مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (31) العدد (4) 2009
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (31) No. (4) 2009

اختبار سمية عزلات فطرية من عينات بذور وكسبة فول الصويا تابعة لأنواع *Aspergillus* spp.، *Penicillium* spp. باستخدام بعض الاختبارات الحيوية

الدكتورة صباح المغربي*
الدكتور محمود حسن**
نهى عليو***

(تاريخ الإيداع 14 / 7 / 2009. قبل للنشر في 30 / 9 / 2009)

□ ملخّص □

تم اختبار سمية /116/ عزلة فطرية نقية تابعة لأنواع *Aspergillus* spp. و *Penicillium* spp. على إنبات بذور الرشاد *Lepidium sativum* (Ls)، نمو سلالة من البكتريا *Bacillus subtilis* (Bs) FZB27، وفطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* (Sc)، وذلك على ثلاثة مستنبتات غذائية: تشابك آجار CA، خلاصة المالت والخميرة والآجار MYA وآجار الصويا والتريبتون TSA.

أظهر اختبار Ls سمية العزلات بشكل كبير حيث منعت 69، 61 و56 عزلة على المستنبتات TSA، CA، MYA على التوالي إنبات بذور الرشاد، وكان عدد العزلات السامة في اختباري Bs وSc منخفضاً مقارنة بالاختبار السابق (7، 17، و14 في Bs، و6، 7 و6 في Sc) وذلك على المستنبتات السابقة نفسها وبالترتيب ذاته، وبدت سمية العزلات واضحة على مستنبت TSA في اختباري Ls وSc تلاه مستنبتي CA وMYA، في حين كانت السمية أعلى على مستنبت CA في اختبار Bs تلاه مستنبت TSA ومن ثم MYA، ولوحظ منع النمو بشكل رئيسي في التركيز الأعلى (20 ميكروليتر) في الاختبارات الثلاثة وعلى كل المستنبتات.

الكلمات المفتاحية: العزلات الفطرية– السمية– الاختبارات الحيوية.

* أستاذ – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.
** أستاذ – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.
*** طالبة دراسات عليا (ماجستير) – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (31) العدد (4) 2009
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (31) No. (4) 2009

Determining The Toxicity of Fungal Isolates from Soybean Seeds and Meal Belonging to *Aspergillus* SPP. And *Penicillim* SPP. By Using Some Bioassays

Dr. Sabah Almaghribi[*]
Dr. Mahmud Hasn[**]
Noha Alio[***]

(Received 14 / 7 / 2009. Accepted 30/9/2009)

□ ABSTRACT □

The toxicity of /116/ pure fungal isolates belonging to *Aspergillus* spp. and *Penicillim* spp. was tested on the germination of garden cress *Lepidium sativum* (Ls) seeds, the growth of bacterial strain *Bacillus subtilis* (Bs) FZB27, and the yeast fungus *Saccharomyces cerevisiae* (Sc), using three media CA, MYA, and TSA.

The toxicity of isolates was evident with the Ls test, in which 69, 61, 56 toxic isolates on TSA, CA, MYA consecutively inhibited the germination of garden cress seeds. The number of toxic isolates with the Bs and Sc tests was low compared to Ls (7, 17, 14 for Bs and 6, 7, 6 for Sc) consecutively on the previous media. The toxicity of isolates was clear on TSA medium with Ls and Sc tests followed by CA and MYA, while it was higher on CA medium with Bs test followed by TSA and MYA. The inhibition of growth was observed at the higher concentration (20 Micro liter) using the three tests and on all media.

Key words: Fungal isolates - Toxicity - Bioassays.

[*]**Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
[**]**Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
[***]**Postgraduate student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

يشتق اسم السموم الفطرية Mycotoxins من مقطعين يونانيين هما الفطر Mykes والسم Toxikion، وتعني السموم التي تفرزها الفطور بوصفها نواتج استقلاب ثانوية، وتؤدي إلى تغيرات مرضية أو فسيولوجية للنباتات والحيوانات والإنسان (Bennett & Klich, 2003)، وهي مركبات منخفضة الوزن الجزيئي وتضم كثيراً من الأنواع المختلفة في الصيغة الكيميائية وفي السمية، وتشترك معاً في أنها تسبب أمراضاً للإنسان ومختلف الفقاريات الأخرى بتراكيز منخفضة كما أن كثيراً منها يبدي سمية للافقاريات والنباتات والكائنات الدقيقة (Bennett, 1987).

وتُعدُّ الأجناس *Aspergillus*، *Penicillium*، *Fusarium* هي الأجناس الرئيسية المنتجة للسموم الفطرية؛ إذ إن العديد من الأنواع التابعة لها يمكن أن ينتج السموم إما قبل الحصاد أو بعده؛ خلال النقل والتخزين؛ أو في أثناء تقديم الأعلاف أو تحضيرها، ويرتبط نمو تلك الفطور وإنتاجها للسموم بالظروف البيئية من حرارة ورطوبة نسبية ومحتوى رطوبي وإصابات حشرية وغيرها (Coulumbe, 1993)، ومن أهم تلك السموم: الأفلاتوكسينات Aflatoxins وهي عائلة مؤلفة من مركبات سامة جداً ومطفرة ومسرطنة تنتج من قبل النوعين *A. parasiticus* Lat و *A. flavus* Link ex Fries (Deiner *et al*., 1987)، ويؤدي تلوث الأعلاف بهذه السموم إلى تسمم البط والدجاج والرومي حيث تؤدي إلى تضخم الكبد والكلية في البط والدجاج وخمول وفقدان شهية وترنح وفقر الدم ثم الموت، ويتوضع أعلى تركيز لهذه السموم في الكبد والكلية والقانصة (الشيخلي، 2003)، كما تؤثر الأفلاتوكسينات في الحيوانات الأخرى فقد تؤدي إلى تسمم صغارها وموتها وإحداث اضطرابات مختلفة للحيوانات البالغة (Oliveira *et al*., 2006)، ويتعرض الإنسان للأفلاتوكسينات وغيرها من السموم مباشرةً من خلال تناول غذاء ملوث أو عن طريق الاحتكاك مع الجلد أوالاستنشاق عند التعامل مع علف ملوث في أثناء خدمة الحيوان، أوبشكل غير مباشر من خلال تناول حليب وبيض ولحوم ومشتقات الحيوانات التي استهلكت علفاً ملوثاً (Schiefer, 1990; Hayes, 1980).

وهناك الأوكراتوكسينات Ochratoxin التي لا تقل أهمية عن الأفلاتوكسينات وتنتجها بعض الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus* مثل *A .ochraceus*، *A. glaucus*، *A. niger* (Bayman *et al*., 2002)، وبعض أنواع الجنس *Penicillium* منها *P. viridicatum*، وتُعدُّ من السموم الكلوية لكل أنواع الحيوانات (Creppy, 1999) وهي من أقوى السموم التي تصيب الدواجن، ووجد بأن لها سمية كبدية ومناعية وتُعدُّ من المواد المسرطنة (Goodman & Scott, 1989)، وقد وجدت هذه السموم في دم وحليب وأنسجة الحيوانات (Marquardt & Frohlich, 1992).

وبالتالي فإن تلوث المواد الغذائية والعلفية بمختلف أشكالها بالفطور المنتجة للسموم الفطرية قد دفع العلماء لإيجاد طرائق للكشف عن وجود هذه المواد وتحديد مدى خطورتها وسميتها (Gaag *et al*., 2003)، ومن أكثر الطرائق الشائعة المستخدمة لقياس السموم الفطرية طرائق الكروماتوغرافيا المختلفة (HPLC، TLC، GC) وتقانة أطباق إليزا ELISA، ولكن لا تزال الحاجة ملحة لطرائق أخرى دقيقة وبسيطة وأقل تكلفة بحيث يمكن استخدامها بوصفها أداة مراقبة للتقدير السريع للسموم الفطرية (Sarter & Zakhia, 2004)، لذلك فقد ازدادت أهمية الاختبارات الحيوية مؤخراً في الكشف عن السموم الفطرية كونها تعطي مؤشراً أساسياً قبل القيام بالتحاليل الكيميائية المكلفة (Maragos, 2004)، وتُعدُّ بديلاً هاماً في حال عدم إمكانية التحليل الكروماتوغرافي وغياب مادة السم القياسية (Standard) اللازمة لهذا التحليل، وقد تنوعت الكائنات المستخدمة في مثل هذه الاختبارات كاستخدام نبات الرشاد

Lepidium sativum لدراسة سمية 19 عزلة فطرية مستخلصة بالأسيتون معزولة من مجموعة من المواد الغذائية حيث منعت ثمانية عزلات إنبات البذور(Fromentin *et al*., 1983)، ودرس فضلاً عن ذلك تأثير المستخلصات الفطرية في انحلال الدم وحدوث طفرات في DNA البكتريا *Bacillus subtilis* والخميرة *Saccharomyces cerevisiae* ومنع نمو البكتريا والخميرة كمضاد حيوي (المغربي، 1986).

وفي تجربة اختبر فيها 48 سماً فطرياً مختلفاً تعود لمجموعة من الأجناس أهمها *Aspergillus*، *Penicillium*، *Fusarium* كمضاد حيوي للبكتريا *Bacillus thuringiensis* وجد بأن معظم هذه السموم كان لها نشاطاً مشابهاً لنشاط المضادات البكتيرية، فضلاً عن ملاحظة تشوهات في حجم الخلايا الأمر الذي قد يدل على التأثير المسرطن والمطفر لهذه السموم (Boutibonnes *et al*., 1983).

وتُعدُّ يرقات القريدس البحري *Artemia salina* شديدة الحساسية للسموم الفطرية حيث كشف بوساطتها عن السموم الفطرية في 60 عينة من الزبيب والتين والتمر إذ وجد بأن 25% من مستخلصات هذه العينات كانت سامة (Alghalibi & Shater, 2004)، كما كانت مستخلصات 42 عزلة تابعة للأجناس *Aspergillus*، *Fusarium*، *Penicillium* سامة على الكائن السابق (Abdel-Mallek *et al*., 1993).

وتؤثر محاليل الاستخلاص في السمية إذ وجد بأن الاستخلاص المائي للفطر *Rhizopus stolonifer* كان ساماً جداً بعد حقنه في الأرانب في حين أبدى الاستخلاص بالأسيتون لهذا النوع سمية متوسطة على الأرانب عندما اختبر على العيون والجلد (Reiss, 1993)، كما أن التركيب الكمي والنوعي للمستنبتات الغذائية له تأثير في سير العمليات البيولوجية المخلقة للتوكسينات إذ وجد أن خليط الجلوكوز والفركتوز بنسبة 2:1 يعطي أعلى كمية من إنتاج الأفلاتوكسينات، كما أن اختلاف مصدر النتروجن يؤثر في التوكسين الناتج فالنوع *Pencillium baarnense* عند نموه على مستنبت تشابك دوكس Czapek-Dox المحتوي على نترات ينتج حمض الأورسيليك Orsellic Acid بينما ينتج بارنول Baarnol على مستنبت Raulin-Thom المحتوي على أمونيا (عبد الحميد، 2000).

أهمية البحث وأهدافه:

يمكن أن يعطي عزل الأنواع الفطرية من مواد غذائية وعلفية وتحديد سميتها مؤشراً على قدرة تلك الأنواع على إنتاج سموم فطرية في تلك المواد وعليه يمكن الاعتماد على الاختبارات الحيوية الرخيصة والسهلة التنفيذ والمتوافرة في بيئتنا لتحديد سمية الأنواع الفطرية المعزولة قبل القيام بتحليل العينات بالطرائق الكيمائية المكلفة والتي تحتاج إلى تجهيزات معقده لذلك فقد هدف هذا البحث إلى: 1- تحديد سمية عزلات فطرية تابعة للجنسين *Aspergillus* و*Penicillium* معزولة من عينات بذور وكسبة فول الصويا باستخدام ثلاثة اختبارات حيوية.

2- دراسة تأثير ثلاثة أنوع من المستنبتات الغذائية في سمية العزلات المدروسة.

طرائق البحث و مواده:

أجري هذا البحث في مخبر الأمراض الفطرية في قسم وقاية النبات في كلية الزراعة بجامعة تشرين وذلك خلال عامي2007–2008.

❖ العزلات الفطرية: تم الحصول على /116/عزلة فطرية نقية، 93 عزلة منها تعود إلى الجنسن *Aspergillus* ، و23 عزلة إلى *Penicillium* عزلت من 23 عينة من بذور وكسبة فول الصويا وذلك على ثلاثة مستنبتات: تشابك آجار CA، آجار الصويا والتريبتون TSA ومستنبت آجار المالت والخميرة MYA، وضبطت درجة PH كل المستنبتات على الدرجة 0.2±6.5 باستخدام NAOH أوHCL وذلك على جهازPH meter بالمقارنة مع ورق عباد الشمس.

❖ الاستخلاص: زرعت العزلات النقية على المستنبتات المغذية الصلبة في أطباق بتري وحضنت على درجة حرارة 2±23 ْس، وبعمر سبعة أيام أخذ قرصان من وسط كل مزرعة فطرية بقطر1سم وإضيف لها 2 مل أسيتون 80 %، حيث يمكن اختبارها مباشرة أو توضع في البراد لاختبارها لاحقاً (Maghribi, 1985).

❖ مواد الاختبارات الحيوية:

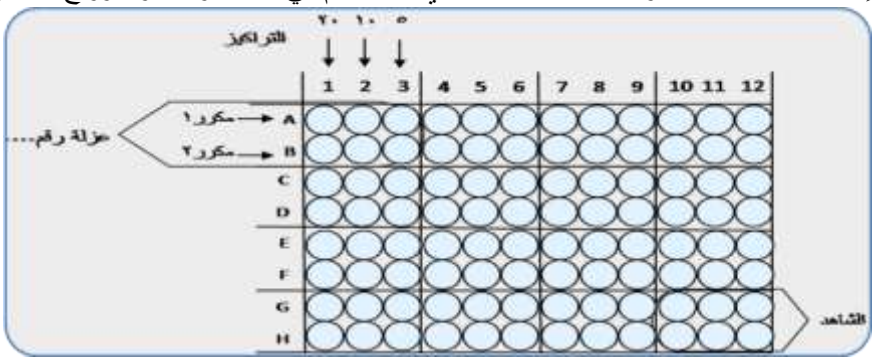
– بذور رشاد*Lepidium sativum* : إذ استخدمت بذور بلدية معقمة من الإنتاج محلي لعام2007 جيدة التكوين سليمة نسبة إنباتها عالية، تم انتقاؤها بوساطة مكبرة يدوية.

– سلالة بكتيرية (FZB27) *Bacillus subtilis*: تم الحصول عليها من معهد التقانات الحيوية برلين–ألمانيا، زرعت في5 مل من مستنبت تريبتون الصويا السائل TSB على درجة حرارة 2±23 ْ س.

– فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* زرع كذلك في 5 مل من مستنبت TSBعلى درجة حرارة 23± 2 ْس، تم تحضيره مخبرياً إذ أضيف 50غ خميرة (فورية جافة ونشطة) لكل ربع ليتر ماء مقطر ومعقم على حرارة 38 ْس لمدة 24 ساعة ومن ثم نقيت وجددت على مستنبتPDA.

❖ التمديد والاختبار:

تم تنفيذ الاختبارات الحيوية ضمن أطباق إليزا (شكل1) بحيث تم اختبار كل كائن في طبق مستقل وخصص لكل عزلة ثلاثة تراكيز من الخلاصة الفطرية (5، 10، 20) ميكروليتر ومكررين لكل تركيز، حدد شاهد لكل اختبار مثل المعاملة ولكن بإضافة خلاصة محضرة من المستنبت المغذي المستخدم في الاختبار وغير مزروع بالفطر.

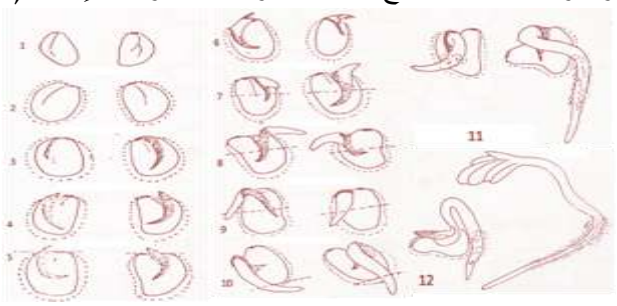


الشكل1: جدول قراءة الاختبارات الحيوية من أطباق اليزا.

❑ حضنت أطباق الاختبار عند درجة حرارة 2±23 سْ بعد تنفيذ الاختبار وتغطية الأطباق بورق الكلينك فيلم، وأخذت القراءات بعد 24 ساعة فيما يتعلق باختباري Bs، Sc، وبعد 48 ساعة فيما يتعلق باختباري Ls، وحددت نتائج السمية مقارنةً بالشاهد لاختباري Sc، Bs على أساس ثلاث درجات:

- **صفر:** تقابل تأثير معدوم للخلاصة الفطرية على المادة الحية (نمو مماثل للشاهد).
- **واحد:** تقابل تأثير ملحوظ (نمو أقل من الشاهد)، سمية متوسطة.
- **اثنان:** تقابل تأثير أعظمي ملحوظ (لا يوجد نمو مقارنة بالشاهد)، سمية شديدة (المغربي، 1986).

❑ أما فيما يتعلق ببذور الرشاد فأخذت النتائج وفق 12 مرحلة من مراحل الإنبات (شكل2).



الشكل2: مراحل إنبات بذور الرشاد.

حيث أن المراحل 2–5 تقابل نمو الجنين في البذرة، و6–12 تقابل نمو الجذير، ويجب أن يعطي الشاهد دائما المراحل 9 و10 و11 وعلامات السمية تكون كالآتي: **صفر:** مراحل النمو 9–11 مثل الشاهد، **واحد:** مراحل النمو 7–8، **اثنان:** مراحل النمو من 2–6 (Maghribi, 1985).

النتائج والمناقشة:

أخذت نتائج الاختبارات الحيوية للعزلات الفطرية وحسب متوسط درجات السمية للمكررين الخاصين بكل تركيز ولكل عزلة حيث بينت نتائج الاختبارات مايأتي:

1– نتائج اختبار Ls:

بعد دراسة تأثير المستخلصات الفطرية للعزلات في إنبات بذور الرشاد تبين وجود 38 عزلة سامة تابعة للنوع *A. flavus* على مستنبت TSA (جدول1) منعت إنبات بذور الرشاد بمختلف التراكيز المستخدمة وكانت 29؛ 27 عزلة منها سامة كذلك على مستنبتي CA وMYA على الترتيب، وكانت جميع العزلات التابعة للنوع *A. niger* سامة ومتوسطة السمية على المستنبتات الثلاثة.

الجدول(1): العزلات السامة والمتوسطة السمية على مستنبتات CA ، TSA، MYA في اختبار Ls.

MYA		CA		TSA		عدد العزلات الكلي	الجنس/ النوع
+	++	+	++	+	++		
3	0	2	0	4	0	5	*A. nidulans*
1	0	1	0	1	1	4	*A. tamarii*
2	4	1	7	4	4	9	*A. fumigatus*
5	5	6	3	6	4	11	*A. ochraceus*
11	27	8	29	4	38	42	*A. flavus*
0	0	0	0	2	0	2	*A. ustus*
2	1	3	0	4	0	4	*A. glaucus*

1	1	1	1	1	1	2	*A. terreus*
2	10	1	11	2	10	12	*A. niger*
1	1	0	2	1	1	2	*Aspergillus* sp.
10	7	12	8	11	10	23	*Penicillium* spp.
38	56	34	61	40	69	116	المجموع

++ سام + متوسط السمية

وكان ما يقارب نصف العزلات التابعة للجنس *Penicillium* سامة إلى متوسطة السمية كذلك على مختلف المستنبتات، ونتائج سمية العزلات على إنبات بذور الرشاد تتوافق مع (Fromentin *et al*., 1983؛ المغربي، 1986).

2- نتائج اختبار Bs:

باختبار سمية العزلات السابقة على نمو البكتريا Bs وجدنا بأن العزلات التابعة للنوعين *A. nidulans* و*A. Tamarii* لم يكن لها أي تاثير سام على البكتريا وبالمستنبتات كافة (جدول2)، في حين ظهرت سمية متفاوتة لمعظم الأنواع الأخرى التابعة للجنس نفسه وذلك على مختلف المستنبتات عموماً وبشكل خاص مستنبت TSA، وكانت سمية العديد من عزلات الجنس *Penicillium* واضحة على مستنبتي CA وMYA مقارنة بمستنبت TSA حيث كانت هذه العزلات تابعة للأنواع: *P. ristrictum*، *P. cyclopium*، *P. simplicissmum*، *P. verruculosum*، *P. chrysoginum*.

الجدول(2): العزلات السامة والمتوسطة السمية على مستنبتات CA ، TSA، MYA في اختبار Bs.

MYA		CA		TSA		عدد العزلات الكلي	الجنس/ النوع
+	++	+	++	+	++		
0	0	0	0	0	0	5	*A. nidulans*
0	0	0	0	0	0	4	*A. tamarii*
3	1	3	4	3	4	9	*A. fumigatus*
2	5	5	3	7	0	11	*A. ochraceus*
20	0	24	3	28	2	42	*A. flavus*
1	1	0	2	2	0	2	*A. ustus*
1	1	2	2	2	0	4	*A. glaucus*
1	1	2	0	2	0	2	*A. terreus*
9	2	8	0	10	0	12	*A. niger*
1	1	1	1	1	1	2	*Aspergillus* sp.
12	2	11	2	6	0	23	*Penicillium* spp.
50	14	56	17	61	7	116	المجموع

++ سام + متوسط السمية

3- نتائج اختبار Sc:

عند دراسة سمية المستخلصات الفطرية على الخميرة Sc وجدنا بأن عدد العزلات السامة في هذا الاختبار كان قليلاً بشكل عام مقارنة بسمية العزلات على البكتريا وبذور الرشاد، إذ انحصرت في ست عزلات على مستنبتي TSA

وMYA كانت النسبة الأكبر منها للعزلات التابعة للنوع *A. flavus*، وسبع عزلات على مستنبت CA (جدول3)، وباقي العزلات كانت متوسطة السمية إذ بلغ أعلاها 23 عزلة على مستنبت TSA، و19 عزلة على كل من CA وMYA.

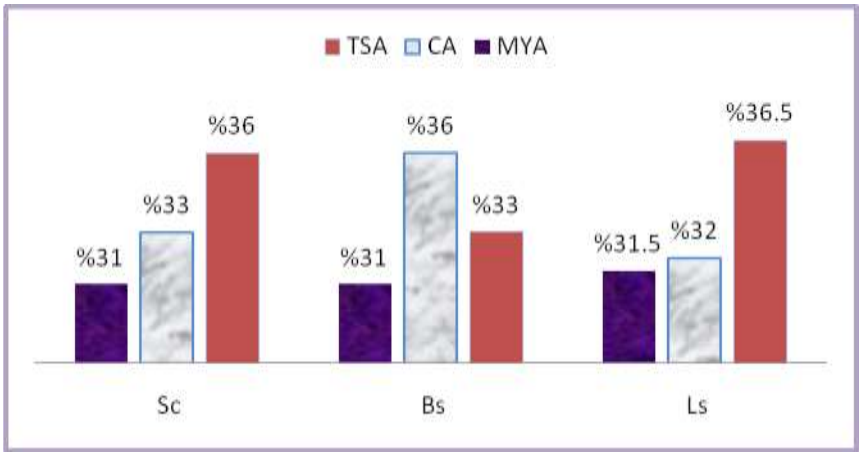
الجدول(3): العزلات السامة والمتوسطة السمية على مستنبتات CA ، TSA، MYA في اختبار Sc.

MYA		CA		TSA		عدد العزلات الكلي	الجنس/ النوع
+	++	+	++	+	++		
0	0	0	0	0	0	5	*A. nidulans*
3	1	0	2	3	1	4	*A. tamarii*
1	0	1	2	4	0	9	*A. fumigatus*
1	0	0	0	2	1	11	*A. ochraceus*
3	3	6	1	3	4	42	*A. flavus*
2	0	2	0	2	0	2	*A. ustus*
2	0	2	0	2	0	4	*A. glaucus*
1	0	1	0	1	0	2	*A. terreus*
0	0	0	0	0	0	12	*A. niger*
0	0	0	0	0	0	2	*spergillus* sp.
6	2	7	2	6	0	23	*Penicillium* spp.
19	6	19	7	23	6	116	المجموع

++ سام + متوسط السمية

4- تأثير نوع المستنبت على السمية:

لمعرفة دور المستنبت في إظهار السمية حسبت النسبة المئوية للعزلات التي أبدت أي شكل من أشكال السمية (سام ومتوسط السمية) في كل اختبار على حدا وقمنا بالمقارنة بين المستنبتات المستخدمة، حيث وصلت النسب المئوية للعزلات السامة إلى36.5% في اختبار Ls و36% في اختبار Sc على مستنبت TSA متقدمة بذلك على مستنبتي CA وMYA (شكل3)، في حين ارتفعت النسبة المئوية للعزلات السامة في اختبار Bs على مستنبت CA تلاه TSA و MYA.

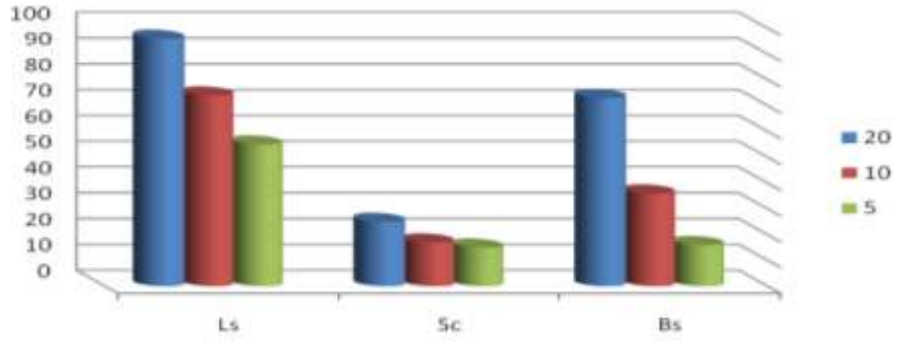


الشكل(3): النسبة المئوية للعزلات السامة على مستنبتات TSA، CA، MYA، وفي الاختبارات الثلاثة.

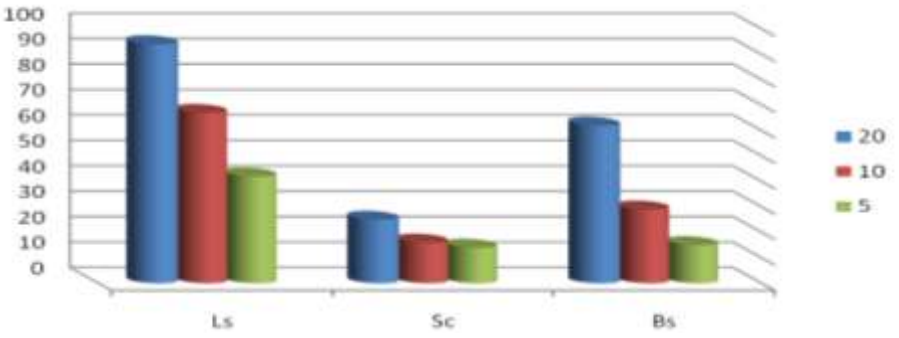
إن قيمة PH الوسط تشكل عاملاً هاماً في بناء السموم الفطرية فالبرغم من نمو الفطور ضمن مدى واسع من درجات PH (1.5–8.5) إلا أن إنتاج السموم كالأفلاتوكسينات المنتجة من قبل النوع *A. flavus* يتطلب قيم PH منخفضة 4-1 في حين ينتج النوع *A. parasiticus* تلك السموم على درجة PH تصل إلى 9 (عبد الحميد، 2000)، لذلك قد يكون لدرجة الحموضة المحددة من قبلنا (6.5) وهي درجة قريبة من الإعتدال تأثيراً على تباين سمية العزلات.

5- تأثير تركيز المستخلص الفطري على السمية:

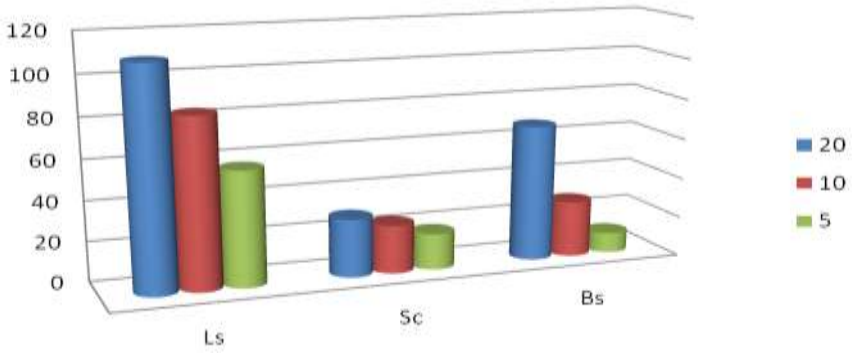
لوحظ في التراكيز الثلاثة المستخدمة منع النمو بشكل رئيسي في التركيز الأعلى 20 ميكروليتر في الاختبارات الثلاثة (أشكال 4، 5، 6) ومن ثم بشكل متفاوت في التركيز 10 ميكروليتر، وكان منع نمو البكتريا والخميرة وإنبات بذور الرشاد في التركيز 5 ميكروليتر أقل من التركيزين السابقين، أي أن زيادة تركيز المستخلص الفطري أدت إلى زيادة السمية على كائنات الاختبار المستخدمة بشكل عام، ولكن حسب سمية العزلة فالعزلات شديدة السمية منعت نمو كائنات الاختبار في كل التراكيز المستخدمة وهذا ما توافق مع (Maghribi, 1985).



الشكل(4): عدد العزلات السامة في التراكيز والاختبارات الثلاثة على مستنبت CA.



الشكل(5): عدد العزلات السامة في التراكيز والاختبارات الثلاثة على مستنبت MYA.



الشكل(6): عدد العزلات السامة في التراكيز والاختبارات الثلاثة على مستنبت TSA.

الاستنتاجات والتوصيات:

1- أعطت الاختبارات الحيوية Sc، Bs، Ls مؤشراً جيداً على سمية العزلات الفطرية وبشكل خاص Bs، Ls.

2- أبدت العزلات التابعة للجنسين *Aspergillus* و*Penicillium* سمية تختلف باختلاف النوع وباختلاف المستنبت الغذائي ونوع الاختبار وقد كانت أكثر العزلات سمية هي العزلات التابعة للنوع *A. flavus* وذلك على مختلف المستنبتات وفي الاختبارات الثلاث، وكان ما يقارب 83% من عزلات النوع *A. niger* سامة في اختبار Ls على مختلف المستنبتات.

3- يؤثر المستنبت الغذائي على سمية العزلات الفطرية المنماة عليه إذ ظهرت سمية العزلات على مستنبت TSA تلاه مستنبتي CA وMYA في اختباري Ls، Sc، في حين في اختبار Bs ظهرت السمية على مستنبت CA بشكل أعلى من مستنبتي CA و MYA، وكان للتركيز الأعلى من المستخلصات الأثر الأكبر على كائنات الاختبار الثلاث.

4- نوصي بمتابعة البحث لاختيار مستنبتات أخرى صلبة أو سائلة تساعد على إظهار سمية العزلات الفطرية، وكائنات اختبار تكون أكثر حساسية للسموم الفطرية.

المراجع:

1- المغربي، صباح. *طرق حيوية سريعة للكشف عن الفطريات المنتجة للسموم الفطرية في المواد الغذائية* – أسبوع العلم السادس والعشرون- اللاذقية- 1986-11ص.

2- عبد الحميد، محمد عبد الحميد. *الفطور والسموم الفطرية*- دار النشر للجامعات- القاهرة- مصر- 2000-539 ص.

3- الشيخلي، فؤاد إبراهيم عبد الجبار. *أمراض الدواجن*. الطبعة الثانية- شركة الأطلس للطباعة المحدودة- بغداد- 2003- ص258-253.

4-ABDEL- MALLEK, A.Y.; EL- MARAGHY, S. S. M.; HASAN, H. A. H. *Mycotoxin-producing potential of some Aspergillus, Penicillium and Fusarium isolates found on corn grains and sunflower seeds in Egypt*. Journal of Islamic Academy of Sciences, 1993, 6,3, 189-192.

5- ALGHALIBI, S. M. S. ; SHATER, A. M. *Mycoflora and Mycotoxin Contmination of Some dried fruits in Yemen Republic*. Ass Univ. Bull. Environ. Res, 2004, Vol. 7, No. 2.

6- BAYMAN, P.; BAKER, J. L.; DOSTER, M. A.; MICHAILIDES, T. J.; MAHONEY, N. E. *Ochratoxin production by the Aspergillus ochraceus* group *and Aspergillus alliaceus*. Appl. Environ. Microbiol, 2002, 68: 2326-2329

7- BENNETT, J. W. *Mycotoxins, mycotoxicoses, mycotoxicology and mycopathology*. Mycopathlogia, 100, 1987,3-5.

8- BENNETT, W. J.; KLICH, M. *Mycotoxins*. American Society for Microbiology. Tulane University, New Orleans, Louisiana. Vol. 16, No. 3, 2003, 497-516

9- BOUTIBONNES, P.; MALHERBE, C.; KOGBO, W. ; MARAIS, C. *Antibacterial activity of 48 mycotoxins against Bacciilus thuringiensis*. Microbiologie-Aliments-Nutrition. 1983, Vol. 1, 259-264.

10- COULUMBE, R. A. *Symposium: biological action of mycotoxins*. J. Dairy Sci. 76, 1993,880-891.

11- CREPPY, E. E. *Human ochratoxicosis*. J. Toxicol. Toxin Rev, 18, 1999, 277-293.

12- DEINER, U. L.; COLE, R. J.; SANDERS, T. H.; PAYNE, G. A.;LEE, L. S. ; KLICH, M. A. *Epidemiology of aflatoxin formation by Aspergillus flavus*. Ann. Rev. Phytopathology, 25, 1987, 240-270.

13- FROMENTIN, H.; NGUYEN VAN, H.; BIEVRE, C. *Toxicogenic fungi isolated from foodstuffs coming from the Far East.* Bull Soc Pathol Exot Filiales. 76,5, 1983, 592-595.

14- GAAG, B.; SPATH, S.; DIETRICH, H.; STIGTER, E.; BOONZAAIJER, G.; OSENBRUGGEN, T.; KOOPAL, K. *Biosensors and multiple mycotoxin analysis*. Food control. 14, 2003, 251-254.

15- GOODMAN, T. K. ; SCOTT, P. M. *Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A*. Biomed. Environ. Sci, 2, 1989, 179-24

16- HAYES, A. W. *Mycotoxins: a review of biological effects and their role in human diseases*. Clin. Toxicol, 17, 1980,45-60.

17- MAGHRIBI, S. *Recherche sur les moisissures toxinogenes des orges de brasserie et des malts*. These Docteur es Sciences.l'Universite' de Nancy I, 1985, 255.

18- MARAGOS, M. C. *Emerging Technologies for Mycotoxin Detection*. Toxin reviews, Vol. 23, 2004, 317-34.

19- MARQUARDT, R. R. ; FROHLICH, A. A. *A review of recent advances in understanding ochratoxicosis*. J. Anim. Sci, 70, 1992, 3968-3988.

20- OLIVEIRA, G. R.; RIBEIRO, J. M.; FRAGA, M. E.; CAVAGLIERI, L. R.; DIREITO, G. M.; KELLER, K. M.; DALCERO, A. M. ; ROSA, C. A. *Mycobiota in poultry feeds and natural occurrence of aflatoxins, fumonisins and zearalenone in the Rio de Janeiro State, Brazil*. Mycopathologia, Vol. 162, N.5, 2006, 355-362.

21- REISS, J. *Biotoxic activity in the Mucorales*. Mycopathologia, 121**,** 1993,123-127.

22- SARTER, S; ZAKHIA, N. *Chemiluminescent and bioluminescent assays as innovative prospects for mycotoxin determination in food and feed*. Luminescence, 19, 2004, 345–351.

23- SCHIEFER, H. B. *Mycotoxicosis of domestic animals and their diagnosis*. Can. J. Physiol. Pharmacol, 68, 1990,987-990.