عزل وتشخيص الفطريات المنتجة لسموم الافلاتوكسين B1 من بعض الأغذية المحلية في أسواق محافظة بابل

ساره عبد الكريم مخيف العبودي — جامعة بابل/ كلية العلوم — sarahmokif@yahoo.com

ابتهال معز عبد المهدي الحسيني — جامعة بابل/ كلية العلوم — ebtihalmuiz@yahoo.com

حسين جاسم عبيد — جامعة بابل/ كلية العلوم — hussien_jassim@yahoo.com

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لبعض المصادرالغذائية والكشف عن قدرتها لإنتاج سموم الافلاتوكسين B1 حيث أظهرت النتائج عزل ٥٧٧ عزلة من أجناس وأنواع فطرية معزولة من مصادر غذائية مختلفة إذ توزعت عزلات الفطريات كالآتي: ٢٤٩ عزلة للفطر *Aspergillus niger* و١٤٩عزلة *Aspergillus flavus* و٩١ عزلة للفطر *spp Altrenaria* و٤٣ عزلة للفطر *Penicillium spp* و٢٨ عزلة للفطر *A.terreus* و١٠ عزلات *Rhizopus stolonifer* و٧ عزلات للفطر *A.prasiticus* .بينت النتائج أعلى نسبة ظهور هي للفطر *A .niger* حيث تراوحت من ١٠٠% في عينات الفستق الحلبي واللوز والباقلاء الى٢٠% في الرز الهندي. وتراوحت نسبة ظهور *A. flavus* من ٨٦,٦% في الشامية الى٣٣,٣ % في اللوز. وكانت عزلات الفطر *A. flavus* المعزولة من البوشار والشامية والمعكرونة والفستق الحلبي والفول السوداني والحب الأحمر ودوار الشمس والبندق والمشمش المجفف منتجة للافلاتوكسين B1 أما العزلات المعزولة من البزاليا والباقلاء واللوز والكاجو والعدس والرز والشعرية جميعها غير منتجة لسموم الافلاتوكسين B1 وبين كشف الامونيا ان32.2 % من عزلات *A. flavus* منتجة للافلاتوكسين B١ .وبين اختبار تقنية صفائح الكروماتوغرافيا الرقيقة(TLC) إن٤٧,٦%من عزلات *Aspergillus flavus* منتجة للافلاتوكسينB١ كما بينت نتائج الكشف بالامونيا وتقنية TLC إن جميع عزلات الفطر *A .niger* غير منتجة للافلاتوكسين B١.

الكلمات المفتاحية : *Aspergillus* ، الافلاتوكسينB١ ، تقنية TLC ، كشف الامونيا

Abstract

This study conducted to isolate and identify fungi from food resources and then to produce aflatoxin B1. The results showed 577 isolates of fungal genera and species from different food sources, which were isolated and identified as follows: fungus *Aspergillus niger*, fungus *Aspergillus flavus*, *Altrenaria spp*, *Penicillium spp*, *A.terreus, Rhizopus* stolonifer, and *A.prasiticus* are 249, 149, 91, 43, 28, 10, and 7 isolates, respectively. The occurrence of *A. niger* is ranged from 100% in pistachios, beans, and almonds to 20% in in Indian rice. *A. flavus* occurrence is ranged from 86.6% in (popcorn) to 33.3% in almonds. The isolates of A. *flavus* from popcorn, pasta, pistachios, peanuts, melon seeds, sunflower ground nuts, and dried apricots produces aflatoxin B1. The isolates from Albzalaa peas, almonds, cashews, lentils, rice and noodles are all non-productive for aflatoxin B1. The ammonia test shows that ٣٢,٢ % of isolates of *A. flavus* produces aflatoxin B1, while the thin layer chromatography (TLC) shows that ٤٧,٦% of *Aspergillus flavus* produces aflatoxin B1. Both ammonia test and TLC showed that all isolates of *A*. niger are non-productive for aflatoxin B1.

Key word: Aspergillus , aflatoxin B1 , test and TLC, Both ammonia

المقدمة

يعد تلوث الأغذية والأعلاف بالفطريات والسموم الفطرية من المشاكل التي تهدد العديد من الدول النامية و لاسيما تلك التي تفتقر لظروف الخزن الغذائي الجيد وتعد مصدر قلق كبيرا ًجدا مما دعى تلك الدول إلى توفير مصادر غذائية صحية لتحقيق امنها الغذائي(Makun *et al.,*٢٠١٠) إن للسموم الفطرية تأثيرات كبيرة في الصحة العامة حيث تسبب تسمم الكلى وتثبيط المناعة و مسخ الأجنة وتشوهات خلقية وهذه السموم قادرة على إحداث تأثيرا ت حادة ومزمنة في الإنسان والحيوان تتراوح بين الموت أو اضطراب في الجهاز العصبي

المركزي والقلب والأوعية الدموية والنظم الرئوية (Bhat and Vasanthi, 2003). إن منظمة الزراعة والأغذية التابعة للامم المتحدة (FAO) تقدر أن ما يقرب من ٢٥٪ من المواد الغذائية والأعلاف في العالم معرضة لخطر التلوث بالسموم الفطرية(Park *et al*, 2009). ان أكثر المحاصيل الزراعية التي تتأثر قبل وبعد الحصاد بنموالفطريات والسموم الفطرية هي :فستق الحقل والذرة و بذورالقطن و الرز و المكسرات والحبوب والفواكه وكذلك المنتجات الحيوانية مثل : اللحوم والحليب والبيض التي بالإمكان تلوثها أيضاً عن طريق التغذية(Rachaputi *et al*.,2002).ومن اهم تلك السموم هي الافلاتوكسينات وهي عبارة عن مركبات ايض ثانوية مسرطنة تنتج بصورة رئيسية من الفطرين *A. flavus* و *A. parasiticus s* (Rashid *et al*.,2008) ومنذ اكتشاف الافلاتوكسينات في عام ١٩٦٠حيث وجد اكثر من١٨نوع من الافلاتوكسين منها(B 1,B2,G1,G2) يتم انتاجها عادة من قبل الجنس *Aspergillus* حيث ينتج *A. flavus* الافلاتوكسينB1,B2 في حين *A.parasiticus* ينتج الانواع الاربعة الرئيسية من الافلاتوكسين(Basappa,2009)بالاضافة الى وجودM1,M2 اللذين يعدان نواتج ايضية لسموم B1,B٢ (Carlson *et al* .,2002). ويعدالافلاتوكسين B1 هو الاول في مدى سميته واحداث السرطانات والطفرات الجينية يله G1 ثم B2 واخير G2 الذي يعتبر الاقل سمية من بين الانواع الاربعة (Eaton and Gallagher. 1995; Smith, 1997). يمتاز الافلاتوكسين B1,B2 بانه ذات تالق ازرق تحت تاثير الاشعة الفوق بنفسجية وبطول موجي ٣٦٥ نانوميتربينما الافلاتوكسين G1,G2 فيكون ذات تالق اخضر (Melvin،٢٠١٢). ان السم الفطريB1 النقي يكون عباره عن بلورات بيضاء شاحبة الى صفراء عديم الرائحة يذوب في مختلف المذيبات العضوية مثل الكلوروفورم والميثانول والاسيتون والاسيتونيتريل (Park *et al*. 2001). وتشير التقديرات الى ان ما يقارب من ٤,٥ مليون شخص في البلدان النامية يتعرضون على نحو مستمرالى كميات غير متحكم فيها من الافلاتوكسين تؤثر في الجهاز المناعي للانسان (Williams ,2004). ومن امثلة التاثيرات الصحية الكبيرة لتلك السموم هي حادثة تلوث الذرة في كينيا في يوليو عام ٢٠٠٤التي ادت الى وفاة ١٢٥ شخصا من أصل ٣١٧ (Lewis *et al*. ,2005). ولاهمية الموضوع وعلاقته بصحة الانسان وطبيعة غذائه ارتأينا اجراء دراسة مسحية للفطريات في المواد الغذائية الأكثر تداولا في مجتمع محافظة بابل وتسليط الضوء على أكثر تلك المواد عرضه للتسمم بسموم الافلاتوكسينات .

المواد وطرائق العمل

١- **جمع العينات :** جمعت ٣٠ مادة من مصادر غذائية مختلفة هي المكسرات والبقوليات والفواكه المجففة والاجباس والشامية والمعكرونة والشعرية والرز وخليط الكيك والفلافل بشكل عشوائي من الاسواق المحلية في محافظة بابل بواقع ثلاث عينات لكل مادة غذائية وبوزن ٢٥٠ غم لكل عينة لغرض الحصول على عزلات من الفطريات المنتجة لسموم الافلاتوكسين .

٢- الاوساط الزرعية:

A- وسط مستخلص اكار البطاطا والدكستروز(Potato dextrose agar (PDA

حضر الوسط تبعا لتعليمات الشركة المصنعة باذابة ٣٩ غرام من الوسط في ١لتر من الماء المقطر بعدها عقم بجهاز الموصدة بدرجة حرارة ١٢١م وبضغط ١ جو لمدة ٢٠ دقيقة ثم برد الى ٤٥ م بعدها اضيف اليه المضاد الحيوي الكلورامفينيكول بتركيز ٢٥٠ ملغم /لتر استخدم الوسط لغرض عزل وتشخيص الفطريات .

B- وسط مستخلص جوز الهند Cocconut Extract Agar (CEA)

حضر الوسط بأخذ ١٠٠ غرام من مبروش جوز الهند واضيف اليه ٣٠٠ مل من الماء المقطر وسخن لمدة ٢٠ دقيقة بعدها تم ترشيحه باستخدام الشاش المعقم واضيف الى الراشح ١,٥ % من الاكار واكمل الحجم الى ٣٠٠ مل من الماء المقطر بعدها عقم الوسط (Saito and Machida ,١٩٩٩) استخدم الوسط لغرض الكشف عن الافلاتوكسينات.

٤- عزل وتشخيص الفطريات المرافقة للمواد الغذائية:

تم نقل عينات المواد الغذائية المذكورة في الفقرة (١) الى مختبر الفطريات في قسم علوم الحياة -كلية العلوم -جامعة - بابل وقطعت إلى قطع صغيرة ٥ملم وعقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 2% لمدة دقيقتين بعدها تم غسلها بالماء المقطر المعقم ثم وضعت على اوراق ترشيح للتخلص من الماء وبعدها تم زرعها في أطباق بلاستيكية (قطرها ٨سم) تحوي على وسط PDA وذلك بوضع أربع قطع من المادة الغذائية على بعد 3سم عن حافة الطبق وقطعة خامسة في وسط الطبق وكررت العملية ثلاث مرات (مكررات) لكل مادة حضنت جميع الاطباق تحت درجة حرارة 25مْ ± ٢مدة سبعة أيام (ميخائيل وبيدر،1982) بعدها تم تنقية عزلات الفطريات وشخصت اعتمادا على صفاتها المظهرية والمجهرية العزلات حسب طريقة (٢٠٠٩ ، Pitt and Hocking) و(Moubasher,١٩٩٣) تم حساب نسبة الظهور والتردد وفقا للمعادلات التالية :

$$\text{النسبة المئوية للظهور}(\%) = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها النوع الواحد}}{\text{عدد العينات الكلية}} \times 100$$

$$\text{النسبة المئوية للتردد}(\%) = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{\text{العدد الكلي لعزلات جميع الانواع}} \times 100$$

٥-الكشف عن الافلاتوكسينات باستخدام محلول الامونيا

تم الكشف عن قدرة عزلات الفطريات *A.flavus* و*A.niger* على انتاج الافلاتوكسين وذلك باستعمال وسط جوز الهند المحضر في الفقرة(B-1) صب في أطباق ذات قطر ٨ سم ثم لقحت ثلاث مكررات باقراص من عزلات الفطر النامية على وسط PDA وبقطر ٥ ملم وبعمر اسبوع في مركز الطبق وكررت العملية على جميع العزلات المدروسة ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة ٢٥ م لمدة اسبوع تم الكشف عن العزلا ت القادرة على انتاج الافلاتوكسين باستعمال محلول الامونيا بتركيز ٢٠% من خلال استعمال اوراق ترشيح مشبعة بالمحلول في غطاء الطبق ثم حضنت الاطباق بطريقة مقلوبة لمدة ٧-١٠ ايام بدرجة حرارة ٢٥م ان حدوث تغير في لون المستعمرات من اللون الشفاف إلى الوردي أو الأحمر يدل على قدرة العزلات على انتاج الافلاتوكسينات.

(Saito and Machida ,١٩٩).

٦- الكشف عن الافلاتوكسينات باستخدام صفائح الكروماتوغرافيا الرقيقة (TLC)

تم تنمية عزلات الفطريات *A.flavus* و*A.niger* على وسط (P.D.A) وذلك بوضع أقراص من الفطريات قطرها5 ملم بعمر إسبوع في مركز كل طبق وكررت العملية ثلاث مرات (مكررات) لكل عزلة فطرية بعدها حضنت عند درجة حرارة 25م° ± 2 م° لمدة أسبوع بعدها اختير طبق لكل عزلة وتم تقطيع الوسط

الزرعي المنمى عليه عزلة الفطر بوساطة سكين معقمة على شكل قطع صغيرة بعدها نقلت القطع بوساطة ابرة معقمة الى خلاط كهربائي حاوٍ على 50 مل من الكلوروفورم وتم مزج الخليط لمدة ٣ دقائق و تم ترشيح المزيج بوساطة ورق ترشيح ثم أخذ الراشح ووضع في دورق نظيف ومعقم ووضع في فرن كهربائي بدرجة حرارة ٦٠ م ^{o} حيث ركزت الكمية الى ما يقارب (1) مل فقط تم الكشف عن وجود الافلاتوكسين B_1 باستخدام تقنية صفائح الكروماتوغرافيا الرقيقة (TLC) ذات ابعاد (20×20) سم حيث نشطت الصفائح في الفرن الكهربائي لمدة ساعة قبل الاستعمال واستخدم نظام الفصل كلوروفورم ميثانول (98: 2) تم عمل خط مستقيم على صفيحة TLC يبعد بمسافة (1.5) سم من قاعدة الصفيحة وأخذ (15) مايكروليتر بواسطة أنبوبة شعرية من السم القياسي AFB_1 ووضع على الخط بمسافة 2 سم من الحافة اليسرى للصفيحة وهكذا تم وضع نفس الكميات من كل عينة من عينات الفطريات المختبرة وعلى نفس المسافة المذكورة أي (2) سم، بعدها تركت البقع لتجف ثم وضعت في حوض الفصل الحاوي على الطور المتحرك الحاوي على١٠٠مل وتمت مراقبتها لحين وصول المحلول الى مسافة تقارب (١,٥) سم من النهاية العليا للصفيحة أخرجت الصفائح وجففت ثم فحصت تحت الأشعة فوق البنفسجية وبطول موجي 360 نانوميتر وتم الكشف عن وجود الافلاتوكسين B_1 بمطابقة معامل الترحيل Rate of flow (Rf) ولون التألق لمحتوى المستخلصات من الافلاتوكسينات مع المادة القياسية and AFB_1 (Sobolev Dorner,2002) .

النتائج والمناقشة

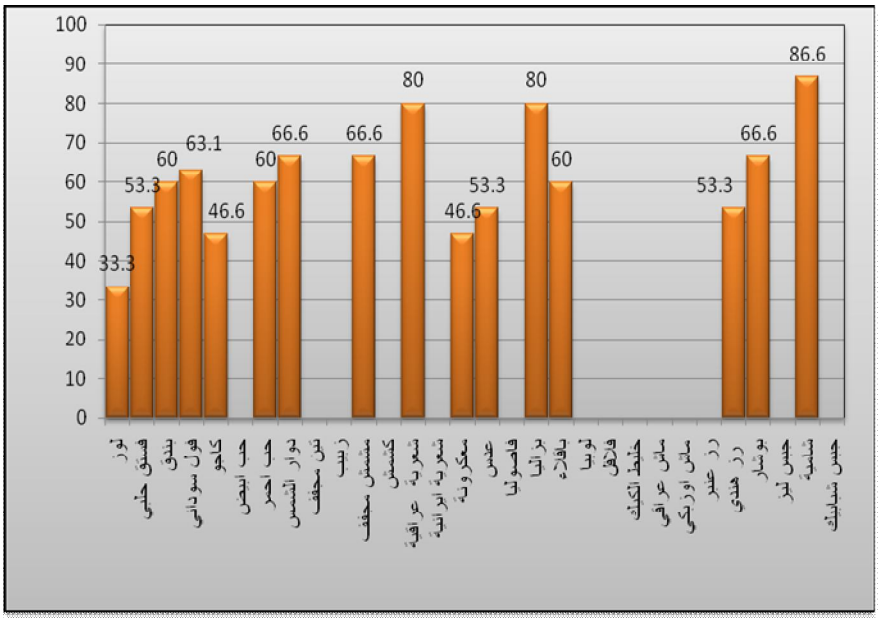
١- عزل وتسخيص الفطريات المعزولة من مواد غذائية مختلفة:

أظهرت نتائج العزل للفطريات(جدول ١) الحصول على ٥٧٧ عزلة تعود لسبعة أجناس فطرية حيث كانت عدد عزلات الفطر *A.niger* ٢٤٩عزلة و *A . flavus* ١٤٩عزلة أما الفطر *Altrenaria spp* فقد كانت٩١عزلة في حين *Penicillium spp* وصلت عزلاته إلى٤٣عزلة و*A.terreus* ٢٨ عزلة والجنس *Rhizopus* ١٠ عزلات أما الفطر *A.prasiticus* فقد كانت ٧ عزلات.

جدل(١) الفطريات المعزولة من مواد غذائية مختلفة

ت	الفطريات المعزولة	عدد العزلات
١	*Aspergillus niger*	٢٤٩
٢	*Aspergillus flavus*	١٤٩
٣	*Altrenaria spp*	٩١
٤	*Penicillium spp*	٤٣
٥	*Aspergillus terreus*	٢٨
٦	*Rhizopus stolonifer*	١٠
٧	*Aspergillus prasiticus*	٧
	المجموع	٥٧7

سجل الفطرين *A.niger* و*A.flavus* نسبة ظهورعالية في أغلب المواد الغذائية وان أعلى نسبة ظهورللفطر *A.niger* بلغت ١٠٠% في الفستق الحلبي واللوز والباقلاء وأقل نسبة ظهور ٢٠% في الرز الهندي اما الفطر *A.flavus* فكانت اعلى نسبة لظهوره تمثلت في الشامية ٨٦,٦ % والبزاليا ٨٠ % و أقل نسبة ظهور كانت في اللوز بنسبة بلغت ٣٣,٣% كما في الشكل (١).



شكل(١) النسبة المئوية لظهور الفطر *Aspergillus flavus* في عدد من المواد الغذائية

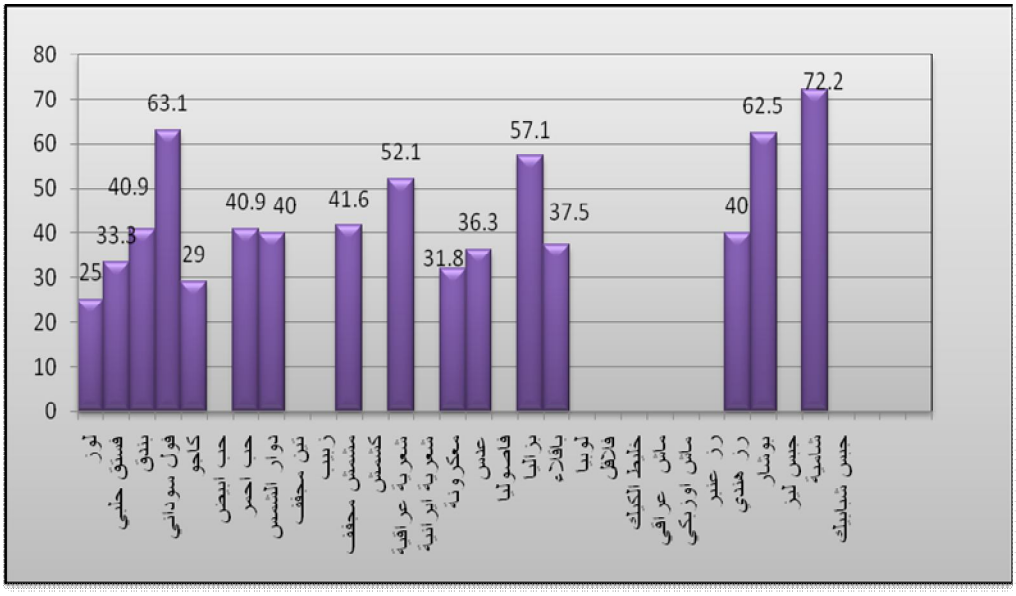
كما بلغت نسبة ظهورالفطر *Altrenaria spp* في الماش العراقي ٨٦,٦% وأقل نسبة ظهور له ١٣,٣% في الشعرية العراقية في حين ان الفطر *Penicillium spp* وصلت نسبة ظهوره ١٠٠% في خليط الكيك والفلافل واقل نسبة ظهور٦,٦ % في المعكرونة أما بقية نسب الظهور في المواد الغذائية قد تراوحت بين (٤٠-١٣,٣ %) و *A.terreus* كانت اعلى نسبة ظهور له في جبس شبابيك إذ بلغت ١٠٠% واقل نسبة ٦,٦% في الشعرية الإيرانية و*Rhizopus stolonifer* ظهر في مادتين غذائيتين فقط هي الحب الأحمر والرز الهندي بنسبة ١٣,٤% و٣٣,٣% على التوالي في حين إن *A.prasiticus* فلم يسجل له ظهور إلا في نوعين من المواد الغذائية تمثلت بدوار الشمس والشعرية العراقية بنسب بلغت ٢٦,٦% و٢٠% على التوالي جدول (٢).

جدول(٢) النسبة المئوية لظهور الفطريات المعزولة من مواد غذائية مختلفة (%)

رقم العينة	العينات	مصدرها	*A.flavus*	*A.niger*	*A.terreus*	*Rhizopus stolonifer*	*Altrenaria spp*	*A.prasiticus*	*Penicillium spp*
١	لوز	لبنان	33.3	100	0	0	0	0	0
٢	فستق حلبي	لبنان	53.3	100	0	0	0	0	0
٣	بندق	لبنان	60	86.6	0	0	0	0	0
٤	فول سوداني	الامارات	63.1	36.8	0	0	0	0	0
٥	كاجو	لبنان	٤٦,٦	73.3	0	0	0	0	40
٦	حب ابيض	العراق	٠	٨٠	0	0	40	0	26.6
٧	حب احمر	العراق	٦٠	٤٠	0	13.4	0	0	33.3
٨	دوار الشمس	العراق	66.6	٧٣.3	0	0	0	26.6	0
٩	تين مجفف	تركيا	0	40	0	0	46.6	0	53.3
١٠	زبيب	العراق	0	66.6	0	0	0	0	40
١١	مشمش مجفف	العراق	66.6	93.3	0	0	0	0	0
١٢	كشمش	العراق	0	66.6	0	0	40	0	0
١٣	شعرية	العراق	80	0	0	0	13.3	20	40
١٤	شعرية	ايران	0	0	6.6	0	66.6	0	6.6
١٥	معكرونة	تركيا	46.6	73.3	13.3	0	0	0	13.3
١٦	عدس	تركيا	53.3	93.3	0	0	0	0	0
١٧	فاصوليا	قيرغستان	0	66.6	0	0	33.3	0	0
18	بزاليا	الصين	80	0	0	0	60	0	0
19	باقلاء	السعودية	60	100	0	0	0	0	0
20	لوبيا	تركيا	0	60	0	0	53.3	0	0
21	فلافل	لبنان	0	0	0	0	0	0	100
22	خليط الكيك	لبنان	0	0	0	0	0	0	100
23	ماش	العراق	0	53.3	0	0	86.6	0	0
24	ماش	اوزبكستان	0	80	0	0	53.3	0	0
25	رز عنبر	العراق	0	86.6	0	0	40	0	0
26	رز	الهند	53.3	20	0	33.3	26.6	0	0
27	بوشار	العراق	66.6	33.3	6.6	0	0	0	0

28	جبس ليز	السعودية	0	66.6	0	0	26.6	0	40
29	شامية	العراق	86.6	33.3	0	0	0	0	0
30	جبس شبابيك	الاردن	0	33.3	100	0	0	0	0

أظهرت نتائج تردد الفطريات جدول (٣) إن الفطر *A.niger* سجل أعلى نسبة تردد٧٥% في اللوز وأقل تردد في الرز الهندي ١٥% و *A.flavus* كانت أعلى نسبة تردد له في الشامية اذ بلغت٧٢,٢ % واقل نسبة تردد في اللوز ٢٥% شكل (٢) و *Altrenaria spp* كانت أعلى نسبة تردد له في الماش العراقي ٦١,٩% وأقل نسبة تردد في الرز الهندي ٢٠% و *Penicillium spp* سجل أعلى نسبة تردد ١٠٠% في الفلافل وخليط الكيك واقل نسبة تردد في الحب الأبيض بلغت ١٨% أما الفطر *A.terreus* فان أعلى نسبة تردد له في جبس شبابيك بلغت ٧٥% واقل تردد في البوشار٦,٢% في حين إن الفطر *Rhizopus* تراوحت نسب تردده في الحب الأحمر والرز الهندي ٢٢,٧% و٢٥% على التوالي كما بينت النتائج إن الفطر *A.prasiticus* تواجد في دوار الشمس والشعرية العراقية فقط بنسب تردد ١٦% و١٣% أما باقي العينات فلم تسجل أي نسب تواجد له. وقد أظهرت العديد من الدراسات إن الفطريات المولدة للسموم و لاسيما *Aspergillus* هي من الملوثات الرئيسة في الفواكه المجففة وان الفطرين *A .niger* و*A.flavus* هما أكثر الأنواع التي تم عزلها في في المشمش المجفف والتمر والخوخ وباقي الفواكه المجففة الأخر(Zohri and Abdel-Gawad, 1993; Aziz and Moussa, 2002; Heperkan, 2006; Benlioglu *et al.*, 2008). وتتفق الدراسة الحالية مع نتائج دراسات أخرى في سيادة الجنس *Aspergillus* في عينات من جبس الذرة والبطاطا (شاكرواخرون, ٢٠١٢) واكدت نفس الدراسة ان من اكثر الانواع التي وجدت في المصادر الغذائية هي *A.terreus , A.flavus A.ochraceus , A.niger A.parasiticus , A.versicolor , A.fumigatus,*. إن سبب ظهور الفطر *Aspergillus* في المواد الغذائية هو امتلاك أنواع هذا الجنس القدرة على إفراز عدد كبير من الإنزيمات المحللة للمواد الغذائية التي يستفاد منها في التغذية والنمو وكذلك زيادة سعة انتشاره و لاسيما إن بعض أنواعه تستطيع النمو في محتوى منخفض من الرطوبة فضلا عن الكثافة النسبية للسبورات التي تنتجها (Eaton & Groopman, 1994) .



شكل(٢) النسبة المئوية لتردد الفطر *Aspergillus flavus* في عدد من المواد الغذائية

جدول (٣) النسبة المئوية لتردد الفطريات المعزولة من مواد غذائية مختلفة (%)

رقم العينة	العينات	مصدرها	*A.flavus*	*A.niger*	*A.terreus*	*Rhizopus stolonifer*	*Altrenaria spp*	*A.prasiticus*	*Penicillium spp*
١	لوز	لبنان	25	75	0	0		0	0
٢	فستق حلبي	لبنان	33.3	62.5	0	0	0	0	0
٣	بندق	لبنان	40.9	59	0	0	0	0	٠
٤	فول سوداني	الامارات	63.1	31.8	0	0	0	0	0
٥	كاجو	لبنان	29	45.8	0	0	0	0	0
٦	حب ابيض	العراق	0	54.5	0	0	27.2	0	18
٧	حب احمر	العراق	40.9	27	0	22.7	0	0	0
٨	دوار الشمس	العراق	40	44	0	0	0	16	0
٩	تين مجفف	تركيا	0	28	0	0	33.3	0	38
١٠	زبيب	العراق	0	62	0	0	0	0	37.5
١١	مشمش مجفف	العراق	41.6	58.3	0	0	0	0	0
١٢	كشمش	العراق	0	62.5	0	0	37.5	0	0
١٣	شعرية	العراق	52.1	0	0	0	8	13	26
١٤	شعرية	العراق	0	0	47.6	0	47.6	0	4
١٥	معكرونة	تركيا	31.8	50	9	0	0	0	9
١٦	عدس	تركيا	36.3	63.6	0	0	0	0	0
١٧	فاصوليا	قيرغستان	0	25	0	0	75	0	0
18	بزاليا	الصين	57.1	0	0	0	45	0	0
19	باقلاء	السعودية	37.5	31.8	0	0	0	0	0

20	لوبيا	تركيا	0	52.9	0	0	47	0	0
21	فلافل	لبنان	0	0	0	0	0	0	100
22	خليط الكيك	لبنان	0	0	0	0	0	0	100
٢٣	ماش	العراق	0	38	0	0	61.9	0	0
٢٤	ماش	اوزبكستان	0	60	0	0	40	0	0
٢٥	رز عنبر	العراق	0	68.4	0	0	31.5	0	0
٢٦	رز	الهند	40	15	0	25	20	0	0
٢٧	بوشار	العراق	62.5	31.2	6.2	0	0	0	0
٢٨	جبس ليز	السعودية	0	50	0	0	20	0	30
٢٩	شامية	العراق	72.2	27.7	0	0	0	0	0
٣٠	جبس شبابيك	الاردن	0	25	75	0	0	0	0

٢- الكشف عن سموم الافلاتوكسينات باستخدام محلول الأمونيا

بينت نتائج الكشف الكيمائي باستخدام وسط جوز الهند والأمونيا (جدول٤) ان ٤٨عزلة من مجموع عزلات *A.flavus* التي ظهرت في مواد غذائية مختلفة هي الفستق الحلبي والفول السوداني والحب الأحمر ودوار الشمس والمشمش المجفف والمعكرونة والبوشار والشامية إنها منتجة للافلاتوكسين B1 بنسبة إنتاج ٣٢,٢% .وقد اختلفت كل وعزلة عن الأخرى في مدى قابليتها لإنتاج السموم من خلال تغير في لون فواعد المستعمرات ويعود هذا التدرج في اللون إلى الكميات المنتجة من الافلاتوكسين فالعزلات ذات اللون الأحمر الغامق تدل على قدرتها لإنتاج اللافلاتوكسين أكثر من العزلات ذات اللون الوردي أو الوردي الفاتح (Saito and Machida، ١٩٩٩).وبينت النتائج إن العزلات التي تم اختبارها من الشامية و البوشار أظهرت اعلي نسبة لإنتاج الافلاتوكسين B1 وهي ٧٦,٩%و٧٠% على التوالي يليها الفول السوداني ٦٦,٦%والفستق الحلبي ٦٢,٥% والمشمش المجفف٦٠% والحب الأحمر ٥٥,٥% أما البندق ودوار الشمس والمعكرونة فكانت نسب إنتاجها ٣٣,٣% و٣٠%و١٤,٧%على التوالي. ان السلالات الفطرية تتباين في قدرتها على افراز الافلاتوكسين فبعضها قد لايفرز سموم الافلا او قد يفرز الافلاتوكسين B1 في حين ان هنالك سلالات أخرى قد تفرز أكثر من نوع من السموم الفطرية اعتمادا على نوع السلالة الفطرية (قحطان،٢٠٠٢)

جدول (٤) قدرة عزلات الفطر *Aspergillus flavus* على انتاج الافلاتوكسين B1 باستخدام محلول الامونيا

رقم المادة	المادة الغذائية	مصدرها	نسبة العزلات المنتجة للافلاتوكسين B1
١	لوز	لبنان	٠
٢	فستق حلبي	لبنان	٦٢.5
٣	بندق	لبنان	33.3
٤	فول سوداني	الامارات العربية المتحدة	66.6
٥	كاجو	لبنان	0
٦	حب احمر	العراق	55.5

٧	دوار الشمس	العراق	30
٨	مشمش مجفف	العراق	60
٩	شعرية	العراق	0
١٠	معكرونة	تركيا	14.7
١١	عدس	تركيا	0
١٢	بزاليا	الصين	0
١٣	باقلاء	السعودية	0
١٤	رز	الهند	0
١٥	بوشار	العراق	70
١٦	شامية	العراق	76.9

وايدت الدراسة الحالية العديد من الدراسات كدراسة (الجنابي ،٢٠٠٩) التي بينت ان ٣٦% من عزلات *A. flavus* التي تصيب الذرة الصفراء منتجة للافلاتوكسينات. واظهرت دراسة اخرى ان ٢٩ عزلة من مجموع ٤٩ عزلة من عزلات *A. flavus* المعزولة من المكسرات فستق الحقل والفستق الحلبي والجوز والحب الابيض والحب الاحمر والكاجو والحمص منتجه للافلاتوكسينB1(الخلف،٢٠١١).وفي دراسة اجراها Fernane وآخرون (2010) في الجزائر ان ٥٦,٥ %من عزلا ت *A. flavus* المعزولة من عينات الفستق الحلبي منتجة لسموم الافلاتوكسين B1 وB2 .وبينت دراسة الفتلاوي (٢٠١٤) إن ٥٦,٦% من مجموع عزلات *A. flavus* المعزولة من المكسرات منتجة لسموم الافلاتوكسين . وبينت الدراسة الحالية أيضا إن جميع عزلات الفطر *A . niger* غير منتجة للافلاتوكسين B1 وعزلات الشعرية والكاجو والبزاليا والباقلاء والعدس والز الهندي واللوز غير منتجة ايضا. ان انتاج السموم ومنها الافلاتوكسين B1 كنواتج ايض ثانوية تابعة للجنس *Aspergillus* لا تتكون في جميع حالات نموهذه الانواع ولايعني عزل هذه الفطريات وجود السموم فيها ولايتم تكوين الفطر لهذه السموم الا ضمن ظروف بيئية محددة مثل ارتفاع الرطوبة مع درجات الحرارة ملائمة (احمد والنواوي ،١٩٩٩) .

٣- الكشف عن الافلاتوكسينات باستخدام تقنية صفائح الكروماتوغرافيا الرقيقية:

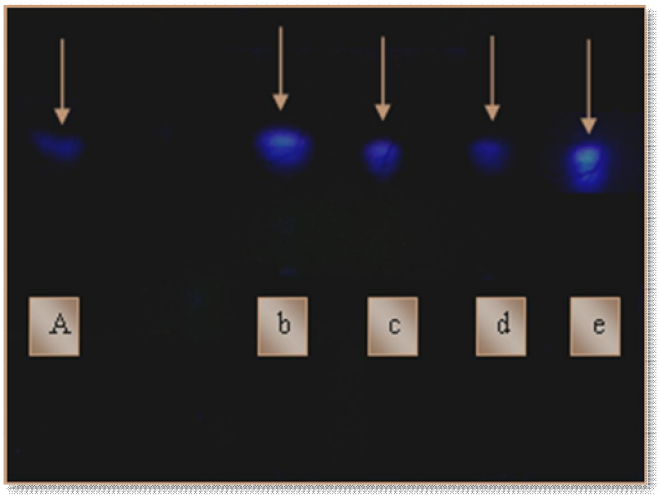
Thin layer chromatography

بينت نتائج الكشف باستخدام تقنية صفائح الكروماتوغرافيا الرقيقة(T LC) جدول (٥) إن 71عزلة من عزلات *A. flavus* منتجة للافلاتوكسينB1 عزلت من مواد غذائية مختلفة متمثلة بالفستق الحلبي والبندق والفول السوداني والحب الأحمر ودوار الشمس والمشمش المجفف والبوشار والشامية اذ بلغت نسبة انتاج الافلاتوكسين B1 47.6 %من خلال مقارنة لون تالق مستخلص كل عزلة ومعامل الترحيل مع السم القياسي افلاتوكسين B1 صوره (١). وبينت النتائج ان جميع العزلات المعزولة من الشامية والبوشار كانت منتجة للافلاتوكسين B1 بنسبة إنتاج ١٠٠% يليهم الفول السوداني بنسبة٩١ .% اما المشمش المجفف والحب الأحمر والفستق الحلبي والبندق ودوار الشمس والمعكرونة كانت نسب إنتاجها ٨٠%و ٧٧,٧% و٧٥% و٦٦,٦% و٥٠% و٧١,٤ على التوالي.

جدول (٥) قدرة عزلات الفطر *Aspergillus flavus* على انتاج الافلاتوكسين B1 باستخدام تقنية TLC

رقم العينة	المادة الغذائية	مصدرها	نسبة العزلات المنتجة للافلاتوكسين B1
١	لوز	لبنان	٠
٢	فستق حلبي	لبنان	٧٥
٣	بندق	لبنان	٦٦.6
٤	فول سوداني	الامارات العربية المتحدة	91.6
٥	كاجو	لبنان	0
٦	حب احمر	العراق	77.7
٧	دوار الشمس	العراق	50
٨	مشمش مجفف	العراق	80
٩	شعرية	العراق	0
١٠	معكرونة	تركيا	71.4
١١	عدس	تركيا	0
١٢	بزاليا	الصين	0
١٣	باقلاء	السعودية	0
١٤	رز	الهند	0
15	بوشار	العراق	100
16	شامية	العراق	100

اما العزلات المعزولة من اللوز والكاجو والشعرية العراقية والعدس والبزاليا والباقلاء والرز الهندي وعزلات الفطر *A . niger* فكانت جميعها غير منتجة لسموم الافلاتوكسين B1. وفي دراسة اجرتها الخلف (٢٠١١) بينت ان ٤٠ عزلة من مجموع ٤٩عزلة للفطر *A.flavus* منتجة للافلاتوكسين B1. وفي دراسة اخرى قام بها Deabes و Al-Habib (٢٠١١) شملت الفطريات المنتجة للسموم الفطرية والافلاتوكسين في ٣٥عينة من المكسرات التي تم جمعها في المملكة العربية السعودية اذ كشفت الدراسة أن نسبة العينات المنتجة الأفلاتوكسين كانت 80، 80، 60، 40، 40، و٢٠٪ للفسق والفول السوداني والجوز واللوز والبندق والكاجو وأظهرت أيضا ان تركيز الأفلاتوكسين B1 يتراوح من 0.3 ميكروغرام /كغ في الكاجو الى 140ميكروغرام / كغ في الفول السوداني. و أشار Hong وآخرون (٢٠١١) أن خمس عينات من ١١عينة من المنتجات الغذائية المصنعة من الذرة كانت ملوثة بمستويات عالية من الافلاتوكسين وبتراكيزهي ppm (١٨,٢، ١٢,٢، ١٧,٢ ،٢١,٠،١٠١,٨). وذكر Brown وآخرون(٢٠١٠) ان محصول الذرة من اكثر المحاصيل عرضة لتلوث بسموم الافلاتوكسين وذلك لان الفطريات المنتجة لهذه السموم تعد من الكائنات الحية المتوطنة بشكل طبيعي في التربة .



صورة (١) قدرة عزلات الفطر *A.flavs* على انتاج سموم الافلاتوكسين B1 باستخدام طريقة صفائح الكروماتوغرافيا الرقيقة (TLC)، حيث ان A السم القياسي الافلاتوكسين B1 و b,c.d,e عزلات منتجة للسموم الافلاتوكسين B1.

المصادر

أحمد, محمد علي ومحمد عبد الرزاق النواوي . ١٩٩٩.الفطريات الصناعية،الدارالعربية للنشر.

الجنابي ،بيداء عبود حسن .2009.دراسة التأثيرات السمية للفطر *A.flavus* في بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية لدى اناث الجرذ الابيض وامكانية السيطرة الحيوية على الاضرار الناجمة عنها .رسالة ماجستير– كلية العلوم– جامعة الكوفة.

الخلف،سما صفاء.2011.دراسة التأثيرات السمية للأفلاتوكسينB1 وB2 في بعض المعايير الفسلجية والكيموحيوية والنسيجية المرضية لذكور الجرذ الأبيض وسبل الحد من تأثيراتها. رسالة ماجستير –كلية العلوم –جامعة الكوفة.

الفتلاوي،إيمان عبد الواحد عبد الرحيم.٢٠١٤.دراسة جزيئية لبعض الفطريات المنتجة للأفلاتوكسينات والمعزولة من بعض أنواع المكسرات. رسالة ماجستير – كلية العلوم للبنات – جامعة بابل

شاكر، رنا جلال وكركز محمد ثلج وامين سلمان بديوي. ٢٠١٢.عزل وتشخيص الاعفان المنتجة للسموم الفطرية من الاغذية الاكثر استهلاكا في الاسواق العراقية.مجلة جامعة تكريت،مجلد.١٣،العدد.١،الصفحة ٤٤-٣٩.

قحطان، فتحي وعبده عبد الله . ٢٠٠٢.الكشف عن سموم افلاB1,B2 وسم الاوكراA في الذرة الصفراء وبعض منتجاته رسالة ماجستير، كلية الزراعة .جامعة بغداد.

ميخائيل ،سمير وتركي بيدر.1982.أمراض البذور ،دار الكتب للطباعة والنشر،جامعة الموصل .

Aziz, N. H. and L.A.A. Moussa.2002.Influence gamma radiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxins in fruits. Food Control. 13: 281-288.

Basappa, S.C.2009.Aflatoxins: Formation,Analysis and control. Narosa publishing house, New Delhi.

Benlioglu S., A. Yildiz, and N. Baspinar. 2008. Aydin ili'nden ihraç edilen kuru incirlerde fungal bulasiklik. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5: 3-8.

Bhat, R. V., S.Vasanthi. 2003. Food safety in food security and food trade: mycotoxin food safety risk in developing countries. Washington D.C. International Food Policy Research Institute.

Brown , R. L., C. Z.-Y. W. Marilyn, L. Meng, M. Abebe, F. Ahmad , B. Deepak. 2010. Discovery and characterization of proteins associated with aflatoxin-resistance: evaluating their potential as breeding markers. Toxins, 2: 919-933.

Carlson,H. K., B. I. Fares, and J. O. Garder.2002. Aflatoxins in mycotoxins. Let. Rev, London.

Deabes, M. and R. Al-Habib. 2011.Toxigenic fungi and aflatoxins associated to nuts in Saudi Arabia. Journal of American Science, 7: 658-665.

Eaton D. L. and E. P. Gallagher. 1995. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol, 34:135-172.

Eaton, D. L. and J. D. Groopman.1994. The toxicology of Aflatoxins human health, veterinary, and agricultural significance. San Diego: CA, Academic Press, INC.

Fernane F,V. Sanchis, S. Marín, A.J. Ramos.2010. First report on mould and mycotoxin contamination of pistachios sampled in Algeria. Mycopathologia, 170: 423-429.

Heperkan, D. 2006. The importance of mycotoxins and a brief history of mycotoxin studies in Turkey. ARI Bulletin of Istanbul Technical University, 54: 18-27.

Hong , L. S., N. I. M. Yusof, H. Ling. 2010. Determination of aflatoxins B1 and B2 in peanuts and corn based products. Sains Malaysiana, 39: 731-735.

Lewis, L., M. Onsongo, H. Njapau, H. Schurz-Rogers, G. Luber, S. Kieszak, J. Nyamongo, L. Backer, A. M. Dahiye, A. Misore.2005. Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in eastern and central Kenya. Environ. Health Perspect. 113: 1763-1767.

Makun، H. A., S. T. Anjorin, B. Moronfoye, F. O. Adejo, O. A. Afolabi1, G. Fagbayibo, B. O. Balogun and A. A. Surajudeen. 2010. Fungal and aflatoxin contamination of some human food commodities in Nigeria . African Journal of Food Science,4: 127-135.

Melvin, S. S. 2012. Aflatoxin and public health – a population study. International Journal of Pharmaceutical Science and Health Care, 2: 52-61.

Moubasher, A. H. 1993. Soil fungi Qatar and other Arab Countries. University of Qatar, Doha, pp: 566, ISBN: 9992121025

Park, D. L., C. E. Ayla, S. E. Guzman-Perez, R. Lopez-Garcia, and S. Trujillo. 2001. Microbial toxins in foods;algal,fungal and bacterial. Food Toxicology.pp.106-108. CRC Press, Boca Roton, Floridam, USA.

Park, D. L., H. Njapau, E. Boutrif. 2009. Minimizing risks posed by mycotoxins utilizing the HACCP concept [Internet]. Nov 17 [cited 2009 Nov 17]; Available from: http://www.fao.org/docrep/x2100t/x2100t08.htm

Pitt, J. I. and A. D. Hocking. 2009. Fungi and food spoilage. Third Edition. Springer Science and Business Media, London, New York.

Rachaputi, N. R., G. C. Wrigth, and S. Kroschi. 2002. Management practices minimize preharvest aflatoxin contamination in Australian ground nuts. Aust. J. Exp. Agric, 42: 595-605.

Rashid, M., S. Khalil, N. Ayub, W. Ahmed, and A. Khan. 2008. Categorization of Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus isolates of stored wheat grains into aflatoxinogenics and non-aflatoxinogenics. 40: 2177-2192

Sobolev, V. S. and J. W. Dorner. 2002**.** Cleanup procedure for determination of aflatoxins in major agricultural commodities by liquid chromatography. .J. of Association of Official analytical Chemists International, 85: 642-645.

Saito, M. and S. Machida. 1999. Arapid identification method for aflatoxin producing strains *A. flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. Mycoscience, 40:205 -208.

Smith, J. E. 1997. Aflatoxins. In Handbook of plant and fungal Ttoxicants Felix D'Mello, J.P., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, pp. 269-285.

Williams, J. H., T. D. Phillips, P. E. Jolly, J. K. Stiles, C. M. Jolly, D. 2004. Aggarwal. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. Am. J.Clin. Nutr.,80:1106-1122.

Zohri, A. A. and K. M. Abdel-Gawad. 1993. Survey of microflora and mycotoxins of some dried fruits in Egypt. Journal of Basic Microbiology, 33: 279-288.