دراسة تواجد الفطريات المرافقة لأعلاف دواجن اللحم المحلية واختبار قدرة بعض الأنواع على إنتاج الافلاتوكسينات

A Study of Fungi Contaminitated with Polatery Food and the ability to produce aflatoxins

عبد الأمير سمير سعدون
قسم علوم الحياة- كلية العلوم- جامعة القادسية

الخلاصة :
تضمن البحث دراسة تواجد انواع الفطريات المرافقة لأعلاف دواجن اللحم المحلية المرباة في حقول محافظة القادسية ومن ثلاث مواقع للحقول هي السنية والشامية والحمزة . وأشارت نتائج البحث الى وجود تسعة انواع من الفطريات في هذه الأعلاف و هي: *Aspergillus niger,A.candidus , A.flavus , Penicillium notattum, P.italicum , Fusarium oxysporum , Alternaria alternata , Curvularia lunata and Rhizopus stolonifer.*
وقد تباينت النسبة المئوية لتردد هذه الفطريات وكان أكثرها ترددا هو الفطر *Aspergillus niger* يليه الفطر *Alternaria alternate* ثم بقية الفطريات في حبوب الاعلاف المعقمة والفطر *Rhizopus stolonifer* في حبوب وجريش الاعلاف غير المعقمة وكانت نسبة الرطوبة في عينات الاعلاف تتراوح ما بين 11.6-15.2 % وعند اختبار قدرة بعض الانواع الفطرية على إنتاج سموم الافلاتوكسينات على ثلاثة اوساط غذائية وثلاثة درجات حرارة وجد ان هناك قدرة عالية للفطر *flavus Aspergillus* على انتاج الافلاتوكسينات في درجة الحرارة 35º م وقدرات معتدلة وقليلة للانواع الاخرى في انتاج هذه السموم في الاوساط الغذائية ودرجات الحرارة المختبرة.

Abstract

This study involved isolation and identification of fungi associated with local chick food in three location in Al-Qadissiya Distract. Results showed the presence of fungi: *Aspergillus niger, A. candidus, A. flavus, Penicillium notatum. P. italicum, Fusarium oxysporum, Alterneria alternata, curvularia lunata* and *Rhizopus stolonifer. A. niger* was farther of fungi frequency in sterile grains also *Rhizopus stolonifer* was the farther frequency in non sterile grains and dust of food. The relative humidity in food were 11.6-15.2% *A.flavus* was more active to produce aflatoxins production but *A. niger* and other fungi isolates had low ability in different temperature or media.

المقدمة :
تعد تربية الدواجن من الحرف الأساسية لقطاع كبير من العاملين والمربين للدواجن بمختلف انواعها سواء كانت لإغراض وضع البيض أو تربية دواجن اللحوم والتي تنتشر حقولها بشك واسع في معظم المحافظات العراقية ومنها محافظة القادسية . وتستخدم في هذه الحقول اعلاف مختلفة التركيب للحصول على انتاج عالي من دواجن اللحم واهم المكونات الاساسية للعليقة هي الحبوب المحلية مثل الحنطة والشعير والذرة الصفراء ومكونات اخرى (Maynard &Loosli 1969) وهذه الاعلاف قد تصاب اثناء خزنها او عند خلط مكوناتها بالعديد من الفطريات التي تقلل من قيمة هذه الاعلاف نتيجة ما تحدثه من رائحة غير مقبولة في الاعلاف او نتيجة افراز بعض انواع الفطريات المتواجدة في العليقة للسموم الفطرية (Mycotoxins) والتي تكون بعدة انواع مثل الافلاتوكسينات والاوكراتوكسينات وغيرها وتشير المصادر التاريخية الى حدوث كوارث في تربية الدواجن والديوك البرية نتيجة التغذية على اعلاف ملوثة بمثل هذه السموم (نوار والناطور ,1989 و السامرائي ,1997) .وقد تحدث إصابة الأعلاف قبل خلطها أي اصابة احد او بعض الحبوب المكونة للعليقة اثناء الحصاد او النقل او الخزن بأنواع من الفطريات المخزونة ومنها انواع الاجناس *Aspergillus , Penicillium, Alternaria, Fusarium* وغيرها (ميخائيل وبيدر ,1982 و سرحان وسعدون , 2002) . وقد وجد سعيد (1985) ان بعض الحبوب المحلية المخزونة ملوثة بسموم الافلاتوكسينات والزيرالينون الخطرة نتيجة وجود الفطريات المنتجة لهذه السموم مع البذور اثناء الخزن وقد ذكر حسين (2000) ان حاصل الذرة الصفراء في مواقع خزنية مختلفة من بغداد مصاب بالعديد من الانواع الفطرية مثل , *Aspergillus ,Alternaria ,Fusarium* وغيرها وقد سبب تلون ظاهري للبذور وتلوث البذور بالسموم الفطرية مثل الافلاتوكسين B1 والفيومنزين المنتجة من الفطرين , *F.moniliforme A.falvus* .وقد اكد سرحان واخرون (2001) اصابة حبوب الحنطة والشعير الموجودة في مخازن شركة ما بين النهرين والمنتجة في محافظتي القادسية و واسط بالعديد من الفطريات المخزنية مثل انواع الاجناس *Aspergillus, Penicillium , Fusarium* وغيرها . ولغرض تربية دواجن سليمة وذات انتاج عالي من اللحوم في حقول التربية في محافظة القادسية تم وضع هذه الدراسة للتأكد من سلامة الاعلاف المستخدمة في هذه الحقول من الفطريات ودراسة قدرة بعض الانواع الفطرية في انتاج الافلاتوكسينات والتي تعتبر من اخطر انواع السموم واكثرها انتشاراً في اعلاف الدواجن .

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات

تم جمع عينات اعلاف الدواجن من حقول تربية الدواجن محافظة القادسية ومن ثلاث مواقع للحقول هي السنية والشامية والحمزة حيث جمعت العينات بواقع 1 كغم لكل عينة مأخوذة بصورة عشوائية من مخازن اثنين من حقول التربية لكل موقع وحفظت العينات داخل اكياس من النايلون وتم نقلها لمختبرات قسم علوم الحياة كلية العلوم جامعة القادسية لإجراء الدراسة عليها وتم الجمع في شهر تشرين الثاني 2005 .

نسبة الرطوبة في العينات :

تم حساب نسبة الرطوبة المئوية في العينات الستة المأخوذة من المواقع الثلاثة في المحافظة بعد تجفيف 5غم من كل عينة بدرجة 105ºم لمدة 24 ساعة وتم حساب نسبة الرطوبة المئوية بعد تمام التجفيف وكما جاء في السامرائي (1997).

تواجد الفطريات في العينات :

تم دراسة تواجد الفطريات في عينات الاعلاف بعد فرز الحبوب الكاملة او غير كاملة الجرش عن جريش الاعلاف وقد قسمت الحبوب الكاملة او المكسرة الى قسمين بواقع 100 حبة لكل قسم وكل موقع القسم الاول من الحبوب غسلت بالماء المقطر المعقم فقط وتم تجفيفها في ظروف المختبر اما القسم الثاني فقد عقمت بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز(1%) المحضر بالتخفيف من القاصر التجاري بتركيز 6% لمدة ثلاث دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم لإزالة أثار التعقيم ثم جففت في ظروف المختبر ثم زرعت الحبوب المعقمة وغير المعقمة وجريش العلف في اطباق بتري حاوي على وسط غذائي PDA (Potato dextrose agar) بواقع خمس بذور لكل طبق و بثلاث مكررات لكل موقع أما جريش العلف فقد تم زراعته بالاطباق بطريقة النثر وبعدد اطباق التجربة لكل من الحبوب المعقمة وغير المعقمة وقد حضنت الاطباق لجميع المعاملات في حاضنة تحت درجة حرارة (2± 25ºم) وتم مراقبة نمو الفطريات في الاطباق بعد اربع أيام من الحضن وجرى تسجيل النسب المئوية لتردد الانواع الفطرية في المعاملات بعد عزل لكل نوع فطري وتنقيته وتشخيصه الى مستوى النوع بالاعتماد على الصفات الظاهرية والمجهرية بالاستعانة بالمفاتيح التصنيفية المتوفرة مثل (1965) *Barnett* و (1980) *Domsch et.al* وتم حساب النسبة المئوية لتردد كل نوع فطري بالاعتماد على المعادلة:-

$$\text{النسبة المئوية لتردد الفطر} = \frac{\text{عدد عزلات الفطر}}{\text{العدد الكلي للعزلات}} * 100$$

الكشف عن قدرة بعض انواع الفطريات المعزولة على انتاج الافلاتوكسينات :

لغرض اختبار قدرة بعض الانواع الفطرية المعزولة على انتاج الافلاتوكسينات اتبعت طريقة Satio and Machida (1999) وذلك باستخدام ثلاث اوساط غذائية وهي PDA و YES (Yeast Extract sucrose) و COA (*Cocconut* Agar) وثلاث درجات حرارية هي 25 و 30 و 35º م وثلاث مكررات لكل نوع فطري حيث تم تلقيح الاوساط أعلاه بنقل جزء من مستعمرة الفطر النقية وحضنت الاطباق لمدة 7-14 يوم تحت درجة حرارة 25ºم ثم قلبت الاطباق رأساً على عقب وأضيف لكل طبق في الغطاء 0.2 مل امونيا بتركيز 25% ثم أعيد حضن الاطباق و مكرراتها تحت ثلاث درجات حرارية هي 25 و 30 و 35º م وللأوساط الثلاثة لكل فطر وتم مراقبة الاطباق كل يوم لملاحظة تغيير لون قاعدة الوسط الغذائي المنمى عليه الفطر وتم تسجيل النتائج على أساس تغير لون المستعمرة الى اللون الأحمر الوردي او الأصفر البرتقالي وبدرجات لونية مختلفة كدلالة على قابلية الفطر على انتاج الافلاتوكسينات .

التحليل الإحصائي

تم تحليل نتائج البحث إحصائيا باستخدام تحليل التباين وتحديد اقل فرق معنوي .L.S.D وتحت مستوى معنوية 0.05 .

النتائج والمناقشة

أوضحت نتائج الدراسة بخصوص نسبة الرطوبة في عينات الاعلاف ان نسب الرطوبة متباينة من عينة الى اخرى ومعظم العينات نسبة الرطوبة فيها تزيد عن 13% وهي أعلى نسبة مسموح بها لحفظ البذور او خزنها حيث يتبين من الجدول (1) ان نسبة الرطوبة في عينات السنية والحمزة تراوحت ما بين 11.6-13.4 % أما عينات الشامية كانت نسبة الرطوبة اعلى من المعدل بنسبة قليلة حيث تراوحت ما بين 14.4 - 15.2 % وفي هذه النسبة من الرطوبة قد تتواجد بعض الانواع الفطرية من مجموعة الفطر *Aspergillus glucus* أما الانواع الخطرة والسامة مثل *A.flavus* فتحتاج الى الرطوبة العالية أكثر من25% لغرض النمو وإنتاج السموم (حسين 2000) ومع ذلك هناك ضرورة لحفظ الاعلاف في مخازن جيدة التهوية وعدم تعرضها للرطوبة الجوية او البلل وخاصة في موسم الشتاء حيث الرطوبة النسبية العالية وموسم سقوط الأمطار في محافظة القادسية او عند سقوط بعض الأجزاء من العلف على ارضية حقول التربية التي تكون فيها الرطوبة عالية نتيجة فضلات الدواجن الرطبة. أما بالنسبة الى تردد الفطريات في عينات الاعلاف فقد كان متفاوتا من فطر لآخر حيث يتبين من الجدول (2) تواجد ثمانية انواع من الفطريات في حبوب العليقة المكونة للأعلاف المعقمة باستخدام محلول هايبوكلورات الصوديوم ويظهر في الجدول ان أكثر الانواع الفطرية تردداً هو الفطر *Aspergillus niger* حيث تراوحت النسبة المئوية لتردده ما بين 40.0 – 50.0% من عينات المواقع الثلاثة وهذه النتائج مطابقة لما ذكره Sulaiman (1979) وسرحان وآخرون (2001) ويرجع سبب ذلك الى قدرة الفطر *A. niger* على تحمل الظروف البيئية الصعبة من درجات حرارة ورطوبة وسهولة انتشار ابواغه في الهواء و انتقالها من مكان الى آخر.

أما الفطر *Alternaria alternate* فقد جاء بالمرتبة الثانية من حيث النسبة المئوية للتردد وكانت نسبة تردده 11.7-20.3% وهذا الفطر من الفطريات المخزنية المعروفة ولديه قدرة إنزيمية عالية علي تحليل مكونات وسط معيشته واستغلالها بشكل يمكنه من التواجد في مختلف مخازن الحبوب والأعلاف ومعروف عن هذا الفطر إمكانية إنتاجه لسموم فطرية خطرة مثل الالترناريول(سرحان وآخرون 2001). أما الانواع الاخرى من الفطريات فقد جاءت بنسب تردد اقل من الفطرين السابقين ومنها الفطر *Fusarium oxysporum* ثم *Curvularia lunata* وانواع اخرى للفطر *Aspergillus* وهي*A.candidus* والنوع الخطر *A.flavus* المعروف عالمياً بأنتاجه لأنواع سموم الافلاتوكسينات بألاضافة الى انواع من الفطر *Penicillium* ومنها *P.notatum* وبنسب تردد قليلة وهذه النتائج مطابقة لما ذكره Sulaiman (1979) .

جدول (1) النسبة المئوية للرطوبة في عينات الاعلاف:

مصدر ورقم العينة	نسبة الرطوبة (%) *
السنية (1)	11.6
السنية (2)	13.4
الشامية(1)	15.2
الشامية(2)	14.4
الحمزة(1)	12.4
الحمزة(2)	11.8

*** كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات**

جدول رقم (2) النسبة المئوية لتردد الفطريات المرافقة للحبوب العلفية المعقمة

مصدر العينة	تردد الفطريات (%) *								L.S.D. 0.05
	Aspergillus niger	Aspergillus candidus	Aspergillus flavus	Penicillium notatum	Penicillium italicum	Fusarium oxysporum	Alterneria alternata	Curvularia lunata	
السنية	40.6	10.1	0.0	6.7	0.0	11.8	20.3	10.1	2.44
الشامية	40.0	4.6	3.0	12.3	3.0	15.3	16.9	4.6	4.12
الحمزة	50.0	0.0	0.0	13.2	0.0	14.7	11.7	10.2	3.31

*** كل رقم في الجدول يمثل النسبة المئوية لتردد الفطر في 100 حبة متنوعة وبثلاث مكررات**

الجدول(3) يوضح النسب المئوية لتردد الفطريات في عينات حبوب الأعلاف غير المعقمة ويظهر من الجدول النسبة العالية لتردد الفطر *Rhizopus stolonifer* في جميع العينات المدروسة حيث تراوحت نسب تردده ما بين 16.3-37.5% وهذا الفطر يتواجد بكثرة في المخازن وخاصة عند وجود رطوبة عالية ويتواجد على سطح الحبوب من الخارج ولهذا لم يظهر في الحبوب المعقمة.

ويظهر من الجدول(3) أيضاً تباين النسب المئوية لتردد الفطريات الأخرى حيث كان أكثرها تردداً الفطر *A. niger* ويليه الفطر *Alternaria alternate* ثم بقية الفطريات.

أما الجدول(4) فيبين النسب المئوية لتردد الفطريات في مسحوق العلف المجروش غير المعقم وأظهرت النتائج في الجدول تواجد الأنواع الفطرية التسعة المذكورة في الجدول(3) وبنسب تردد متقاربة نتيجة انتشار أبواغ الفطريات المتواجدة مع الحبوب ضمن المسحوق العلفي المجروش مع ملاحظة زيادة نسبة تردد بعض الفطريات مثل *A. niger* مقارنة بالنسب المئوية

لتردد الفطر مع الحبوب غير المعقمة بسبب زيادة جاهزية الغذاء للفطر في حالة مسحوق العلف عنه في الحبوب إضافة الى تنوع وسط التغذية المكون من عدة حبوب وليس بنوع واحد في حالة الحبوب المنفردة.

أما في حالة ما يخص قدرة بعض الأنواع الفطرية المعزولة على إنتاج سموم الافلاتوكسينات فالنتائج تظهر في جدول(5) حيث تتضح قدرة بعض الأنواع وخاصة الفطر *Aspergillus flavus* على الإنتاج العالي في درجة الحرارة 35 م° وبصورة أقل في الدرجات الأقل حيث أعطى الفطر اكبر كمية من الافلاتوكسينات في هذه الدرجة وفي الأوساط الثلاثة المستخدمة في الاختبار أما الفطر *A. niger* بعزلاته الثلاثة المختبرية فقد أعطى قدرة معتدلة على إنتاج الافلاتوكسينات وفي درجات الحرارة 30 م° و 35 م° وفي الوسطين YES و PDA ولم يعطِ أية نتائج في الوسط COA أما الفطر*A. Candidus* فقد أعطى قدرة قليلة على الإنتاج في درجات الحرارة الثلاثة وفي الأوساط الغذائية أما الفطرين *Penicillium notatum* و *Alternaria alternata* فقد ظهر ان قابلية الإنتاج للفطرين قليلة وفقط عند درجة الحرارة 35 م° وهذه النتائج مطابقة لما ذكره عبود (2006) عند دراسته لأنواع مماثلة معزولة عن عينات سريرية لمستشفى الناصرية العام.

جدول رقم (3) النسبة المئوية لتردد الفطريات المرافقة للحبوب العلفية غير المعقمة

مصدر العينة	تردد الفطريات (%) *									L.S.D. 0.05
	Aspergillus niger	Aspergillus candidus	Aspergillus flavus	Penicillium notatum	Penicillium italicum	Fusarium oxysporum	Alterneria alternata	Curvularia lunata	Rhizopus stolonifer	
السنية	28.1	3.1	0.0	9.3	0.0	6.2	12.5	3.1	37.5	1.42
الشامية	34.9	1.5	6.3	4.7	3.1	6.3	17.4	0.0	25.3	1.24
الحمزة	38.1	0.0	0.0	10.9	0.0	14.5	16.4	3.6	16.3	1.38

* كل رقم في الجدول يمثل النسبة المئوية لتردد الفطرفي 100 حبة متنوعة وبثلاث مكررات

جدول رقم (4) النسبة المئوية لتردد الفطريات في مسحوق العلف المجروش غير المعقم

مصدر العينة	تردد الفطريات (%) *									L.S.D. 0.05
	Aspergillus niger	Aspergillus candidus	Aspergillus flavus	Penicillium notatum	Penicillium italicum	Fusarium oxysporum	Alterneria alternata	Curvularia lunata	Rhizopus stolonifer	
السنية	43.7	6.2	0.0	4.1	0.0	4.1	16.6	0.0	25.0	1.02
الشامية	31.6	6.6	0.0	10.0	3.3	3.3	15.0	1.6	28.3	1.45
الحمزة	43.7	0.0	0.0	12.5	0.0	6.2	18.7	0.0	18.7	0.70

* كل رقم في الجدول يمثل النسبة المئوية لتردد الفطرفي 20 طبق وبثلاث مكررات

جدول (5) الكشف عن قدرة بعض الأنواع الفطرية على انتاج الافلاتوكسينات

الفطر	وسط YES			وسط PDA			وسط C0A		
	درجة الحرارة (C^o)			درجة الحرارة (C^o)			درجة الحرارة (C^o)		
	25	30	35	25	30	35	25	30	35
Aspegillus flavus	+	++	+++	*	**	**	+	++	++
A.niger (عزلة 1)	-	+	++	-	*	*	-	-	-
A.niger (عزلة 2)	-	+	++	-	*	**	-	-	-
A.niger (عزلة 3)	-	+	++	*	*	*	-	-	-
A.candidus	-	*	*	*	*	*	+	+	+
Penicillium notatum	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Alterneria alternata	*	*	*	-	-	-	-	-	*

+ احمر وردي فاتح

* اصفر برتقالي فاتح

قابلية الإنتاج قليلة

++ احمر وردي معتدل

** اصفر برتقالي معتدل

قابلية الإنتاج معتدلة

+++ احمر وردي غامق

*** اصفر برتقالي غامق

قابلية الإنتاج عالية

- عدم قابليتة على الانتاج.

المصـــادر :

1- السامرائي، خلود وهيب(1997). المحتوى الفطري ووجود السترنين في الذرة الصفراء المحلية وتأثيرها في الدواجن. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة بغداد.

2- حسين، حليمة زغير (2000). استعمال اليوريا في مقاومة فطريات ما بعد الجني وسمومها على الذرة الصفراء المخزونة. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

3- سعيد، كامل كزار (1985). وجود الافلاتوكسين والزيرالينون في بعض الحبوب ومنتجاتها الغذائية في بعض المحافظات العراقية. المجلة العراقية للعلوم الزراعية (زانكو) المجلد 3 العدد 2: 165-177.

4- سرحان، عبد الرضا طه وخلدون ياسر وعبد الأمير سمير سعدون (2001). دراسة كفاءة بذور الحنطة والشعير في عدة مناطق من محافظتي القادسية وواسط. مجلة القادسية، العلوم الصرفة، المجلد 6 العدد 3: 83-94.

5- سرحان، عبد الرضا طه وعبد الأمير سمير يعدون (2002). مسح للفطريات المصاحبة لبذور الذرة الصفراء المخزونة في العراق.. مجلة جامعة بابل/ العلوم الصرفة والتطبيقية، المجلد 7 العدد 3: 1129-1135.

6- عبود، ميثاق ستار (2006). الفعالية السمية والانزيمية للفطريات والخمائر الانتهازية المعزولة في عينات سريرية من مستشفى الناصرية العام. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة ذي قار.

7- ميخائيل، سمير وتركي بيدر (1982) أمراض البذور، جامعة الموصل، العراق.

8- نوار، مصطفى ورشاد الناطور (1989). المايكوتوكسينات والتسمم المايكوتوكسيني في الإنسان والحيوان. الجزء الأول، الطبعة الأولى، الجامعة الأردنية، عمان.

9- Barnett, H.L (1965). Illustrated Genera of imperfect fungi. Burgress publishing company. USA 2 ed.

10- Domsch, K.H, Gams, W. and Anderson, T.H (1980). compendium of soil fungi. Academic press, vol. 1.

11- Maynard, L.A, Loosli, J.K (1969). Animal nutrition. New York, sixth edition.

12- Satio, M. and Machida, S. (1999). Arapid identification method for a flatoxin producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonicl vapor. Myco. science, 40: 205-208.
13- Sulaiman, E. D. (1979). A comprehensive Survey of fungi associated with stored grains in Iraq with anotes on pathogenicity and frosty, Mosul university. Iraq.