

عزل وتشخيص الفطريات الملوثة لبذور المكسرات المتداولة في الاسواق المحلية

في مدينة الديوانية

تاريخ القبول 2015/3/25

تاريخ الاستلام 2014/8/11

صبا عبد الامير كاظم الزيايدي

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 وتشخيص 8 انواع فطرية هي

Penicillium italicum , *Aspergillus ochereous* , *Aspergillus niger* , *Rhizopus stolanifer* , *Fusarium 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 احتمالية $P > 0.05$, اذ اظهرت النتائج اعلى نسبة تلوث بالفطريات هي بذور الفستق وتليها بذور الجوز وكان اعلى تردد للفطر *P.italicum* على الوسط الغذائي PDA اذ 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 :

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 ديكتروز (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 Simmone 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 وبتلات مكررات لكل نوع من المكسرات وحضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25 م° وبعد خمسة ايام تم متابعة نمو الفطريات , إذ فحصت الاطباق لمعرفة الفطريات النامية وبعد تشخيصها تم حساب النسبة المئوية لتردها من خلال المعادلة الآتية:

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 Rosaceae وينمو هذا النبات طبيعا في ايران ولبنان وسوريا وتركيا (22) ومن فوائده الصحية تحسين البشرة وسهولة حركة الطعام في القولون ويمنع الاصابة بالسرطان (10) وبينت البحوث الحديثة بأن اللوز يرفع مستوى الكولسترول الجيد HDL ويخفض مستوى الكولسترول السيئ (LDL) (22) كذلك الفستق *Pistaciavera* يعود الى العائلة Anacardiaceae فان تناوله بكميات كافية يقلل بشكل معنوي من مستويات LDL في الدم ويقلل الاصابة بأمراض القلب (23) والكازو *Anacardium occidertale* الذي ينتمي الى العائلة Anacardiaceae يحتوي 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

عدد عزلات النوع الفطري

$$\frac{\text{النسبة المئوية لتردد الفطر}}{100} \times \text{العدد الكلي لعزلات الأنواع الفطرية}$$

العدد الكلي لعزلات الأنواع الفطرية

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 ابيضية 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: *P. aksmanii*, *Penicillium rugulosum*, *P. islandicum* من بذور المكسرات وكشف عن قابليتها على افراز انزيم اللايبيز باستخدام طريقة الاوساط الصلبة الحاوية على مادة Tributyrin و 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 , Patulin وغيرها من السموم التي تكون شائعة في الحبوب ومنتجاتها بالإضافة الى انواع اخرى من الاغذية (1).

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 م° ثم حفظت في الثلاجة بدرجة 4 م° 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. ochereous* , *A. niger* , *R. stolanifer* , *F. solan* , *C. lunata* , *A. alternata* , *T. harizanum*

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

<i>F. solani</i>	<i>R. stolonifer</i>	<i>A. ochereous</i>	<i>P. italicum</i>	الفطر الوسط
A7.14 c	A 21.42 B	A21.42 B	AB 50.00 a	Yeast extract agar
A14.28 ab	A21.42 C	B7.14 B	A57.14 a	Malt extract agar
B d	AB30.76 C	B7.69 B	A61.53 a	Potato Dextrose agar
B b	B37.5 A	A25.00 a	B37.5 a	Sabroud Dextrose agar
B c	AB27.27 B	A27.27 B	AB45.45 a	Simmon citrate agar

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

(18) اذ تم عزل فطر *Aspergillus* و *Penicillium* و *Rhizopus* من بذور الوز والفسق و الجوز. وكذلك تتفق النتائج مع (15) اذ تم عزل الفطريات من بذور المكسرات وهي *A. flavus*, *A. niger*, *P. chrysogenum*. على الوسط الزرعي glucose-Czapek's agar و الفطريات *A. fumigatus* على الوسط الزرعي glucose-Czapek's agar و لكن بتعدد اعلى على الوسط الزرعي glycerol agar medium.

اما بالنسبة لبذور الفستق فقد سجل اعلى نسبة تواجد لأنواع 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. stolonifer* اعلى نسبة تردد على الوسط PDA لبذور الفستق والكازو واللوز اذ بلغت (100.00%) وكذلك على الوسط الزرعي Malt extract agar لبذور الكازو اذ بلغت النسبة (100.00%) وكما في الجدول رقم (2 و3 و4) وقد يرجع السبب الى انتشار الفطر *R. stolonifer* في البيئة وبشكل واسع وهذه النتائج تتفق مع

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

<i>F. Solani</i>	<i>C. lunata</i>	<i>R. stolanifer</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. ocherous</i>	<i>P. italicum</i>	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	A50.00 a	Malt e.a.
- A A	- A a	C100.00 b	A a	A a	B_ a	PDA
B50.00 B	- A a	D12.5 c	B 37.5 b	A a	B_ a	SDA
- A C	- A	D16.66 b	B 33.33 a	B 16.66 b	C33.33 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 (P 0.05).

• 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

<i>P. italicum</i>	<i>F. solani</i>	<i>R. stolanifer</i>	الفطر الوسط
A _c	A 25.00 b	A 75.00 a	Yeast e. a.
A _b	B b	B 100.00 a	Malt e.a.
A _b	B b	B 100.00 a	PDA
A _c	C 40.00 b	CA 60.00 a	SDA
B 50.00 c	B b	C 50.00 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 (P 0.05).

• 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

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

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

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

الرقعي 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 *Penicillium sp.* و *Fusarium oxysporium* و *Mucor sp.* 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* الكائن الحي اذ اظهرت الدراسة الاثر الضار للفطر *Aspergillus* وسم الفلاتوكسين B على الكلى لأنث الجردان.

اما بالنسبة لبذور المكسرات المشكلة فقد سجل الفطر *T.harizantum* اعلى نسبة تواجد على الوسطين الزراعيين *Sabroud Dextrose agar* و *Malt extract agar* , اذ وجد ان الاصابة بهذا الفطر *Trichoderma spp* تبدأ في الحقل لأنه يعد من فطريات التربة (14) و هذا النتائج تتفق مع (4) الذي قام بعزل *Rhizopus spp* و *Trichoderma spp* و *Fusarium spp* و *Chaetomium spp* و *Atrenaria spp* و *Rhizoctonia spp* و *A. niger* من بذور النقل المحمصة (المكسرات) غير المخزونة المعدة للاستهلاك البشري المستوردة (بذور زهرة الشمس وبذور

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

الفطر	<i>A. alternata</i>	<i>T. harizantum</i>	<i>P. italicum</i>	<i>G. candida</i>
الوسط				
Yeast e. a.	50.00A a	A b	50.00A a	A b
Malt e.a.	B a	100.00B b	B a	A a
PDA	B a	A a	B a	100.00B b
SDA	B a	100.00B 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 (P 0.05).

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

المصادر:

العالى والبحث العلمي . هيئة المعاهد الفنية . العراق.

4. الراوي, علي عبدعلي. (2009). عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لبذور بعض النقل (المكسرات) المستوردة وتشخيص المنتج للأفلاتوكسين منها . مجلة علوم الرافدين، المجلد 20 ، العدد 2، ص 46 – 57.

5. العبيدي, نور عامر محمد علي. (2013) . انتاج انزيم اللابيز من عزلة محلية للفطر *Penicillium* معزولة من بذور المكسرات . مجلة تكريت للعلوم الصرفة. 18(1).

1. ابراهيم , اسماعيل خليل والجبوري , مركز محمد تلج (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

- 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. **Moustaafa, 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. Fitzgerald 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>.
 6. **هـ . ونيتير غريفيت (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 carcinogenesis. 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 of Trichoderma Isolates. J. Tropical Agricul., 4(2): pp. 29-35
 15. **Khayria M. Abdel-Gawad, A. A. Zohri. (1993).** Fungal flora and mycotoxins

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

Received :11/8/2014

Accepted :25/3/2015

Saba A.K.Ziadi

College of Science / University of Qadisiyah

Sabaameer_8692@yahoo.com

Abstract:

This study aimed 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