسجية تؤدي الى إحداث تغيرات كرموسومية في شريط DNA وبالتالي تقود الى حدوث طفرات متنوعة التأثير في حياتية الفطر(Prakash *et al.*,2000).

تحدث الاشعة فوق البنفسجية تأثيرات حيوية مختلفة في الفطريات إعتماداً على أطوالها الموجية لذلك قسمت الى الاشعة البعيدة من الفوق بنفسجية وطول موجتها (200-320) نانوميتر وتكون أشد تأثيراً في تدمير خلايا الفطريات من الاشعة القريبة من الفوق البنفسجية وطول موجتها (320-400) نانوميتر (Eisenstark,1971). أوضح Grosch&Hopwood (1979) أن تأثيرات هذه الاشعة على الحامض النووي DNA يكون أكبر من تأثيرها على الحامض النووي RNA لكون DNA يشكل المادة الوراثية في الخلية ماعدا بعض العاثيات phages التي يشكل RNA المادة الوراثية الوحيدة لها، وتمتص الاشعة البعيدة من البنفسجية بشدة من قبل القواعد النتروجنية (البيورينpurine والبايريميدين pyrimidine) في DNA وتخضع البايريميدينات الى التحلل الضوئي بمعدلات أعلى من البيورينات حيث يكون الطول الموجي الاشد تأثيراً هو 254 نانوميتر لكونه يمتص كلياً من قبل DNA حيث يكون مقدار الطاقة المتجمعة في هذا الطول

الموجي أكثر، وتتكون مزدوجات البايريميدين في جزيئة DNA ،ذات الخيط المزدوج من بيريميدنين متجاورين ضمن الخيط الواحد وتكون هذه المزدوجات على ثلاث أنواع رئيسة ثايمين –ثايمين وثايمين – سايتوسين وسايتوسين-سايتوسين ، وأن أكثر النسب المتكونة من هذه المزدوجات هي مزدوجات الثايمين ومن ثم تودي الى عدم ارتباط جزيئات الثايمين بأواصر طبيعية ، ويتم إصلاح ضرر الاشعة فوق البنفسجية بإزالة المزدوجات المتكونة من الحامض النووي DNA بعمليات تصليح إنزيمية مختلفة (Setlow&Carrier,1964).

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

تحضير العالق البوغي:-

حضر عالق الابواغ الكونيدية من مزرعة حديثة عمرها 8 أيام مزروعة على وسط PDA منتخبة عشوائياً من مجموع291 عزلة فطرية معزولة سابقاً من غبار المكتبات ومخازن الكتب في جامعة بابل , ويتم التحضير بإضافة (20مل) من الماء المقطر المعقم وحبات قليلة من مسحوق الغسيل (التايت)المعقم بجهاز الفرن الحراري oven بدرجة حرارة 120 مْ لمدة 15 دقيقة الى الطبق لتقليل الشد السطحي وعدم تلاصق الابواغ ،ثم حصدت الكونيدات بواسطة قضيب زجاجي بشكل حرف (L) بعد تعقيمه بالكحول واللهب وبعد التبريد تم تحريك القضيب على سطح المزرعة وبجميع الاتجاهات لغرض حصاد اكبر كمية من كتلة الابواغ الكونيدية للفطر،ونقل العالق الى بيكر سعة (100 مل) , وكررت هذه الخطوة مرة ثانية , ووضع البيكر على جهاز Hotplate magnetic-stirrer وذلك لتكسير السلاسل الكونيدية ، بعد ذلك رشح العالق خلال قطن معقم للتخلص من الاجسام الثمرية Cleistothecia وقطع الغزل الفطري (Mycelial fragment)،ويمثل الراشح العالق الكونيدي غير المخفف أومايمثل التركيز(10^5) بعد حسابه في شريحة عد كريات الدم الحمراء Heamcytometer ، وهذا العالق يمكن استخدامه لتحضير تخافيف متسلسلة لاحقاً(المعموري,2010).

تطفير الفطر فيزياوياً:-

عرض العالق البوغي المحضر في الخطوة السابقة للاشعة فوق البنفسجية لخمس اوقات هي -80-60-40-20 100دقيقة باستخدام جهاز UV Transllluminator مع التحريك المستمر باستخدام مسخن حراري مغناطيسيHotplate Stirrer.وبين كل مدة تعريض يترك العالق الموجود في طبق بتري لمدة15 دقيقة وفي الظلام باستخدام السليفون واخذ في كل مرة (5 مل) من الطبق المعرض للتشعيع وحفضت في انبوب بلاستيكي بدرجة 4 مْ وعملت سلسلة تخافيف من 10^{-1}-10^{-2}-10^{-3}-10^{-4}- 10^{-5}-10^{-6} وتم حساب عدد الابواغ في كل تخفيف باستخدام شريحة Heamcytometer واخذ التخفيف الثاني ثم سحب منه (0.2 مل)وصب في طبق واضيف قطرة واحدة منTriton X-100 الى الطبق لغرض الحصول على مستعمرات فطرية متباعدة وصغيرة بالحجم وصب الوسط فوقه حيث استخدمت طريقة powering method وبواقع ثلاث مكررات لكل من وسطي اكار الزابك وأكار مستخلص الشعير(MEAوCZA) وحضنت الاطباق لمدة10 أيام (Nicholson&Fajardo-Cavazos,1997).

حساب نسبة التطفير Mutation Rate

تم حساب نسبة التطفير للعزلات الطافرة فيزياوياً u.v. على كل من وسطي اكار مستخلص الشعير والزابك حسب المعادلة الآتية :-

عدد المستعمرات

100× ١٥٦

نسبة التطفير%= _____

عدد المستعمرات الكلية

حساب نسبة القتل Fungicidal Rate

تم حساب نسبة القتل Fungicidal Rate للابواغ التي قتلت بفعل التطفير الفيزياوي على كل من وسطي اكار مستخلص الشعير والزابك حسب المعادلة الآتية :-

عدد المستعمرات في السيطرة – عدد المستعمرات الكلية بعد التطفير

نسبة القتل%= _____ ×100

عدد المستعمرات في السيطرة

حساب تراكيز الابواغ في المعاملات:-

تم اضافة (10 مل) من الماء المعقم المقطر لكل طبق مع اضافة ذرات من مسحوق الغسيل المعقم بجهاز oven عند درجة حرارة 120 مْ لمدة 30 دقيقة وتم تحريك المزرعة بواسطة قضيب زجاجي بشكل حرفL معقم بالكحول واللهب وبعد تبريده بالهواء حركت نسجة الغزول وتم ترشيح المحصود من الغزول الفطرية والابواغ الكونيدية عبرثلاث طبقات من القطن المعقم بجهاز autoclaveعند درجة حرارة 120 مْ لمدة 30 دقيقة في بيكر سعة (50 مل) .

ثم أخذت قطرة من الراشح البوغي ووضعت على شريحة العد Heamcytometer ووضع غطاء الشريحة بشكل محكم ،وتم حساب عدد الابواغ في 5 مربعات ثم أخذ المعدل لكل قراءة وبثلاث مكررات وتم حساب معدل عدد الابواغ في 1 مل باعتماد معادلة Lacey (1997) وكما يلي :-

معدل عدد الابواغ(X)= معدل عدد الابواغ في 5 مربعات × 25 ×10^4

النتائج والمناقشة Results and Discussion

اظهرت نتائج تأثير اوقات التعريض الفيزياوي بإستخدام العزلة الفطرية المنتخبة وعلى وسطي مستخلص الشعير والزابك (جدول4-1) ان وقت التعريض (80 دقيقة) دقيقة كان اكثر فعالية وبفروق معنوية في تطفير المستعمرات الفطرية التي اظهرت اختلاف في شكل وحجم ولون المستعمرة بالمقارنة مع نفس العزلة الفطرية قبل التعريض للاشعة فوق البنفسجية حيث كانت نسبة التطفير على وسطي مستخلص الشعير والزابك(73.62%و 100%)على التوالي .

جدول (4-1) تأثير اوقات التعريض الفيزياوي على عزلات منتخبة تعود للفطر*Asp.niger*

المعاملة	معدل العدد الكلي للمستعمرات		معدل عدد المستعمرات الطافرة		نسبة التطفير %		نسبة القتل %		معدل عدد الابواغ spore/ml	
	MEA	CZA	MEA	CZA	MEA	CZA	MEA	CZA	MEA	CZA
السيطرة	359	67	-	-	-	-	-	-	$3x10^7$	$2x10^7$
T1	132	18	43.5	11.5	32.95	63.88	63.23	73.13	$8x10^6$	$7x10^6$
T2	80	5.5	40	4	50	72.72	77.71	91.79	$5x10^6$	$5x10^6$
T3	62.5	3.5	42	3 .5	67.2	100	82.59	94.77	$4x10^6$	$3x10^6$
T4	45.5	2	33.5	2	73.62	100	87.32	97.01	$4x10^6$	$4x10^6$
T5	27.5	1	19.5	1	70.90	100	92.33	98.50	$4x10^6$	$2x10^6$

*تمثل ارقام الجدول معدل لثلاث قراءات

T1= وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة

T2 = وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 40 دقيقة

T3 = وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 60 دقيقة

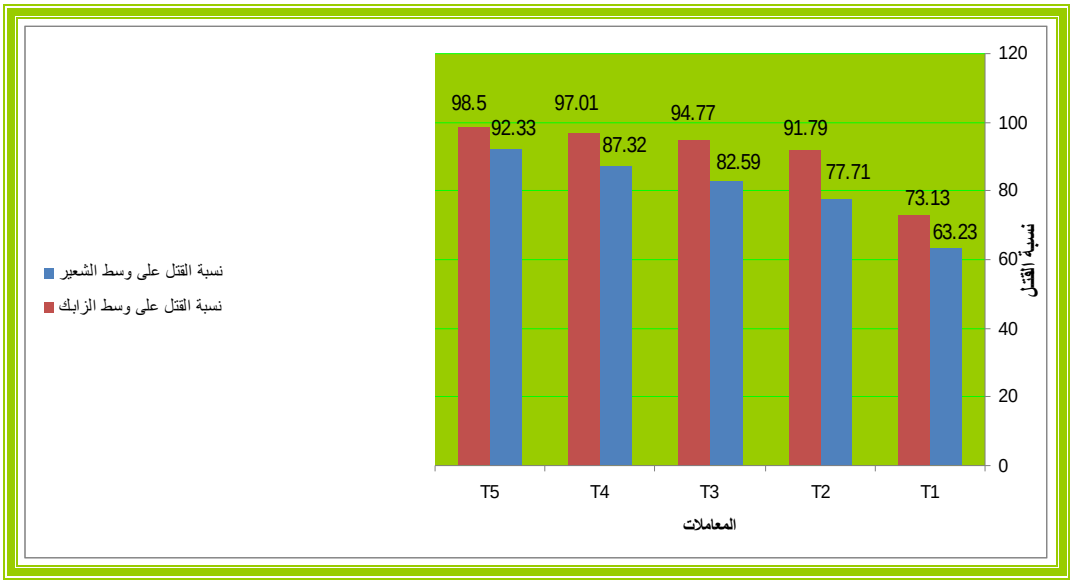
T4 = وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 80 دقيقة

T5 = وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 100 دقيقة

قيمة L.S.D.للمستعمرات الكلية=22.47

اما قيمة L.S.D. للمستعمرات الطافرة=N.S.

اما وقت التعريض الاخير وهو(١٠٠دقيقة) دقيقة اكثر فعالية في قتل المستعمرات الفطرية حيث كانت نسبة القتل على وسط مستخلص الشعير والزابك (٩٢,٣٣% و ٩٨,٥٠%) على التوالي(شكل١ - ٤).



شكل (4-1) تأثير اوقات التعريض الفيزياوي على نسبة القتل على وسطي اكار الشعير والزابك

T1= وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة

T2 = وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 40 دقيقة

T3 = وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 60 دقيقة

T4 = وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 80 دقيقة

T5 = وقت التعريض لاشعة فوق البنفسجية لمدة 100 دقيقة

وجد في الدراسة الحالية ان اعلى نسبة تطفير حدثت في معاملات فطر *Asp. niger* بالاشعة فوق البنفسجية هي 100% على وسط الزابك وبفترات تعريض لمدة (60 و80 و100 دقيقة) في حين كانت اعلى نسبة تطفير على وسط مستخلص الشعير 73.62% في وقت تعريض(80 دقيقة) ، اما اعلى نسبة قتل فكانت على وسطي الزابك ومستخلص الشعير(98.50% و92.33%) على التوالي لمدة تعريض (100 دقيقة) (شكل-1) 4، كذلك يعتبر وسط مستخلص الشعير وسط انمائي مغذي يحتوي على العناصر الضرورية المغذية للفطر حتى لوعُرضت المستعمرات الفطرية للاشعة بالمقارنة مع وسط الزابك الذي يعتبر اقل محتوى لهذه العناصر المغذية وهذا يتفق مع ما أوضحه Gerald وجماعته (1967) بأن *Asp.niger* كان الاكثر حساسية للاشعة

فوق البنفسجية والاقل مقاومة لاشعة كاما من بقية الجراثيم المايكروبية ، حيث قام بتعريض الجراثيم المايكروبية الى الفراغ الفائق Ultra High Vacum (UHV) عند الارتفاع 10^{-9} الى 10^{-10} torr range بعد تركها في الفراغ لمدة 5-7 أيام معرضة لاشعة كاما والاشعة فوق البنفسجية وشملت الجراثيم *Asp. niger* و*Bacillus subitilis* و *B. stearothermophils* و*B. megaterium*، وكانت جميع الجراثيم حساسة للاشعة فوق البنفسجية بينما كانت اكثر الجراثيم مقاومة لأشعة كاما *B. megaterium* إستناداً الى حقيقة انه يمكن بسهولة أن تكون الملوثات المايكروبية محمية من الاشعة فوق البنفسجية من التربة وجسميات معدنية ،وهذا لايتفق مع نتائج الدراسة الحالية حيث ان الاشعة فوق البنفسجية تؤدي دوراً كبيراً في اختزال عناصر الفطريات وتثبيط انباتها ومقتلها وهي فعالة في اختزال حيوية الابواغ الكونيدية.وتفسر هذه النتائج على اساس ان الاشعة فوق البنفسجية تعمل على تحطيم المادة النووية وتجهض عمليات تضاعف DNA واستنساخه وبالتالي عمليات تخليق البروتينات والانزيمات المرتبطة بمعظم العمليات الحيوية ومنها انبات الابواغ ونمو الغزول الفطرية وتتفق هذه النتائج مع ماشار اليه Grosch&Hopwood(1979). دور المعاملة الفيزياوية في إختزال حيوية فطر *Aspergillus niger*

يتبين من (جدول4-1) إختزال إنتاجية الابواغ مع زيادة وقت التعريض بالاشعة فوق البنفسجية حيث كان معدل عدد الابواغ عند وقت التعريض (100 دقيقة) ($2x10^6$) وعلى وسط اكار الزابك وهذا يتفق مع ما أشار اليه Morton وجماعته (1955);Morton(1961) الى دور النتروجين في عملية التبوغ وتأثير الاشعة فوق البنفسجية في اختزال هذا العامل من خلال التغيرات التي تحدث على قواعد البيرميدين والبيورين التي يدخل في تكوينها عنصر النتروجين .حيث يعتقد إن دور الاشعة فوق البنفسجية هو إحداث طفرات في التركيبة الوراثية للفطر وهذا التفسير يتفق مع ماأشار اليه Sambrook وجماعته (2000) أن الاشعة فوق البنفسجية مهمة في حث السلالة الفطرية للطفرات ، وعملية التعريض بالاشعة تؤدي الى تحطيم الحامض النووي DNA وتؤثر على عملية البناء والتضاعف مستقبلاً ، كذلك فأن الاشعة فوق البنفسجية تحث بلمرة البريميدينات Pyrimidines من خلال عدد من التغيرات الكروموسومية وأن عمليات الحذف والتحول والاصلاح تقود الى الطفرة (Prakash *et al.*,2000).

ويتضح من نتائج الدراسة الحالية المبينة في جدول(4-1) أن أفضل مدة تعريض كانت (100 دقيقة) التي أدت الى إختزال كبير في عدد الابواغ حيث كانت اقل قيمة لمعدل الابواغ على وسط الزابك لمدة تعريض (100 دقيقة) ($2x10^6$) ، على حين كان معدل عدد الابواغ في وسط مستخلص الشعير ($4x10^6$) عند اوقات التعريض (60 و80 و100 =T)، بالمقارنة مع السيطرة حيث كان معدل عدد الابواغ فيها وعلى وسطي مستخلص الشعيروالزابك ($3x10^7$ و$2x10^7$) على التوالي.

وقد يفسر مديات التحمل لجرع الاشعاع u.v. light التي عرض لها الفطر *Asp. niger* كانت بسبب كون الابواغ ملونة وقد يؤثر ذلك في قدرتها على اختزال تأثير الاشعاع ، على حين اوضح Muranyi وجماعته(2007) ان السبورات الكونيدية لفطر *Asp.niger* ذات مقاومة عالية ضد الاشعة فوق البنفسجية بسبب الصبغات السوداء التي يصطبغ بها الفطر بعد تعريض لمدة تتراوح من (1-8) أيام ولطول موجي 282 نانوميتر .كما تتفق هذه التغييرات مع زيادة معدلات الفطريات الملونة في المناطق القاحلة واختفاءها في المناطق الظلية(البدر,1996). وان ماتوصلت اليه هذه الدراسة من نتائج يمكن اعتماد مصادر تشعيع توضع في الصفوف الثانوية والادراج والمكاتب والقاعات وصالات الولادة ليلاً بعد خروج العاملين في تلك الاماكن لغرض اختزال جهد اللقاح المايكروبي .

المصاد ر

البدر ، صلاح مهدي (1996). دراسة مجتمع الفطريات الدقيقة لتربة غابات الموصل . اطروحة دكتوراة ، كلية العلوم – جامعة البصرة .

الطرفي ، بلقيس عبد علي عبد عون (2002). عزل وتشخيص بعض البكتريا والفطريات المسببة لالتهاب الإذن . رسالة ماجستير، كلية العلوم – جامعة بابل .

المعموري , ايناس عباس خير الله (2010). تقييم كفاءة بعض العوامل المضادة للفطريات والخمائر الانتهازية المعزولة من بعض مستشفيات محافظة بابل . رسالة ماجستير , كلية العلوم للبنات – جامعة بابل .

Agrios,G.N.(2005). Plant Pathology.5th ed.Academic Press,New York. pp.922.

Eisenstark,A.(1971). Mutagenic and lethal effects of visible and near-ultraviolet light on bacterial cells,p.167-198.In E. W. Caspari(ed.),Advances in genetics ,vol.1w .Academic Press Inc., New York.

Ellis D.H.(2002). An Introduction to Medical Mycology.www.Mycology.Adelaide.Edu au.

Gerald J. Silverman; Norman S. Davis & Norman Beccher (1967). Resistivity of spores to Ulta Violt and Y Radiatiation while Exposed to Ultra high vacuum or at Atmospheric pressure.American Society for Microbiology.Vol.15,No. 3: 510-515 .

Grosch, D.S. & Hopwood,L.E.(1979). Biological effects of radiations ,2nd ed. Academic press New York.

Kabera Justin;Ugiriushuti Viateur& Mukantirenganya Prudentienne(2010). Use of nitrous acid mutant of *Aspergillus niger* for citric acid production from local cane-molasses.African Journal of Microbiology .4(13)1446-1452 .

Lacey, A.L. (1997). Manual of techniques insect pathology. Academic Press, New York, 410pp.

Morton, A.G., England, D.J.F., & Tower, D.A.(1955). Trans. Rit. Mycol.soc., 41**:**280.

Morton, A.G.(1961). PROC. Royl. Acad. Sci. series B,548.

Muranyi P.; Wunderlich J. & Heise (2007). Sterilization effceincy of cascaded dielectric barrier discharge. Jornal Microbiology., 103: 1535-1544.

Nicholson,W.L. & Fajardo-Cavazos,P.(1997). DNA repair and the ultra violet radiation resistance of bacterial spores:from the laboratory to the environment, Recent Res. Devel. Microbiol.1:125-140 .

Prakash,S.; Vinici,V.A. & Strobel,R.J.(2000). Improvement of Microbial strains and fermentation process.Appl.Microbiol.Biotechnol.,54:287-301.

Sambrook,J.; Fritsch, E.F. & Maniatis, T.(2000). Molecular cloning,alaboratory mannal.3rd .cold spring Harbor Laboratory,cold spring Harbor Press,NY.p.999 .ISBN 0879695773.

Setlow, R.B. & Carrier,W.L.(1964). The disappearance of thymine dimmers from DNA an error correcting mechanism, proc.Natl. Acad. sci.(u.s.) .,51:226-232.

Setlow, R.B. & Carrier,W.L.(1966). Pyrimidine dimmers inultraviolet-irradiated DNA'S, J.Mol. Biol.,17:237-254.

Webster,J.&Weder,RAW.(2007). Introduction to fungi.3rd Edition. University Cambridge,London.