عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لبذور المكسرات المتداولة في الاسواق المحلية في مدينة الديوانية

تاريخ الاستلام 2014/8/11 تاريخ القبول 2015/3/25

صبا عبد الامير كاظم الزيادي

كلية العلوم / جامعة القادسية

Sabaameer_8692@yahoo.com

الخلاصة :

استهدف البحث عزل وتشخيص الفطريات التي ترافق بذور المكسرات المتداولة في الاسواق المحلية في مدينة الديوانية والمعدة للاستهلاك البشري وهي (الجوز و اللوز والكازو و فستق و وبذور مشكلة ماركة كاستانيا)اذ تم عزل وتشخيص8 انواع فطرية هي

Penicillum italicum , Aspergillus ocherous , Aspergillus niger , Rhizopus stolanifer , Fusarium Solani , Alternaria alternate , Crvularia lunata , Trichoderma harizanm بالاضافة الى خميرة *Geotricum candida* على 5 اوساط زرعية هي

(Yeast Extract Agar, Malt Extract Agar ,Potato Dextrose Agar ,Sabroud Dextrose Agar, Simmon Citrate Agar)

وتشير النتائج الى وجود فروق معنوية في نسبة تواجد الفطريات تحت مستوى احتماليةP < 0.05 ,اذ اظهرت النتائج اعلى نسبة تلوث بالفطريات هي بذور الفستق وتليها بذور الجوز وكان اعلى تردد للفطر *P.italicum* على الوسط الغذائي PDAاذ بلغت نسبة الظهور (61.53%) بالنسبة لبذور الجوز و(57.14%) على الوسط الغذائي (Yeast E.A.) لبذور الفستق , اما بالنسبة لبذور اللوز سجل الفطر *R. stolanifer* نسبة تردد (100.00%) على الوسط (PDA) والفطر *P. italicum* نسبة تردد (72.72%) على الوسط (Malt E.A.) اما بالنسبة للبذور المشكلة من ماركة (كاستانا) فسجل الفطر *T. harizanum* نسبة ظهور (100.00%) على الاوساط الزرعية (SDA) و(Malt E.A.) وسجل ظهور الخميرة *G. candida* بنسبة(100.00 %) على الوسط الزرعي (PDA).

Microbiology **Classification QR1 502**

الكلمات المفتاحية : عزل وتشخيص الفطريات , المكسرات , تلوث البذور بالفطريات

المقدمة :

تعد المكسرات من المكملات الغذائية المهمة حيث اعتبرت منظمة ابحاث السرطان (WCRE) في عام 1997 المكسرات مصدر غذائي جيد للدهون غير المشبعة والبروتين والالياف الغذائية والعناصر المعدنية والفيتامينات **(19, 20)** وتشمل المكسرات اللوز والكازوا والفستق والجوز وانواع اخرى اذ انها تنتج في اكثر من 40 دولة وتستهلك في كل انحاء العالم وان الجمعية العالمية للمكسرات (INC) هي منظمة دولية غير مستفيدة تعمل على دعم ابحاث السوق ومهمتها توسيع الاستهلاك العالمي لكل انواع المكسرات **(13)**, ينتمي اللوز *Prunus dulcis* الى العائلة Rosaceaeوينمو هذا النبات طبيعا في ايران ولبنان وسوريا وتركيا **(22)** ومن فوائده الصحية تحسين البشرة وسهولة حركة الطعام في القالون ويمنع الاصابة بالسرطان **(10)** وبينت البحوث الحديثة بأن اللوز يرفع مستوى الكولسترول الجيد HDLويخفض مستوى الكولسترول السئ (LDL) **(22)** كذلك الفستق *Pistaciavera* يعود الى العائلة Anacardiaceae فأن تناوله بكميات كافية يقلل بشكل معنوي من مستويات LDLفي الدم ويقلل الاصابة بأمراض القلب **(23)**والكازو *Anacardium occidertlale* الذي ينتمي الى العائلة Anacardiaceaeيحتوي على نسبة عالية من البوتاسيوم والذي يساعد على افراز الانسولين ويحافظ على عمل القلب ويحسن خفقانه ويساعد مع الصوديوم على توازن الماء في انسجة الجسم وخلاياه **(7 , 6)** بالاضافة الى احتواء الكازو على البروتينات والزيوت والسكريات الكلية والمختزلة والالياف الخام ومركبات فينولية وتانينات. اما الجوز *Juglansregia* العائد للعائلة Juglandaceae يقلل من خطر الإصابة بأمراض القلب ويقوي الجهاز الهضمي ويعالج الأكزيما والتهاب الجفن وأوراقه مضادة للفطريات وطاردة للديدان, وتعد بذوره غنية بالعناصر الغذائية خاصة البروتينات والاحماض الدهنية الاساسية والجوز مثل غيره من البذور يجب معالجته وتخزينه بطريقة سليمة اذ يعرض سوء التخزين اصابته بالحشرات والاصابة بفطر العفن **(23)**

وتعتبر المكسرات من المواد الغذائية المعرضة للإصابة بالفطريات المنتجة للسموم **(2)** اذ تتعرض للتلوث بالفطريات اثناء عملية الحصاد او النقل او الخزن او اثناء عرضها في الاسواق بصورة مكشوفة لذلك هدفت الدراسة الحالية للتحري عن وجود الفطريات الممرضة في بعض انواع المكسرات المحلية والمستوردة وذلك من خلال عزلها وتشخيصها على اوساط زرعية مختلفة .

المواد وطرائق العمل :

1: جمع العينات :تم جمع عينات المكسرات التي شملت (بذور الفستق , بذور اللوز , بذور الجوز , بذور الكازو وبذور مشكلة من ماركة كاستانا) من الاسواق المحلية في مدينة الديوانية وبواقع 100 غم / عينة وتم حفظها بأكياس ورقية في الثلاجة وبدرجة 4م ه لحين الاستعمال .

2: تحضير الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة :

1- وسط أكار البطاطا ديكستروز(PDA) Potato s Dextrose Agar
2- وسط السابرويد (SDA) Sabroua Dextrose Agar
3- وسط مستخلص الخميرة Yeast Extract Agar
4- وسط مستخلص الذرة Malt Extract Agar
5- وسط السيمون ستريت Simmmone citrate media

تم تحضير كل الاوساط حسب الطريقة المعلمة على العبوة من قبل الشركة المصنعة.

3:عزل الفطريات: تم عزل الفطريات الملوثة للبذور المكسرات المستخدمة في البحث أذ زرعت البذور المعقمة سطحيا باستخدام هيبوكلورات الصوديوم وبتركيز 1% ولمدة 3 دقائق في اطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي المعقم وبواقع 3 بذور في كل طبق وبثلاث مكررات لكل نوع من المكسرات وحضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25 مْ وبعد خمسة ايام تم متابعة نمو الفطريات ,اذ فحصت الاطباق لمعرفة الفطريات النامية وبعد تشخيصها تم حساب النسبة المئوية لترددها من خلال المعادلة الاتية:

عدد عزلات النوع الفطري

النسبة المئوية لتردد الفطر = ---------- × 100

العدد الكلي لعزلات الأنواع الفطرية

وبعدها تم تنقية عزلات الفطريات على الوسط الغذائي المعقم (PDA) وتم حفظ العزلات بزرعها على نفس الوسط الغذائي بصورة مائلة في انابيب اختبار حجم 20 مل وحضنها لمدة اسبوع بدرجة حرارة 25 مْ ثم حفظت في الثلاجة بدرجة 4 مْ لحين الاستعمال**(3)** .

4: تشخيص الفطريات : تم تشخيص الفطريات المعزولة من بذور المكسرات الى مستوى النوع وذلك بالاعتماد على المظهر الخارجي للمستعمرة (Morphology features) مثل اللون وشكل المستعمرة وايضا بالاعتماد على الصفات المجهرية (Microscope features) مثل شكل وحجم وتركيب الحوامل والابواغ وفق الأسس التصنيفية المعتمدة وباستخدام المفاتيح التصنيفية الواردة في المصادر التي تناولت تصنيف ودراسة الفطريات:

(8 , 11 , 16 ,17)

النتائج والمناقشة :

لقد تم عزل عدة انواع من الفطريات الملوثة لبذور المكسرات المتداولة في الاسواق المحلية في مدينة الديوانية وتم تشخيص 8 انواع منها :

P.italicum , A.ocherous , A.niger , R. stolanifer ,F.solan ,C. lunata ,A. alternat a, T.harizanum

بالإضافة الى الخميرة *G. candida* التي عزلت من بذور المكسرات المشكلة من ماركة (كاستانيا) PDA

اذ تعد هذ الفطريات من المجاميع الفطرية المعروفة ذات تأثير كبير على المحاصيل الزراعية وذلك لقدرتها على انتاج مواد ايضية ثانوية ذات تأثير مسرطن للإنسان والحيوان تدعى بالسموم الفطرية Mycotoxin اذ تشير الدراسات الى قابلية هذه الفطريات على انتاج اكثر من نوع من السموم**(9).**

بينت النتائج وجود فروق معنوية في نسبة تردد الفطريات على بذور الجوز والتي تم تشخيصها اذ وجد ان اعلى نسبة تردد كانت للفطر *P. italicum* وعلى جميع الاوساط الزرعية اذ بلغت اعلى نسبة تردد له (61.53%) على وسط PDA وكما في الجدول رقم (1), وهذه النتيجة تتفق مع **(5)**اذ تم عزل وتشخيص ثلاث عزلات فطرية محمية تعود الى جنس هي: *PenicilliumP. aksmanii , P. rugulosum , P.islandicum* من بذور المكسرات وكشف عن قابليتها على افراز انزيم اللايبيز باستخدام طريقة الاوساط الصلبة الحاوية على مادة Tributyrinو Tween 80 وأتضح ان عزلة الفطر*P.rugulosum*اعطت اعلى كفاءة في انتاج انزيم اللايبيز, اذ يعتبر*Penicillium*من الفطريات المنتجة للسموم اذ ينتج العديد من السموم منها Citrinin , Penitrem A , Ochratoxins , Xanthomegnin , Patulinوغيرها من السموم التي تكون شائعة في الحبوب ومنتجاتها بالإضافة الى انواع اخرى من الاغذية **(1)**.

جدول (1) : النسبة المئوية لتردد الفطريات المعزولة من بذور الجوز على الاوساط الزرعية المختلفة

الفطر / الوسط	*P. italicum*	*A. ocherous*	*R . stolanifer*	*F. solani*
Yeast extract agar	**AB** 50.00 **a**	**A**21.42 **B**	**A** 21.42 **B**	**A**7.14 **c**
Malt extract agar	**A**57.14 **a**	**B**7.14 **B**	**A**21.42 **C**	**A**14.28 **ab**
Potato Dextrose agar	**A**61.53 **a**	**B**7.69 **B**	**AB**30.76 **C**	**B** _ **d**
Sabroud Dextrose agar	**B**37.5 **a**	**A**25.00 **a**	**B**37.5 **A**	**B**_ **b**
Simmon citrate agar	**AB**45.45 **a**	**A**27.27 **B**	**AB**27.27 **B**	**B** _ **c**

- **تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروق معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروق معنوية في نسبة العزل تحت مستوى احتمالية (0.05 P).**
- **تشير الحروف الكبيرة الى القراءة الاحصائية العمودية في حين تشير الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية.**

اما بالنسبة لبذور الفستق فقد سجل اعلى نسبة تواجد للأنواع الفطرية المختلفة ويعود سبب تلوث بذور الفستق بالفطريات اكثر من غيره من المكسرات الى طبيعة تركيب القشرة الخارجية وطريقة الحصاد لهذا النوع من المكسرات **(1)**وسجل الفطر *R. stolanifer* اعلى نسبة تردد على الوسط PDA لبذور الفستق والكازو واللوز اذ بلغت (100.00%) وكذلك على الوسط الزرعي Malt extract agarلبذور الكازو اذ بلغت النسبة(100.00%)وكما في الجدول رقم (2 و3و4) وقد يرجع السبب الى انتشار الفطر *R. stolanifer*في البيئة وبشكل واسع وهذه النتائج تتفق مع **(18)** اذ تم عزل فطر*Penicillum* و*Aspergillus* و*Rhizopus* من بذور الوز والفستق و الجوز. وكذلك تتفق النتائج مع **(15)** اذ تم عزل الفطريات من بذور المكسرات وهي*.P. chrysogenum ,A. niger ,A. flavus* على الوسط الزرعي glucose-Czapek's agar و الفطريات *A. , A. parasiticus*, *R.stolonifer* , *A.flavus fumigatus*على الوسط الزرعي glucose-Czapek's agarولكن بتردد اعلى على الوسط الزرعي glycerol agar medium.

جدول (2) : النسبة المئوية لتردد الفطريات المعزولة من بذور الفستق على الاوساط الزرعية المختلفة

F. Solani	*C. lunata*	*R. stolanifer*	*A. niger*	*A.ocherous*	*P. italicum*	الفطر / الوسط
_ **A** **B**	_ **A** **b**	**A** 42.85 **a**	**A**_ **b**	**A** _ **b**	**A** 57.14 **a**	Yeast e. a.
_ **A** **B**	25.00 **B** **c**	**B** _ **b**	**B** 25.00 **c**	**A** _ **b**	**A**50.00 **a**	Malt e.a.
_ **A** **A**	_ **A** **a**	**C**100.00 **b**	**A** _ **a**	**A** _ **a**	**B**_ **a**	PDA
B50.00 **B**	_ **A** **a**	**D**12.5 **c**	**B** 37.5 **b**	**A** _ **a**	**B**_ **a**	SDA
_ **A** **C**	_ **A**	**D**16.66 **b**	**B** 33.33 **a**	**B** 16.66 **b**	**C**33.33 **a**	Simmon c.a.

- **تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروق معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروق معنوية في نسبة العزل تحت مستوى احتمالية (0.05 P).**
- **تشير الحروف الكبيرة الى القراءة الاحصائية العمودية في حين تشير الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية.**

جدول (3) : النسبة المئوية لتردد الفطريات المعزولة من بذور الكازو على الاوساط الزرعية المختلفة

الفطر / الوسط	*R. stolanifer*	*F. solani*	*P. italicum*
Yeast e. a.	**A** 75.00 **a**	**A** 25.00 **b**	**A_ c**
Malt e.a.	**B** 100.00 **a**	**B _ b**	**A_ b**
PDA	**B**100.00 **a**	**B _ b**	**A_ b**
SDA	**CA**60.00 **a**	**C** 40.00 **b**	**A_ c**
Simmon c.a.	**C**50.00 **a**	**B _ b**	**B**50.00 **c**

- **تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروق معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروق معنوية في نسبة العزل تحت مستوى احتمالية (0.05 P).**
- **تشير الحروف الكبيرة الى القراءة الاحصائية العمودية في حين تشير الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية.**

جدول (4) : النسبة المئوية لتردد الفطريات المعزولة من بذور اللوز على الاوساط الزرعية المختلفة

الفطر / الوسط	*Rhizopus stolanifer*	*Penicillum italicum*
Yeast extract agar	**A**30.00 **a**	**A**70.00 **b**
Malt extract agar	**AD**37.5 **a**	**A**72.72 **b**
Potato Dextrose agar	**B**100.00 **a**	**B_ b**
Sabroud Dextrose agar	**CD**60.00 **a**	**C**40.00 **b**
Simmon citrate agar	**D**50.00 **a**	**C**50.00 **a**

- **تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروق معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروق معنوية في نسبة العزل تحت مستوى احتمالية (0.05 P).**
- **تشير الحروف الكبيرة الى القراءة الاحصائية العمودية في حين تشير الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية.**

اما بالنسبة لبذور المكسرات المشكلة فقد سجل الفطر *T.harizanum* اعلى نسبة تواجد على الوسطين الزرعيين Sabroud Dextrose agar وMalt extract agar,اذ وجدان الاصابة بهذا الفطر *Trichoderma* spp تبدأ في الحقل لأنه يعد من فطريات التربة**(14)** وهذ النتائج تتفق مع **(4)**الذي قام بعزل *Rhizopus* spp و *Trichoderma*

.spp و *Fusarium* spp و *Chaetomium* spp و *Rhizoctonia* spp و *A. niger* و *Atrenaria* spp من بذور النقل المحمصة(المكسرات) غير المخزونة المعدة للاستهلاك البشري المستوردة(بذور زهرة الشمس وبذور الرقي وبذور فستق الحقل) والمخزونة (غير محمصة)واختبر قابليتها على انتاج الافلاتوكسينات ووجد ان جميع العزلات غير منتجة للافلاتوكسينات , بينما عزل **(21)** الفطريات التالية : *Alternaria* و.sp *Penicillum* و.sp *Fusarium oxysporium* و.sp *Mucor* و *Ulocladium atrium* من بذور المكسرات العربية ووجد بأنها تنتج سموم تؤدي الى تغيرات مرضية او فسيولوجية في الكائن الحي اذ اظهرت الدراسة الاثر الضار للفطر *flavuss Aspergillu* وسم الفلاتوكسين B على الكلى لأناث الجرذان.

جدول (5) : النسبة المئوية لتردد الفطريات المعزولة من بذور مشكلة من ماركة على الاوساط الزرعية المختلفة

الفطر / الوسط	*A. alternata*	*T. harizanum*	*P. italicum*	*G. candida*
Yeast e. a.	50.00**A** **a**	**A_ b**	50.00**A** **a**	**A_ b**
Malt e.a.	**B_ a**	100.00**B** **b**	**B_ a**	**A_ a**
PDA	**B_ a**	**A_ a**	**B_ a**	100.00**B** **b**
SDA	**B_ a**	100.00**B** **b**	**B_ a**	**A_ a**
Simmon c.a.	**B_ a**	**A _ a**	**B_ a**	**A_ a**

•تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروق معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروق معنوية في نسبة العزل تحت مستوى احتمالية (0.05 P).

- **تشير الحروف الكبيرة الى القراءة الاحصائية العمودية في حين تشير الحروف الصغيرة الى القراءة الاحصائية الافقية.**

المصادر:

1. **ابراهيم , اسماعيل خليل والجبوري , كركز محمد ثلج (1998)**. السموم الفطرية اثارها ومخاطرها . مركز اباء للأبحاث الزراعية .جمهورية العراق
2. **احمد , صلاح عمر(1988).**تواجد الافلاتوكسينات في بعض النقل في الاسواق المحلية . رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة الموصل.
3. **ديوان ،مجيد متعب ويحيى ،عبد الرحمن حسن . (1984)**امراض النبات العلمي . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . هيئة المعاهد الفنية . العراق.
4. **الراوي,علي عبدعلي. (2009).**عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لبذور بعض النُّقل (المكسرات)المستوردة وتشخيص المنتج للأفلاتوكسين منها . مجلة علوم الرافدين،المجلد 20 ،العدد 2،ص46 – 57.
5. **العبيدي,نورعامرمحمدعلي.(2013)** . انتاج انزيم اللاييز من عزلة محلية للفطر Penicillium معزولة من بذور المكسرات . مجلة تكريت للعلوم الصرفة .18(1).
6. **هـ . ونيترغريفيت (2000)** . الفيتامينات الأعشاب والمعادن والبرمجة. الدار العربية للعلوم . بيروت. لبنان.
7. **هولفورد , باتريك (2000)**. التغذية / الدليل الكامل . ترجمة مركز التعريب والترجمة . الدار العربية للعلوم . بيروت. لبنان.
8. **Barentt, H. L. and Hunter, B. B. (1972).**Illu started genera of imperfect fungi. Burgess publ. co., Minnesota. 3rd ed

9. **Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A. (1996)**. Practical Medical Microbiology. 4th ed., Churchill livingstone, pp. 695-717
10. **Davis, P.A. and C. K. Iwahashi(2001**). Whole almonds and almond fractions reduce aberrant crypt foci in a rat model colon carcinogensis . concer Letters , 165(1) :27-33
11. **Domsch, K. H. Gams, W. and Anderson, T. (1980).** Compendium of soil fungi Academic press , P. 85
12. **Huber, D. M. (1983).** Non- fungicidal chemical control of soil borne disease. Proceeding poth annual fertilizer conference of the pacific North West. Idaho- Moscow. : 95-98.
13. **International Tree nut council (INC) (2002).** Official Response to world health organization (WHO) , Food and Agricultural organization (FAO). Expert consultation on diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases Geneva .
14. **Jash, S. and Pan, S., (2007) .**Variability in Antagonistic and Root Colonizing Behavior ofTrichoderma Isolates. J. Tropical Agricul., 4(2): pp. 29-35
15. **Khayria M. Abdel-Gawad, A. A. Zohri.(1993).**Fungal flora and mycotoxins of six kinds of nut seeds for human consumption in Saudi Arabia.Mycopathologia. Vol. 124, Issue 1, pp 55-64.
16. **Moubasher, A.H. and AL-Subai,A.T.(1987).**Soil fungi in state of Qatar .university of Qataer
17. **Moustafa,A.F.(1982).**Taxonomic studies on the fungi of Kuwait .Aspergilli.J.Uni.Kuwait (Sci) 9:245-260
18. **Paul Bayman,James L. Baker, Noreen E.Mahoney.(2002)**.Aspergillus on tree nuts: incidence and associations . Mycopathologia.V.155,Issue 3,pp 161-169.
19. **Penny , M.K.,Y.P. Shaome , S.Joan, E.R.Hope , Z. Guixiang and D.E. Terry (1999**). Nuts and their bioactive constituents effects on serum lipids and factors that affect disease risk American Journal of clinical nutrition . Vol.7,No.3
20. **Prasad, A.S., J.T. Fitzgerzial and B. Bao (2000).** Duration of symptoms and plasma cytokine levels in patients with zinc acetate. A randomized double blind, placebo-controlled trial Ann.Intren.med.
21. **Saddiq .A.A. and Kalifa .S.A.(2011).** Impact of fungal content of some Arabic nuts to induce kidney toxicity and agonistic action of natural resources . African Journal of Microbiology research Vol.5(9).
22. **Wikipedia , the free Cncyclopedia ,(2007).** Almond .Wikipedia is aregistered. http://en.wikipedia .org / wiki/ Almond.
23. **Wikipedia , the free Cncyclopedia ,(2007).** Pistachio. Wikipedia is a registered trademark of Wikimedia foundation ,Inc(Internet) . http://en.wikipedia .org / wiki/ Pistachio.

Isolate and diagnose fungi contaminated seeds, nuts traded in local markets in the city off Al-Diwaniya

Receved :11/8/2014 **Accepted :25/3/2015**

Saba A.K.Ziadi

College of Science / University of Qadisiyah

Sabaameer_8692@yahoo.com

Abstract:

This study amied to identify fungi that infect the seed nuts traded in local markets in the city of Diwaniyah and intended for human consumption , namely, (walnuts, almonds, Cashew , Pistachio, and seeds of the mixed of nuts Castania) as it has been to isolate and diagnose 8 kinds innate is (*P.italicum, A.ocherous, A.niger, R.stolanifer , F.Solani, C.lunata T.harizanum*), in addition to yeast *(G. candida)*on 5 circles agricultural is (Yeast extract agar, Malt extract agar, Potato Dextrose agar, Sabroud Dextrose agar, Simmon citrate agar) The results indicate the existence of significant differences in the proportion of presence fungi below probability of P <0.05, as the results showed the highest pollution fungi are the seeds of pistachios, followed by seed nut and was the highest frequency of the fungus *P.italicum* on the middle food PDA as the percentage of impressions (61.53 %) for seed nut (57.14 %) on the middle food (Yeast ea) the seeds of peanuts , but for the seeds of almonds log fungus *R. stolanifer* percentage frequency (100.00%) on the middle (PDA) and mushrooms *P. italicum* percentage frequency (% 72.72) on the middle (Malt ea) As for the seeds of the problem of the brand (Castaa) scored fungus *T.harizanum* the emergence ratio (100.00%) on AGRO circles (SDA) and (Malt ea) and record the appearance of *G. candida* yeast (100.00 %) on the middle pea

Key words : isolate and diagnose fungi , nuts , contaminated seeds by fungi