((بسم الله الرحمن الرحيم))

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية العلوم

قسم علوم الحياة صباحي

عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لنباتي الفجل والكرفس وكفاءة بعض المعقمات في السيطرة عليها .

بحث مقدم الى رئاسة قسم علوم الحياة كجزء من متطلبات درجه بكالوريوس في علوم الحياة

من قبل الطالب

امير عبد كاظم حميد

إشراف: -

أ.د. عبد الأمير سمير سعدون

2019م 1440هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمنِ الرَّحِيمِ

(وَمَا أُوتِيتُمْ مِنَ الْعِلْمِ إِلَّاَّ قَلِيلاً)

(صدق الله العلي العظيم)

(الاسراء : ٨٥)

الاهداء

الى من انزل عليه القران وبعث بالقران واوصى بالقران

علينا حتى نلقاه (صلى الله عليه واله وسلم)

الى من ارفدني بالعلم والمعرفة .... اساتذتي

الى من اضاء لي قناديل الحياة .... ابي

الى شجرة الحب والظل الوافر ونبع الحنان .... أمي

الى شجرة الخير التي تضيء حياتي بالحب دوما ..

الى احبتي واعزائي .... اخوتي واخواتي ..

الى من يرجون لي الخير دوماً .... الاصدقاء الاحبة ...

اهدي جهدي المتواضع ....

الشكر والتقدير

لا يسعني – بعد ان انجزت البحث بعون الله – الا ان اتقدم بالشكر والتقدير

والعرفان الى الاستاذ الدكتور أ.د . (عبد الامير سمير سعدون)

والسيد رئيس قسم علوم الحياة الدكتور (أ.م.د. حبيب وسيل كاظم) ولكل من مد لي يد

العون لأنجاز هذا الجهد المتواضع الذي لا يشكل الا خطوة في الطريق الطويل المنار

بنور مشاعل اساتذتي الاجلاء ...

الا ان اتقدم بجزيل الشكر لأني لا املك حق الاهداء

فكيف لي ان اهدي شيئاً هو ليس لي ؟

انا فقط املك حق الشكر لا اكثر ...

فشكراً على طول بالك ... وعلى صبرك ...

لا املك الا هذه الكلمة التي تحمل الكثير من معاني الامتنان والعرفان

التي تنثني اجلالاً وتقدير على وجه الخصوص استاذي الفاضل

أ.د . (عبد الامير سمير سعدون) ... الذي سدد خطواتي لبلوغ ما اردت

تمنياتي بالتوفيق والسداد والتقدم

الخلاصة Abstract: -

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لنباتي الكرفس والفجل وأشارت النتائج الى عزل حوالي سبع أنواع من الفطريات وهي الاجناس

(*Alternaria* sp، *Pencilium* sp، *Fusarium* sp *Candida* sp، *Aspergillus* sp *)*

وكان أكثر الفطريات ترددا هو فطر *Pencillium notatum* بنسبه تردد 26.6% ثم بقية الفطريات.

وتم دراسة كفاءة المنظفات (الزاهي والقاصر والديتول) في الحد من بعض الفطريات المعزولة وتم اختيار الفطر ***Aspergillus*** كمثال لمعرفة كفاءة المنظفات عليه علما ان العزلات تم اخذها من أجزاء مختلفة من الخضر (الجذر والأوراق والساق) وكانت النسبة العالية لتثبيط نمو الفطر من قبل للمنظفات هي للمنظف (القاصر ثم الديتول ثم الزاهي) حيث اعطيت نتائج في تثبيط الفطر، وبلغ مجموع معدل النمو(19, 21.1, 30.9)على التوالي للتراكيز المستخدمة وهذا يثبت الكفاءة العالية لبعض المنظفات في توقف النمو.

المقدمة Introduction: -

تعد الخضروات مثل الفجل والكرفس من اهم الخضروات التي يتناولها في غذائه.

حيث يتناولها الانسان في غذائه. يوميا .

ويقوم الانسان بغسلها وتناولها عن طريق فمه بصورة مباشرة مما يؤدي الى اصابته ببعض الامراض إذا ما كانت هذه النباتات ملوثة بالفطريات الممرضة وبهذا تعتبر هذه الخضروات ناقلا جيدا للأمراض وخاصة الامراض الرئوي التي يسببها جنس (*Aspergillus*).

الفطريات هي كائنات غير ذاتية التغذية (Heterotrophic) تتغذى على الامتصاص يكون جسمها هلامي في الغالب خيطي ومنها ما يكون احادي الخلية (unicellular) ومنها ما يكون متعدد الخلايا (multicellular) تتجمع هذه الخيوط لتكون غزل فطري الميسيليوم ويكون اما مقسم او غير مقسم يسمى مدمج خلوي. (شريف 2012)

الفطريات بطبيعة الحال هي غير متحركة فيما عدا بعض الجراثيم التابعة لبعض أنواع الفطريات حقيقية النواة. هنالك بعض أنواع من الغزل الفطري اما متعدد الانوية متماثل او متعدد الانوية غير متماثل.

تتكاثر الفطريات اما جنسيا او لا جنسيا. تشابه الخلايا النباتية في احتواءها على الجدار الخلوي وتختلف عنها بعدم وجود البلاستيدات الخضراء فيما تحتوي كل العضيات الخلوية. العضيات ما عدا البلاستيدات التي تكون مفقودة. تكون مسؤولة عن ايض الفطر وإنتاج السموم والبروتينات. (alnaimi, 2001)

من ابرزالسموم المنتجة وأكثرها خطورة هي سموم الافلاتوكسين والاوكراتوكسين والتي تعد من أخطر الملوثات الغذائية في الوقت الراهن لما لها من تاثير مباشر على صحة الانسان وخاصة الامراض السرطانية. (سعيد، ١٩٨٥)

الفجل Radish :- من الخضروات الجذرية المأكولة، يتبع الفصيلة الصليبية تؤكل جذور الفجل الأبيض أو الأحمر كجذور أو أوراق وتعمل على تنشيط الشهية للطعام وهاضم. وعصير جذور الفجل الأسود لعلاج سوء الهضم والإمساك .وعصير الفجل بصفة عامة ملين ومدر للمرارة. والبعض حساسون لحموضته. ولو سحقت الجذور تستعمل كلبخة للحروق والكدمات ورائحة القدم .وأوراقه وبذوره وجذوره تعالج الربو ومشاكل الصدر .وعصير الأوراق الطازجة ملينة ومدرة للبول .وبذوره تعالج الإمساك , الإسهال .والفجل بصفة عامة مفيد للحويصولات المرارية وبه مادة raphanin المضادة للبكتريا والفطريات والأورام، ويحتوي على جلوكوز وفيتامين ج . ورافانين وهو مضاد حيوي جيد، كما يقلل من إنتاج هورمون الغدة الدرقية بصورة طبيعية كما تفعل جميع نباتات الفصيلة الصليبية وهي (البروكليوالقنبيط واللفت أو الشلغم) (Carlous linios 1788)

الكرفس :- نوع نباتي يتبع جنس الكرفس من الفصيلة الخيمية .الكرفس من الخضروات تؤكل سوقه وأوراقه نيئة أو تدخل مع الطبخ، وعموماً يعتبر عنصراً رئيسياً للسلطات .الكرافس نوع مختلف عن المقدونس الذي يشبهه بالشكل ويستخدم كبديل له في السلطات والطبخات مثل الفتة. الكرفس خضرة مفيدة لانقاص الوزن. بفضل عصير الكرفس الذي يحتفظ بفيتامیناته وبخصائصه المدرة للبول فإنه يستعمل في الأنظمة الغذائية التي تتبع لمكافحة السمنة، كما أن ملح الكرفس تابل جيد يستعمل بدلا من الملح العادي. ظهر من تحليل الكرفس انه يحتوي على فيتامينات أ، ب، ج ومعادن منها الحديد واليود والنحاس والماغنيسيوم والبوتاسيوم والكالسيوم والفسفور وعناصر كيماوية مهدئة. ويصلح الكرفس لكل الأشخاص ذوي الصحة الجيدة ويؤكل نيئا، مفروما، وناعما أو يعلك بالاسنان ويمنع فقط عن ذوي الأمعاء الضعيفة والمصابين بعسر الهضم. كما ينصح بتناوله للمصابين بالسمنة والبدانة والسكر والتهابات المفاصل والروماتيزم والتهاب الكلى ويستعمل مقويا عاما لخلايا الجسم ومرطبا ومدرا لمجاري البول والدم ومضادا لعسر الهضم والسمنة. (Carlous linios 1788)

فطر Aspergillus:-

هو جنس من الفطريات الزقية تعرف انواعه بالرشاشيات تسبب امراض كثيرة للإنسان والنبات من احد الامراض النباتية الشائعة هي امراض التي تصيب البصل بعد القطف حيث تظهر الابواغ السوداء بين قشور البصل والفطر المسؤول عن هذه الحالة هو الفطر *Aspergillus niger* الذي يدعى بالرشاشية السوداء والتي تنتج بعض ذينفيانات (سموم) يطلق عليها اوكراتوكسين. (Barnett &Hunter,1972)

وقد سمي هذا الفطر بالرشاشيات لانه يشبه مرشة الماء وقد تدعى باللاتيني Aspergillum ومنه اشتق اسم *Aspergillus* عام ١٩٩٢.
(Kown & chung& Bennett,1992)

تصنف الكثير من الأنواع التابعة لجنس Aspergillus بأن الطراز الجنسي لها غير معروف مثل
(*A.niger, A.flavas, A.parasiticas, A.oryzae, A.fumigatus*)

اذا انها تمتلك تراكيب ثمرية وتكاثرية عميقة مثل الاجسام الثمرية وخلايا هول (Hull cell) إلا ان بعضها تتكاثر جنسيا وتكون ابواغ كيسية داخل كيس (Asci) منتظمة مطمورة ضمن جسم ثمري كروي الشكل. (Webster &weber, 2007)

إن فطر الرشاشية الصفراء يسبب العديد من الامراض للإنسان والحيوان وذلك بسبب انتاجها للافلاتوكسين والتي تعتبر مادة مسرطنة وسمية في آن واحد كما ان العوامل المسببة للحساسية كما تسبب امراضا للنباتات خطيرة.
(Domsch&Anderson,1980)

التصنيف العلمي Scintific classification :- (Webster &weber, 2007)

Kingdom:- Mycota

Super Phylum:- Eumycota

Phylum:- Ascomycota

Class:- Eurotiomycetes

Order:- Eurotiales

Family:- Trichocomaceae

Genus:- Aspergillus

ينتمي جنس الاسبرجلس الى الفطريات الخيطية ذات الانتشار الواسع في الطبيعة اغلب الأنواع تكون رمية المعيشة والبعض الاخر انتهازي ممرض للإنسان تختلف أنواع هذا الجنس في بعضها البعض في الصفات وشكل المستعمرات ولونها ولون ظهر المستعمرة بالإضافة الى الاختلاف في شكل المستعمرة وصفاتها المجهرية مثل شكل وحجم الحويصلات والميثولات والفاليدات والكونيدات وتنتج الكونيدات بشكل سلاسل تنشأ من تركيب مركزي وبترتيب شعاعي وتظهر بشكل قالب يشبه مرشة الماء ومن هذا أتت تسمية الجنس بالرشاشيات.

(Kown & chung& Bennett,1992)

تعد الإصابة بالانواع المختلفة من فطر ***Aspergillus*** من اكثر الإصابات الفطرية الأكثر شيوعا والأكثر تكرارا من بين الإصابات المعدية كما تعتبر الأنواع التابعة لهذا الجنس ممرضة انتهازية تنتشر بكثرة في التربة والهواء وتتمكن من النمو في أي وسط حي مثل PDA

تحدث الإصابات الرئوية بالرشاشيات بسبب استنشاق ابواغ (Air bone) اذا تتمكن هذه الابواغ من الوصول الى الاسناخ الرئوية . (إسماعيل، ٢٠٠٨)
حيث هذه الابواغ تسبب داء الرشاشيات الرئوية.

يستطيع أنواع فطر ***Aspergillus*** افراز الافلاتوكسين والاوكراتوكسين والتي تسبب الامراض السرطانية والطفرات وتسبب مجموعة كبيرة من الامراض والاضطرابات للإنسان والحيوان من الناحية المرضية كسرطان الكبد واورام الجهاز التناسلي والاجهاض والنزف الدموي وبذلك فقدان الجسم لتوازن السوائل الداخليه (Homosiesis) ويؤدي الى بعض الحالات والوفيات وفقدان في اتزان النظام البيئي. (سعيد، ١٩٨٥)

يعد فطر اسبرجلس من اهم الفطريات المعروفة في تاثيرها على العديد من المحاصيل الزراعية من ضمنها الفواكه والخضروات وذلك لقدرتها على انتاج مواد الايض الثانوي والتي تعرف بالسموم الفطرية (Mycotoxin) والتي تسبب الكثير من الاضطرابات للإنسان والحيوانات ومن أهمها هي سموم الافلاتوكسين والاوكراتوكسين التي تسبب عدة امراض اشهرها الامراض السرطانية.

(Abdel-Hafez, 1981)

فطريات هذا الجنس تسبب خسائر اقتصادية كبيرة وذلك بسبب تأثيرها على حيوية البذور ونسبة الانبات وتقليل مستوى الإنتاج الزراعي كما يذكر ان قدرة هذه الأنواع على انتاج السموم الفطرية (Mycotoxin) التي هي عبارة عن نواتج ايض ثانوية مشتقة من المركب (Difuranocounmairiue) حيث تعمل هذه السموم على تحويل نظام الخلية المؤكسد الى مخمر بفعل الانزيمات التي تحميها من التحطم

بالاوكسجين والاستفادة من السكر الموجود في تجاويف الجسم الخاملة كمصدر للطاقة. (Tran& Mitchell, 1995)

اشارت بعض المصادر الى تاثير المستخلصات النباتية والزيوت الطيارة الى إيقاف النمو الاشعاعي لفطر الاسبرجلس (*Aspergillus*) حيث وجد ان مستخلص نبات الدارسين والزيت الطيار لنبات القرنفل توقف نمو *A.flavas* وتوقف او تثبيط فعاليته في انتاج سموم الافلاتوكسين المسرطنة.

كما وجد ان الزيت المستخرج من الحبة السوداء يثبط نمو *A.niger* ويوقف انتاج سموم الاوكراتوكسين. (Miller, 1959)

تستخدم العديد من سلالات *A.niger* لانتاج حامض الستريك بكميات كبيرة مع اجراء بعض التحسينات على ضروف ومراحل الإنتاج ويستخدم هذا النوع من الفطريات لانتاج حامض الستريك بعدة أسباب أهمها سهولة عزله وامتلاكه نظام انزيمي متطور وقابليته على تخمير كمية كبيرة من المواد الخام الرخيصة الثمن وعالية الإنتاجية. (السوداني، ٢٠١٥)

Aspergillus niger :- الرشاشيات السوداء هي احدى أنواع جنس *Aspergillus* تظهر على الوسط الغذائي PDA بلون اسود غامق او اسود مائل الى الجوزي ذات انسجة مرتبطة غير مفككة وطبيعة مخملية (Velvety)

الخيوط الفطرية تكون مقسمة ومتفرعة، الحوامل الكونيدية تنشأ على خلايا قدمية وتكون مثخنة الجدران ذات لون احمر الى جوزي وذات طبيعة ناعمة، طول الحامل حوالي (2200-800) مايكرومتر وتتسع نهاية كل حامل لتكون حويصلة كروية الشكل تشبه القرفة او القبة اما الفاليدات في هذا النوع تكون ثنائية التفرع الأولية تكون طويلة يبلغ طولها 15- 30 مايكرومتر والثانوية تكون قصيرة يبلغ طولها (5-10) مايكرومتر تحمل كونيدات والتي تكون كروية الشكل يبلغ قطرها (4,5-3) مايكرومتر خشنة ذات حواجز داخلية ولون جوزي. (Mustafa, 1982)

المواد وطرائق العمل :-

-عزل الفطريات:-

تم عزل الفطريات الموجودة على نباتات الفجل والكرفس الموجودة في الأسواق التجارية وزراعتها على وسط PDA داخل اطباق بتري بواقع ثلاث نماذج لكل طبق وفي ظروف معقمة، وحضنت الاطباق في درجة حرارة 25 درجة لمدة 7 أيام ثم فحصت الاطباق لمعرفة المزروع الفطري الناتج والفطريات الناتجة وجرى عزل كل نمو فطري على حدة في ظروف معقمة ثم جرى فحصها تحت المجهر للتأكد من الأنواع.

تقدير نسبة تردد الفطر

النسبة المئوية للتردد= (عدد العزلات الكلية)/(عدد العزلات للفطر)×١٠٠%

_ تأثير المعقمات على نمو الفطر (*Aspergillus*)

استخدمت عدة مواد لبيان تأثيرها على الفطريات المعزولة ومنها القاصر والزاهي والديتول كما في الجدول رقم ١ .

جدول يبين المعقمات المستخدمة لقياس تأثيرها في نمو فطر *Aspergillus*: -

((جدول رقم 1))

اسم المادة المنظفة	النوع	التركيز %
القاصر	القاصر التجاري	1,2,3
الزاهي	زاهي الوزير بالبرتقال	1,2,3
الديتول	الديتول المنظف	1,2,3

تم دراسة المنظفات في النمو الاشعاعي للفطر على وسط PDA بإضافة المنظفات وبتركيز (1,2,3)% الى الوسط الغذائي قبل تصلبه وبعد تصلبه الوسط أضيفت قطعة من نمو الفطر في المختبر من وسط الطبق بواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وتم حساب معدل النمو الشعاعي للفطر بعد وصول النمو في معادلة مقارنة حافة الطبق.

..النتائج والمقارنة والمناقشة: -

العزل Isolation: -

عملية العزل تمت من خلال اخذ العينات من سطح الخضروات واهمها الفجل والكرفس ومن أجزاء مختلفة من النباتات وجذر وساق اوراق وتعطي نسبة متفاوتة في الفطريات..

((فيما يلي جدول يوضح نسبة تردد كل فطر على الوسط))

((جدول رقم 2))

الفطريات المعزولة	نسبة تردد الفطر	
	الكرفس	الفجل
Penicilium notatum	26,6	21.5
Penicilium digitatum	9,3	11.2
Aspergillus niger	16,1	15.7
Aspergillus flavas	10,3	14.8
Fusarium sp	11,4	8.6
Alternaria sp	10	11
Candida albicans	16,3	17.2

الجدول رقم ((2)) يبين النمو الفطري من أماكن العزل على سطح الخضروات

كما هو موجود في الجدول وقد تباين الأنواع الفطرية المختلفة وذلك تعتمد على مكان العزل ونوع النبات وبالاتي معرفة الفطريات ذات النمو العالي والنمو المتوسط، فقد كان فطر *Penicilium notatum* اعلى ترددا من الفطريات فيما كان فطر *Candida albicans* يأتي في المرتبة الثانية فيما كان النوع الاخر من *Penicilium digitatum* اقل ترددا في الفطريات. وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (الكيلاني 2014) و (شريف 2012) .

شكل يوضح فطر *Aspergillus niger* تحت المجهر

تأثير المعقمات في نمو فطر *Aspergillus niger*

بعد تنقية فطر *Aspergillus niger* أجريت التجربة على تأثير المنظفات على نمو الفطر في تراكيز 1%,2%,3% ومقارنة النتائج موضحة في جدول رقم ٣

جدول رقم (3) يبين تأثير المنظفات على النمو الشعاعي للفطر *(A. niger)* في نبات الكرفس

ت	التركيز	قاصر	زاهي	ديتول
1	بدون تركيز	9cm	9cm	9cm
2	1%	6.7	8.2	7.4
3	2%	3.3	7.4	4.5
4	3%	0	6.3	0,2
5	المجموع	19	30.9	21.1

نلاحظ من الجدول بأن المنظفات مختلفة التأثير على الفطر وهذا حسب تركيبها الكيميائي حيث ان نسبة منظف القاصر كانت له نسبة تثبيط أكبر للفطر وخاصة في تركيز 3% حيث كان معدل النمو 0,0% ويليه الديتول الذي كان معدل النمو 0,2% في تركيز 3% وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (اليوسف 2005) وهذا مايثبت ان افضل المعقمات المستخدمة لتقليل اعداد وانواع الفطريات المرافقة للكرفس والفجل هو القاصر 3% وهي تعطي حماية كبيرة من الفطريات المرافقة

المصادر باللغة العربية :-

١- إسماعيل محمد، عبير طاهر (2008)، كتاب الطفيليات والفطور الطبية، منشورات جامعة دمشق، كلية الطب البشري ص458.

٢- سعيد، كامل كزار (1985)، وجود الافلاتوكسين والاوكراتوكسين في بعض المنتجات الغذائية، المجلة العراقية للعلوم (زانكو)، المجلد 3 العدد 16، 177-2 .

٣- السوداني ، علي عبد الهادي ماهود (2015) الخصائص المظهرية والجزيئية للفطر *Aspergillus niger* وتقييم قابليته في إنتاج حامض الستريك تحت ظروف مختلفة ، أطروحة دكتوراه كلية التربية ، القادسية ، ص١٥ .

٤- عبد الله ، حسوني جدوع صبا رياض حقير، أشرف سامي حسن (2015)، بيئة الحيوان والنبات والاحياء المجهرية، دار دجلة عمان 2015 ص 260

٥- العروسي ، حسين وعماد الدين وصفي، الباب الخامس (1994) ، المملكة النباتية ص95.

٦- شريف، فياض محمد (2012)، الفطريات الطبية، الذاكرة للطباعة والنشر ص468.

٧ - عبود ، غدير كاظم (2017) دراسة مناعية لمستضد متعدد السكريات للفطر *Aspergillus_niger* في الارانب ، رساله ماجستير . كلية الطب. القادسية . ص11.

٨- الكيلاني ، عامر عبد الفتاح ، (2014) الموسوعة الطبيعية، ص181 .

٩- اليوسف ، عبد الأمير سمير سعدون (2005)، تقييم كفاءة أنواع جنسي *Penicilium, Aspergillus* المعزولين من الأرز على افراز انزيم Phytase. أطروحة دكتوراء كلية التربية ، القادسية .

المصادر باللغة الأجنبية :-

_ Abdel Hafez. S.H.(1981) Hlophilic fungi. Between fungal pathogen and leaf surface

_ Al-naimi, e.h(2001).The effect of ochratox A produced by the Aspergillus niger Liver of rates. Alight and electron microscopic study.MSC.thesis. collage of scince sadda university Iraq .

_ Barnett, H.L. & Hunter, B.B.(1972). Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishers Company, Minnesota, 3 rd ed .

_ Domsch, K.H.; Gams, W. & Anderson, T.H.(1980). Compendium of soil fungi. Academic prees, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco, Vol .

_ Kown-Chung, K.J. & Bennett, J.E.(1992). Medical Mycology. Philadelphia, Lea and

Febiqer. P: 866

_ Logothei. M.A. Tseleni :- G.Arseeis. N.Legakis (2009) Discrimination of A.flavas, A.niger, A.fumigatus Journal of microbiological method. 79, 209-211 p.

_Miller, G.L.(1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugar. J. Ana. Chem, 31 (3): 426-429.

_ Moustafa, A.F.(1982). Taxonomic studies on the fungi of Kuwait. Aspergilli. Kuw. J. Sci, 9: 245-260 .

_ Samson R.A(1994) Current systematics of the gens Aspergillus. In the genus Aspergillus. From taxonomy and industrial plenum , London. 261-297 .

_ Tran, C.T. & Mitchell, D.A.(1995). Pineapple waste-A novel substrate for citric acid production by solid-state fermentation. Biotechnol. Lett, 17 (10): 1107- 1110 .

_ Warcne. J.H.(1950). The soil plate methoud for isolation of fungi from soil. Nature Ioden. 66-118 .

_ Webester, J. & Weber, R.W.S.(2007). Introduction to fungi. 3 rd ed, Cambridge. PP: 875.