جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية – كلية التربية

قسم علوم الحياة

تقييم القدرة السمية لبعض الفطريات المرافقة لبعض الأغذية المجففة في مدينة الديوانية

بحث مقدم إلى مجلس قسم علوم الحياة / كلية التربية

وهو من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس / علوم الحياة

اعداد الطالب

زين العابدين مالك ديان

بإشراف

د . مثال كريم عباس

2019م 1441هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

﴿وَمَا جَعَلَهُ اللَّهُ إِلَّا بُشْرَىٰ لَكُمْ

وَلِتَطْمَئِنَّ قُلُوبُكُم بِهِ وَمَا النَّصْرُ إِلَّا مِنْ عِندِ

اللَّهِ الْعَزِيزِ الْحَكِيمِ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة آل عمران الآية (126)

الإهداء

إلى الينبوع الذي لا يمل العطاء إلى من حاك سعادتي بخيوط منسوجة من قلبه .

والدي العزيز

إلى القلب الناصع بالبياض رمز الحب وبلسم الشفاء إلى من أرضعتني الحب والحنان .

والدتي الحبيبة

إلى من هم ملاذي إذ جار الزمان .

أخواني وأخواتي

إلى من هم عونني في وقت الضيق ومن أعطاني النصح السديد .

أصدقائي

واهدي ثمره جهدي إلى من بعثوا في العلم والمعرفة .

أساتذتي

"الشكر والتقدير"

لابد لنا ونحن نخطو خطواتنا الاخيرة في الحياة الجامعية من وقفة نعود الى اعوام قضيناها في رحاب الجامعة مع اساتذتنا الكرام الذين قدموا لنا الكثير باذلين جهوداً كبيرة في بناء جيل الغد لتبعث الامة من جديد

أما بعد...

وقبل أن نمضي نقدم أسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير والمحبة الى الذين حملوا اقدس رسالة في الحياة . الى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة إلى جميع اساتذتنا الأفاضل .واخص بالتقدير والشكر استاذتي الفاضلة (د. مثال كريم عباس) لما قدمته لي من توجيهات .وكذلك اشكر كل من ساعد على اتمام هذا البحث وقدم لنا العون ومد لنا يد المساعدة وزودنا بالمعلومات اللازمة لا تمام هذا البحث

الخلاصة

تضمن البحث عزل وتشخيص الفطريات التي لها القدرة على افراز السموم في الاغذية المجففة لمحافظة القادسية وتم العزل من ثلاثة انواع من الأغذية المجففة (العنب المجفف) و (المشمش المجفف) و(التين) وبواقع عشر عينات لكل نوع وتم عزل الفطريات على وسط PDA واختبار سمية الفطريات المعزولة على أوساط PDA واظهرت نتائج البحث وجود ستة انواع من الفطريات وبنسب تواجد متفاوتة والفطريات هي Aspergillus niger , Aspergillus flaves , Penicillium notatum , Alternaria sp, Cladosporum sp. وكان أكثر الفطريات تواجداً هو فطر A.niger وكان أكثر الفطريات سمية هو Alternaria sp واظهرت بقية الانواع درجات متفاوتة من السمي.

المقدمة

يحدث فساد المواد التموينية نتيجة تلوثها بالبكتريا والخمائر والفطور الموجودة في الهواء .وتعد الفطريات المفرزة للسموم من أهم الكائنات التي درست بشكل علمي في المواد الغذائية المختلفة المنتجة في الحقل خلال حصادها ونقلها وتخزينها (Wilson , 2001) . في معظم أنحاء العالم، كما درست الآثار الضارة والحالات المرضية التي تسببها هذه السموم (Daman, 2001).

تم التعرف على أربعة سموم أساسية تعرف بالافلاتوكسينات B1 , B2 , G1 , G2 التي توجد معاً في مختلف المواد الغذائية الملوثة وبنسب متفاوتة ، ويعد السم B1 أكثرها شيوعاً وأشدها سمية على الإنسان والحيوان بسبب تأثيره التراكمي في الكبد وتسبب هذه المركبات الإصابة بسرطان الكبد وتنخره وارتشاح الأدمة وتشوهات الجهاز الهضمي وخلل وظائفي في العمليات الحيوية في جسم الإنسان والحيوان (Maxwell , 1993) .

تتوقف كمية الأفلاتوكسينات الموجودة في الغذاء على نوع المادة الغذائية، وظروف تخزينها وأنواع الفطور الملازمة لها، حيث تكون نسبة الافلاتوكسينات في المنتجات النباتية كالفستق والبندق والقمح والذرة والأرز أكبر منها في المنتجات الحيوانية كالحليب ومشتقاته (Maxwell , 1993)

تعود خطورة الأفلاتوكسينات إلى صعوبة التخلص منها بشكل كامل في المواد الغذائية ومشتقاتها، وقد بينت الدراسات العلمية التي أجريت في هذا المجال أن المعاملات الفيزيائية كاستخدام الحرارة في تعقيم المواد الغذائية في درجة° 120 م تحت الضغط واستخدام الأشعة تؤدي إلى تخفيض كمياتها بنسب بسيطة، ويعود السبب إلى أن هذه السموم ثابتة حرارياً وغير قابلة للتحطيم بشكل كامل أما المعاملات الكيميائية كاستخدام الحموض والأملاح ومشتقات الأمونيا، فقد كان تأثيرها فعالاً في بعض الدراسات (Hasan ، 1996) .

السموم الفطرية هي نواتج أيضية ثانوية تنتجها بعض الفطريات القادرة جينيا على أنتاج السموم عندما تتوفر لها الظروف البيئية والغذائية مناسبة لإنتاج سمومها. تعد تعد السموم الفطرية من أقوى السموم المعروفة والتي تسبب أمراضا خطيرة بتراكيز ضئيلة تصل إلى اقل من 10 جزء في المليون ويرجع السبب إلى أنها مقاومة للحرارة بدرجة يصعب إتلافها بواسطة المعاملات الحرارية التقليدية المستخدمة في عمليات التصنيع والطهي و السبب الثاني أنها تنتشر بسرعة من مستعمرات الفطر إلى الأغذية لذلك فان إزالة الأجزاء المصابة بالفطر من الأغذية كما يفعل الكثير من الناس لا يؤدي إلى التخلص الكامل من السموم الفطرية المتكونة في هذه الأغذية ولذا يجب تجنب نمو الفطر على هذه الأغذية .

كما أن تأثير هذه السموم لا يظهر بسرعة وإنما لها تأثير تراكمي يظهر بعد – 10 20سنة من تناول الأغذية الملوثة بها والمشكلة الأخرى أنها لا تستحث الجهاز المناعي في الجسم كي يتم الكشف عنها ولا توجد لها علاجات دوائية للحد من تأثيرها وبذلك تشكل كارثة صحية على مستوى العالم (سعيد ومشعل ، 2016) .

المواد طرائق العمل :-

1- اطباق بثري بلاستيكية Disposble perti dises

2- cover slide

3- وسط PDA

4- عينات من العنب والمشمش المجفف

5- هايبوكلورات الصوديوم

6- ماء مقطر distal water

7- اوراق ترشيح filter papers

8- ماصات دقيقة Micro pipttes

9- كؤوس Beakers

10- شرائح زجاجية

11- دوارق مخروطية Conical flasks

12- دوارق حجمية مختلفة Volumetric flasks

13- اطباق بتري زجاجية Glass petri dishes

الاجهزة المستخدمة:-

1- المؤصدة Autoclave

2- الحاضنة Incubator

الاوساط الغذائية المستخدمة :-

وسط اكار البطاطة ديكستروز

يستخدم لعزل وحفظ وتحديد النسب المئوية لثبات بذور الحنطة وفحص حساسية الفطريات للمستخلصات النباتية المختبرة وتحديد عدد الابواغ والكسف عن قابلية الفطريات على انتاج الافلاتوكسينات

المضادات المستخدمة :-

الكلورامفينيكول chloramphenicol:- يمنع نمو البكتريا ضمن وسط نمو الفطر

جمعت 30 من ثمار الفواكه المجففة (التين ، المشمش ، والعنب المجفف (الزبيب)) من الأسواق المحلية في مدينة الديوانية ومن مواقع مختلفة وبمعل 10 عينات من كل نوع ، وضعت العينات في أكياس نايلون وجلبت الى المختبر ، عقمت العينات بمحلول KOH بتركيز 10 % ولمدة دقيقتين وذلك لتنقية السطح الخارجي للعينات من التلوث ، وضعت الثمار على أوراق ترشيح للتخلص من المحلول الزائد ، غسلت بالماء المقطر المعقم ، وقد تم اخذ مسحات من سطح الثمرة وكذلك من داخلها ، حضنت الاطباق بدرجة 25 م وفحصت بعد 4 أيام من الحضن ، ثم شخصت الأنواع المعزولة .

وتم تحديد نسبة الظهور أو الحدوث حسب المعادلة التالية :

$$\text{نسبة الظهور} = \frac{\text{عدد ظهور النوع الواحد}}{\text{العدد الكلي للعينات}} \times 100$$

دراسة قابلية الفطريات على انتاج الافلاتوكسين:

درست قابلية الأنواع الفطرية المعزولة على انتاج الافلاتوكسين بأستخدام الوسط الزرعي PDA . اذ تم نقل جزء من المستعمرة الفطرية النقية الى الاطباق الحاوية على الوسط الزرعي PDA وحضنت الاطباق في درجة 25 +1 ولمدة 7 أيام ، لغرض الحصول على مستعمرة كاملة قطر 9 سم ،ولغرض الكشف عن سم الافلاتوكسين استعمل محلول الامونيا بتركيز 25 % وذلك بأضافة 0,2 مل من هذا المحلول في منتصف غطاء الطبق و قلبت الاطباق ، وحضنت بدرجة 25 +1 م وتمت مراقبة الاطباق بعد اليوم الثاني من الحضن لملاحظة تغيير لون قواعد المستعمرات ، فأذا تغيرت لون قاعدة المستعمرة الى اللون الأحمر الوردي او الأصفر البرتقالي يدل ذلك على ان الفطر له القابلية على انتاج الافلاتوكسين وبخلافه فأن الفطر يعد غير قادر (Saito and Machida , 1999) .

النتائج والمناقشة

اشارت نتائج هذه الدراسة الى إصابة او تلوث ثمار الفواكه المجففة في مدينة الديوانية بالفطريات ، اذ عزل الفطر Aspergillus من هذه الثمار بنسبة عالية ، اذ وجد ان الفطر A.niger سجل اعلى نسبة ظهور 34.3% (12) عزلة يليه الفطر A.flavus وبنسبة ظهور 25.7% (9) عزلة ، كما عزل الفطر *Penecillium* وكان بنسبة ظهور 20% (7) عزلات ، وكذلك الفطر *Rhizopus* بنسبة ظهور 14.3 (5) عزلات ، وأخيرا الفطر *Mucor* كان اقل نسبة ظهور 5,7% (2) عزلتان فقط (الجدول 1) .

جدول (1) الأجناس الفطرية المعزولة والنسبة المئوية للظهور.

الاجناس الفطرية	الفواكه المجففة			العدد	نسبة الظهور %
	التين	المشمش	العنب(الزبيب)		
A.niger	6	4	2	12	34.3
A.flavus	7	2		9	25.7
Penecillium	3	3	1	7	20
Rhizopus	3	1	1	5	14.3
Mucor	2			2	5.7
المجموع				35	% 100

لقد قام الباحثان الغالبي و شاطر ، (2004) في اليمن بتحليل مستخلصات عينات الثمار المجففة (٦٠عينة) باستخدام .T.L.C للكشف عن تلوثها بالسموم الفطرية وقد وجد أن مستخلصات ٦ عينات من الزبيب المجفف و مستخلص عينتان من كل من البلح والتين ملوثة طبيعيًا بسموم الأفلاتوكسينات من النوع B1 ، كما تم التعرف على وجود سم الأوكراتوكسين فى ٤ عينات من التين المجفف ولم يتم إثبات وجودالسموم الفطرية الأخرى فى العينات المختبرة تحت الدراسة. وهذه النتائج جاءت مطابقة مع النتائج التي حصلنا عليها في هذا البحث .

وعند الكشف عن قدرة هذه الأنواع على افراز الافلاتوكسين ظهر ان اغلب الفطريات المعزولة لها القدرة على انتاج الافلاتوكسين على الوسط الزرعي PDA وذلك من خلال تغير لون قواعد المستعمرات الى اللون الأحمر الوردي او الأصفر البرتقالي بأستخدام محلول الامونيا (جدول 2) .

جدول (2) قابلية الاجناس الفطرية على انتاج الافلاتوكسين .

الاجناس الفطرية	انتاج الافلاتوكسين
A.niger	+
A.flavus	++
Penecillium	–
Rhizopus	+
Mucor	+

المصادر

سعيد ، سيناء وليد و مشعل ، خولة إبراهيم . (السموم الفطرية ومخاطرها) . (2016) كلية العلوم ، جامعة بغداد .

الغالبى سعيد منصر ، و شاطر عبد الرحمن محمد (2004) . (الفلورا الفطرية والسموم الفطرية الملوثة لبعض الثمار الجافة فى اليمن) . قسم البيولوجى- كلية العلوم- جامعة صنعاء .

Maxwell, S. M. 1993. Aflatoxin and child health. Postgraduate-Doctor-Africa, United Kingdom v. 15(3) p. 57-59.

Hasan, H. A. H. 1996. Destruction of Aflatoxin B1 on Sorghum grain with acids, salts and ammonia derivatives.Cryptogamie-Mycology (France). (Jun). v. 17(2) p. 129-134.

Daman, K.E. 2001; Mycotoxin in Food and Feed Grain. Minutes of Annual Meeting of Southern Regional Information Group-51, Annual Report 2001- Atlanta.

Wilson, P. M. 2001. Mycotoxin in Food and Feed Grain. Minutes of Annual Meeting of Southern Regional Information Group, 51 Annual report, Atlanta.

اقرر المشرف

اشهد ان مشروع البحث المعنون (تقييم القدرة السمية لبعض الفطريات المرافقة لبعض الأغذية المجففة في مدينة الديوانية)

اجري تحت اشرافي في قسم علوم الحياة /كلية التربية / جامعة القادسية

وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

التوقيع:

الاسم: د. مثال كريم عباس

اللقب العلمي:

التاريخ : / / 2019