

الكشف عن الفطريات وسمومها المرافقة لحبوب الرز المستورد للعراق

سوزان عزيز الحبيب*

خالد عبد الرزاق حبيب*

خالد عباس العبيدي*

تاریخ قبول النشر ٢٠٠٤/١٤

الخلاصة

شملت الدراسة التحري عن الفطريات الحفائية والمخزنية وسموم الافتلاوكسين في الرز المستورد والتي سجلت معدلات درجات الحرارة والرطوبة فيها 22.75 درجة مئوية و 13.2 % على التوالي، تسم الحصول على 1356 عزلة فطرية أمكن تشخيص 15 نوعاً فطرياً في الرز المستورد تعود إلى 8 أنواع، تمثلت اجناسها بـ *Fusarium* و *Cladosporium* و *Aspergillus* و *Alternaria* و *Mucor* و *Rhizopus* و *Pencillium* و *Stemphylium*.

ظهر الجنس *Aspergillus* سائداً في جميع عينات الرز المستورد وشتمل الانواع *A.candidus* و *A.flavus* و *A.clavatus* و *A.niger* و *A.glaucus* و *A.ochraceous* و *A.parasiticus* و *A.versicolor* و *A.terreus* و *AORYZAE* و *B1* في جميع عينات الرز المستورد وسجلت أعلى كمية في عينات الرز الفيتامني وبلغت كمية 2.35 جزء بالمليون أما افتلاوكسين *B2* فوجدت أعلى كمية في عينات الرز المصري حيث بلغت 0.86 جزء بالمليون.

المقدمة

يعد الرز *Oryza sativa L* من محاصيل الحبوب المهمة في العالم والعراق إذ تشكل الوجبة الغذائية الرئيسية لأكثر من نصف سكان العالم (IRRI، 1993) ت تعرض الحبوب ومنها الرز للإصابة بالعديد من الفطريات في الحقل وخلال عمليات الحصاد وأثناء التقل و عند الحزن قبل وبعد اجراء العمليات التصنيعية عليها، وتختلف هذه الفطريات كما ونوعاً باختلاف الظروف البيئية من درجة حرارة ورطوبة (Christensen et al., 1982).

يعد الفطر *Aspergillus Micheli* من الفطريات التي تسبب أضراراً كبيرة لحبوب الرز، فضلاً عن حبوب المحاصيل الأخرى كالحنطة، الذرة ، فول الصويا والقطن ، وتكون خطورة هذا الفطر بإنتاجه لایضات ثانوية تعرف بالافتلاوكسينات التي تنتج من قبل نوعين منه هما:

A.parasiticus spear , *A.flavus* Link
أجريت بعض الدراسات في القطر حول الفطريات المرافقة لحبوب الرز المحلي (حبيب واخرون ، 1988) وكذلك عن مدى تلوثها بالافتلاوكسينات (Al-Adil et al., 1977) غير ان لزيادة الاستهلاك اليومي لهذا الغذاء من قبل مختلف شرائح المجتمع العراقي ولعدم توفر دراسات حول مدى تلوث حبوب الرز المستورد بكميات كبيرة سنوياً من مختلف مناشيء العالم تم اجراء هذه الدراسة .
المواد وطرق العمل

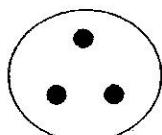
تم الحصول على العينات من الرز المستورد (التاييلندي ، الصيني، الفيتامني، المصري من سايبلو ام قصر بكمية (5-2) كغم لكل عينة و الواقع 3 ارساليات لكل منشأة من مناشيء الرز في أعلاه خلال عام 1999 ، ووضعت في اكياس نايلون جديدة واحكم غلقها وحفظت في المجمدة تحت درجة حرارة (-15) ° م لحين تحليلها .
تقدير الرطوبة

قدر الرطوبة باخذ مقدار 200 جبة من كل عينة من عينات الرز المشمولة بالدراسة باستخدام جهاز *Motomco moisture meter*

*الشركة العامة لتجارة الحبوب
**دكتوراه ... استاذ مساعد - كلية العلوم للبنات .. جامعة بغداد

فحصت الأطباق وشخصت الأنواع بالاستعانة بالمفتاح التصنيفي لـ Raper وFennell (Raper & Fennell, 1965) في حين شخصت أنواع الفطر *Penicillium* بالاستعانة بالمفتاح التصنيفي لـ Ramirez (Ramirez, 1982) حيث حضرت ثلاثة أنواع من الأوساط الزرعية وهي :

(CYA) ، Czapek's Agar (CA) و Czapek's Yeast Extract Agar و Malt Extract Agar (MEA) ، وزرعت الأوساط الزرعية الغذائية في أطباق بتري قياس 9 سم، بعدها تم زرع الفطر بطريقة Pin Point و على ثلات مناطق من الطبق الحاوي على الوسط الزراعي وكما في الشكل أدناه :



ج- استخلاص الأفلاتوكسينات :

اتبعت طريقة Patterson & Reberl (Patterson & Reberl, 1979) التي تستخدم لتقدير الأفلاتوكسين في الحنطة والذرة الصفراء والرز مع اجراء بعض التحويرات . تم الحصول على الأفلاتوكسينات القياسية (B2 ، B1) من شركة Sigma Chemical CO واستخدمت صفائح الكروماتوغرافي الرقيقة (TLC) المصنوعة من الالمنيوم والمغطاة بهلام السيليكا (Aluminium Silica gel 60) ذات الابعاد 20 × 20 سم وبسمك 0.25 ملم من شركة Merck الالمانية . قدر تركيز السموم باستعمال جهاز المساح الالكتروني Scannic Densitometer السويسري الصنع . تم تنقية المستخلص السمي باستخدام كروماتوغراف العمود Chromatography ماجاء في الطريقة الخاصة بذلك (AOAC, 1998) .

النتائج

بلغ معدل نسبة الرطوبة في الرز المستورد 13.6% في كل من الرز التايلاندي والفيتنامي أما الرز الصيني والمصري فقد كانت 12.2% و 12.8% على التوالي من خلال قياس درجة حرارة عينات الرز المستورد يلاحظ عدم وجود اختلافات كبيرة في درجات الحرارة لأنواع الرز مختلفة المنشأ حيث بلغت درجة حرارة الرز التايلاندي

على وفق الطريقة المتبعة في مختبرات الشركة العامة لتجارة الجبوب .

أ- عزل الفطريات

اتبعت طريقة Shetty وShetty (Shetty & Shetty, 1988) حيث اخذت 200 جبة من كل عينة ووزع了一اً على وسائط PDA معقماً بالمؤصدة مسبقاً ومضاف اليه المضاد الحيوي chloramphenicol بتركيز 100ملغم / لتر لمنع النمو البكتيري، ثم حضنت الأطباق تحت درجة حرارة (27 ± 1) م لفترة (5-7) أيام وبعد فتره الحضانة جرى عزل الفطريات المختلفة من الأطباق باخذ مسحة من الأبواغ وتنميتهما في أنابيب اختبار حاوية على الوسط الزراعي (PDA) المائل وحضنت تحت درجة الحرارة والوقت السابقين نفسها ، ثم حفظت في الثلاجة تحت درجة حرارة 4 م لحين تشخيصها .

اخذت 200 جبة اخرى من كل عينة وعمق سطحها الخارجي باستخدام محلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1 % لفترة دقيقة ثم بالماء المعقم ثلاث مرات بعدها جافت بورق النافاف المعقم ثم زرعت وحضنت بنفس الاسلوب السابق .

ب- تشخيص الفطريات اخذت عينات حقلية ممزروعة والمحفوظة في وسط PDA المائل واعيد زرעה بطريقة البوغ المفرد Single spore بحسب اسلوب Booth (Booth, 1971) ثم نقل البوغ النابت الى مركز طبق حاوي على وسط PDA وحضنت الأطباق تحت درجة حرارة (25 ± 2) م لفترة 7 أيام وشخصت الفطريات بالاستعانة بالمفتاحين التصنيفين لكل من بووث وأليس (Booth, 1971; Ellis 1971) .

تم تشخيص فطريات الغزن كل من الفطر Rhizopus spp. و Mucor spp. بالاسلوب نفس المتبوع في الفقرة ١، غير ان اطباق PDA حضنت لفترة (24-48) ساعة تحت درجة حرارة 40 م لعزل الأنواع المحبة للحرارة Thermophile ، أما الأنواع التي لم تنمو تحت درجة الحرارة العالية فقد حضنت لفترة 48 ساعة تحت درجة حرارة (25 ± 2) م ، تم الاستعانة بالمفتاح التصنيفي لـ Domsch (Domsch et al., 1980) .

اما أنواع الفطر Aspergillus فقد نمت على وسط جابكس دوكس اكار Czapek Dox Agar بطريقة Pin Point وحضنت تحت درجة حرارة 30 م لفترة 7 أيام ، بعدها

الرُّز المصري . ٤ - يوضح الشكل (٤) وجود خمسة أنواع فطرية في الحبوب غير المعقمة سطحيا ظهر فيها الفطر Rhizopus باعلى نسبة تنازلياً ، Penicillium ، Mucor ، الأجناس Aspergillus و Cladosporium ، وأخيراً الجنس Cladosporium و Aspergillus ، واحتوت الحبوب المعقمة سطحيا على الأجناس الفطرية الأربع والمرتبة حسب نسبتها تنازلياً Cladosporium و Aspergillus و Stemphylium و Penicillium.

ب . الأنواع الفطرية التابعة للجنس *Aspergillus*

تم تشخيص اثنى عشر نوعاً فطرياً تابعاً للجنس *Aspergillus* في عينات الرز المستورد وكما موضح في شكل (7) وقد تبيّنت نسب انتشارها بتبني منشئ الرز، ففي حبوب الرز التايلاندي غير المعقمة سطحياً ظهر الفطر *A. glaucus* بأعلى نسبة أعقبه تنازلياً الأنواع *A. niger* و *A. terreus* و *A. candidus* و *A. fumigatus* ، أما الحبوب المعقمة سطحياً فقد تفوق الفطر *A. flavus* ثلاثة الأنواع *A. niger* و *A. terreus* و *A. candidus* و *A. glaucus* ثم *A. ornatus* و *A. versicolor* و *A. clavatus* . ويلاحظ أن الفطر *A. candidus* قد سجل أعلى نسبة انتشار في حبوب الرز المستورد وعلى وجه الخصوص في حبوب الرز الصيني غير المعقمة سطحياً ثلاثة تنازلياً الأنواع *A. flavus* و *A. terreus* و *A. ochraceus* و *A. niger* وبقي الفطر *A. candidus* هو السائد في الحبوب المعقمة سطحياً وأعقبته على التوالي الأنواع *A. terreus* و *A. oryzae* و *A. flavus* تضمنت حبوب الرز الفيتامامي غير المعقمة سطحياً الأنواع المرتبة حسب نسبها تنازلياً *A. candidus* و *A. niger* و *A. flavus* و *A. terreus* و *A. ochraceus* و *A. niger* المعقمة سطحياً فقد احتوت على الأنواع *A. niger* و *A. terreus* و *A. flavus* . أما عينات الرز المصري فقد احتوت الحبوب غير المعقمة سطحياً على الأنواع المرتبة تنازلياً وهي *A. parasiticus* و *A. flavus* و *A. ochraceus* في حين احتوت الحبوب المعقمة سطحياً على الأنواع *A. candidus* و *A. flavus* و *A. niger* و *A. terreus* على التوالي .

جـ . توزيع الأنواع الفطرية لبقية الأجسام
المشخصة في الرز
المستورد .

والفيتاميني 23 م أمراً الرز الصبّاني والمصري
فكان درجة حرارتها 22.5 م.

المحتوى الفطري

- أ. توزيع الأجناس الفطرية في الرز المستورد .
 تباينت عينات الرز المستورد فيما بينها في
 عدد الأجناس الفطرية الملوثة لها من جهة وفي
 النسب المئوية لمقدار التلوث من جهة أخرى وكما
 يأتي : -

1 - الرز التايلاندي .
 أظهرت نتائج تحليل الحبوب غير
 المعقمة سطحياً وجود خمسة أنواع
 فطرية تفوق فيها Rhizopus Ehrenberg
 نازلي Micheli الأجناس Link exFr. Mucor
Aspergillus Alternaria Nees exFr. Cladosporium
 أما الحبوب التي عقم سطحها الخارجي فقد ظهر
 فيها ثلاثة أنواع فطرية تفوق فيها
 الفطر Aspergillus Rhizopus Penicillium Link وكما
 موضح في شكل (1).
 2 - الرز الصيني .

ظهرت خمسة أنواع فطرية في الحبوب
غير المعقمة سطحياً وكان الفطر *Aspergillus*
أكثرها انتشاراً وأعمقتها الأجناس ، *Rhizopus*
& *Cladosporium* و *Penicillium* ، *Mucor*
اما الحبوب المعقمة ظهرت فيها أربعة أنواع
فطرية وبقي الفطر *Aspergillus* باعلى نسبة
ثانه تنازلياً الأجناس *Cladosporium* ،
Penicillium و *Rhizopus* . (شكل 2)

3 - الرز الفيتاميني .

أشارت نتائج الفحص الموضحة في شكل (3) إلى ظهور خمسة أنواع فطرية في الحبوب غير المعقمة سطحياً وقد احتل الفطر أعلى نسبة ثلثة تنازلياً الأجناس Aspergillus ، Rhizopus ، Cladosporium ، Alternaria و Penicillium ، وفي الحبوب المعقمة بقيت السيادة للقطر Aspergillus من بين سبعة أنواع فطرية كانت على التوالي ، Alternaria ، Mucor ، Penicillium Link ثم الفطر Cladosporium ، Rhizopus ، Fusarium ex Fr.

واحتل الفطر *Aspergillus* المرتبة الأولى حيث كانت نسبة انتشاره 16.3 % ، 20 % في الحبوب المعقمة لكل من الرز التايلندي والصيني والمصري على التوالي ، كما بينت نتائج العزل والتشخيص إلى وجود 12 نوعا فطريا تابعا للجنس *Aspergillus* وكما موضح في شكل (5) وكانت معظمها فطريات منتجة للسموم Toxigenic Fungi ذات الأثر الخطير على صحة الإنسان والحيوان (Dharmaputra et al., 1993) .

لم نجد ما يشير إلى ظهور الفطريين *A.ornatus* و *A.ochraceus* في حبوب الرز ضمن المصادر والنشريات المتيسرة لدينا وربما يعد تسجيلا لأول مرة ، أن ظهور هذا العدد الكبير من الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus* يكسب هذه الدراسة أهمية خاصة ، ففضلا عن *A.parasiticus* و *A.flavus* انتشار النوعين *A.flavus* و *A.ochraceus* المعروفيين بانتاجهما لسموم — Aflatoxins ظهرت أنواع أخرى تعود لهذا الجنس ومفرزة للسموم الفطرية مثل *A.ochraceus* المفرز لسم *A.versicolor ochratoxins* والمفرز لمركبى الـ

جدول (2) تركيز سموم الأفلاتوكسين B_1 و B_2 مقدرة بجزء بالليلون المستخلصة من عينات الرز المستورد

B ₂	B ₁	منشأ الرز
0	0.38	تايلندي
0	0.72	صيني
0.67	2.35	فيتنامي
0.86	0.87	مصري

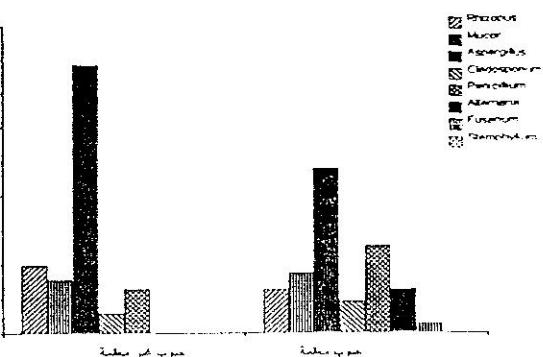
Sterigmatocysten والـ *Versicolorin* و *Aspergillus glaucus* المفرز لمركبى *Echinulin* و *Flavoglaucin* والتي تعد من المركبات الرئيسية التي ينتجها بعض أفراد هذا الجنس (Kozakiewicz, 1996) فضلا عن الفطر *A.sumigatus* الذي ينتج سم *Fumigillin* فضلا عن تسببه اضطرابات تنفسية *Pulmonary Aspergillosis* لكل من الإنسان والحيوان (Raper & Fennell, 1965) ، وأظهرت نتائج العزل والتشخيص وجود ستة أنواع تابعة للجنس *Penicillium* المنتجة للسموم والتي لا تقل خطورة عن السموم التي تنتجها الأفراد التابعة للجنس *Aspergillus* فمن بين الأنواع التي أفرزتها هذه الدراسة بزرز الفطر *P.aurantiogriseum* المعروف بانتاجه للعديد من المركبات السامة هي *Penicillic acid*

أظهرت نتائج تشخيص الفطريات وجود خمسة عشر نوعا فطريا موزعا على الأجناس التي ظهرت في الرز المستورد وكما مدرجة في جدول (1) وبالاحظ أن الفطر *Alternaria* قد تمثل بنوع واحد فقط وهو *A.alternata* أما *Cladosporium* فشمل كلًا من *C.cladosporioides* و *C.sphaerospermum* و *Fusarium* نوعا واحدا فقط وهو *F.semitectum* ، أما جنس *Mucor* فقد شمل *M.haemalis* و *M.cincinnoides* حين تمثل الجنس *Penicillium* بالأنواع *P.chrysogenum* و *P.aurantiogriseum* و *P.frequentans* و *P.citrinum* و *P.simplicissimum* و *P.restrictum* و *Rhizopus* على النوعين *R.stolonifer* و *R.orzace* ، كما احتوت العينات أيضًا على الفطر *Stemphylium sp.* . الوجود الطبيعي لسموم الأفلاتوكسين B_1 و B_2 في حبوب الرز المستورد

أظهرت نتائج تحليل عينات الرز المستورد مختلافة المنشأ بأن جميع هذه العينات قد احتوت على تركيز من أفلاتوكسين B_1 ، حيث أعطت عينات الرز الفيتامى أعلى تركيز من السم وبلغت 2.35 جزء بالليلون بينما كان تركيز السم في عينات الرز المصرى 0.87 جزء بالليلون ، ثم أعقبه الرز الصيني وبلغت تركيز السم فيه 0.72 جزء بالليلون بينما أظهرت عينات الرز التايلندي أو طا تركيز من السم وكانت 0.38 جزء بالليلون . أما أفلاتوكسين B_2 فقد كان تركيزه في عينات الرز المصرى والفيتامى (0.86 و 0.67) جزء بالليلون على التوالي . في حين خلت عينات الرز التايلندي والصيني من هذا السم (جدول 2) .

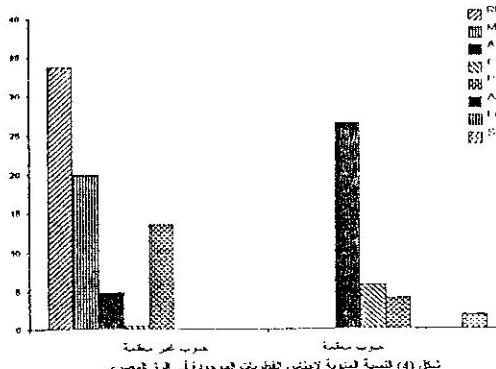
المناقشة

للحظ خلال عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لحبوب الرز المستورد من المنشآت المختلفة تفوق أجناس فطريات الخزن على فطريات الحقل ولا سيما الفطر *Aspergillus* في الحبوب المعقمة أو غير المعقمة سطحيا وكما موضح في الأشكال (4-1) وهذا يعطي مؤشرًا على كون هذه الحبوب قد خزنلت لفترات طويلة في بلد المنشأ قبل تصديرها للعراق ، ان نسبة الرطوبة في جميع عينات الحبوب المستوردة بلغت (12.2 - 13.9 %) وهذا يتناسب تماما مع طبيعة الأجناس والأنواع الفطرية التي ظهرت في الرز المستورد (Magan & Lacey, 1984)

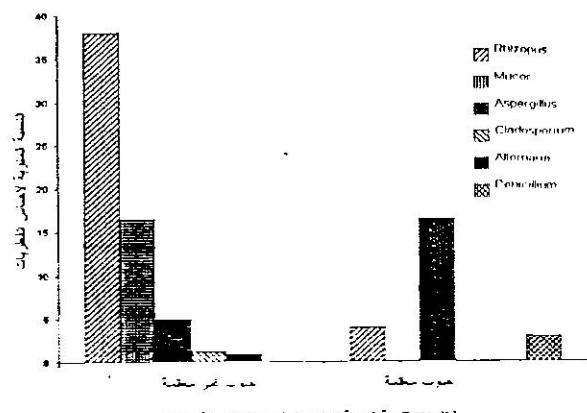


شكل (٣) النسبة المئوية لاحتلال الفطريات الموجدة في الرز الابتدائي

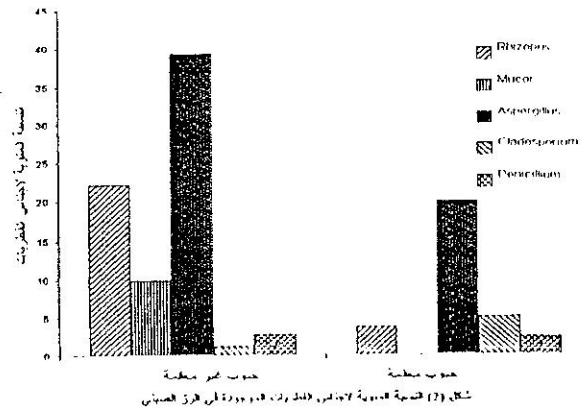
Viomellein و Viomellein
وكذلك تجدر Xanthomegnin
الستي ينتاج Merckii P.chrysogenum
Roquefortine Cyclopiazonic acid
P.simplicissimum
الذى ينتج Merckii Fumitumergenii
Verruculogen Penicilliacacid
(Smith et al., 1994) فضلا عن الفطر
P.chitrum sti ينتج Merckii
وقد ثبتت تسامراني (1997) إلى
تأثيراته الشديدة في انوية وأغشية خلايا الكبد
و لكنى نفراخ الدجاج .



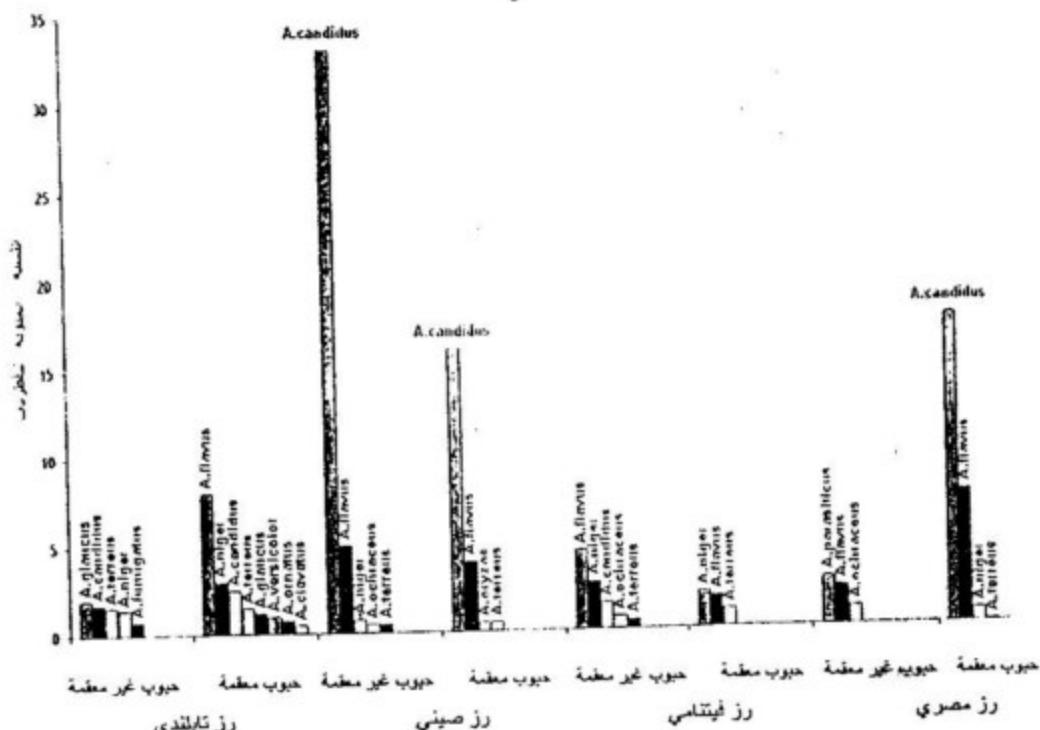
شكل (٤) النسبة المئوية لاحتلال الفطريات الموجدة في الرز المصري



شكل (٥) النسبة المئوية لاحتلال الفطريات الموجدة في الخامات



شكل (٦) النسبة المئوية لاحتلال الفطريات الموجدة في الرز الصناعي



شكل (5) النسبة المئوية لانتشار الانواع التابعة للنفط في الرز المستورد Aspergillus

المصادر

- 24–26 Aug. 1993. pp. 117– 125.
Phuket, Thail
8. Domsch, K. H.; W. Gams and T. Anderson. 1980. Compendium of soil fungi Academic press. London.
 9. Ellis, M. B. 1971. Dematiaceous hyphomycetes. 605 pp. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England.
 10. IRRI 1993. International Rice Research Institute.. Rice in human nutrition. 148 pp.
 11. Kozakiewicz, Z. 1996. Occurrence and Significance of storage fungi and associated mycotoxin in rice and cereal grains In: Mycotoxin Contamination in Grains. (Highly, E and G. I. Johnson, Eds.) pp. 18 – 27. ACIAR, Canberra.
 12. Magan, N. and J. Lacey. 1984. Effect of temperature and pH on water relation of field and storage fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 82 (1): 71 – 81.
 13. Patterson, S. P. and B. A. Robert. 1979. Mycotoxin in animal feed stuffs: Sensitive thin layer chromatographic detection of aflatoxin, ochratoxin A, Sterigmatocystin, Zearalenone and T-2 toxin. J.A.O.A.C. 62 (6): 1265 – 1267.
 14. Ramirez, C. 1982. Manual and atlas of the penicillia. 874 pp. Elsevier Biomedical Press. Oxford.

1. السامرائي ، خلود وهيب . 1997 .
المحتوى الفطري وسم الاسترلين في
الذرة الصفراء المحلية وتاثيراتها في
الدواجن . رسالة دكتوراه . كلية العلوم
/ جامعة بغداد .

2. حبيب ، خالد عبد الرزاق ، كامل سلمان
جبر وأميره ناجي. 1988 .
دراسة حول الفطريات التي تنتقل عن طريق
بذور أصناف الرز . هيئة المعاهد الفنية ،
وقائع المؤتمر العلمي الأول للبحوث الزراعية 21
— 22 ايلول 1988 ، ص 537 – 554 .

3. Al-Adil , K.M ; S . A . Yahia ; B.A.Abdulnour and K . A . Daoud. 1977. Contamination by *Aspergillus flavus* group of some food stuffs in Baghdad area. Bull. Biol. Res. Center. 9: 107 - 114.
4. AOAC 1998. Association of Official Analytical Chemists.Ch. 49 – 05c. International Institute. U.S.A.
5. Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Common wealth mycological Institute. Kew, Surrey. England . 234 pp.
6. Christensen,C.M.; B.S. Miller and J.A. Johnston. 1982. Moiture and its measurement. In: storge of cereal grain and their products. (C. M. Christensen, Ed.). 543pp. AACCI. Inc. st. Paul. Minn.
7. Dharmaputra,O.S.; H.H.Halid and H.H.Susilo.1993. The effect of milling degree on fungal infection protein and total lipid content of milled rice. Proc. of 16th ASEAN Seminar on grain postharvest technology (Naewbanij,J.O.; A.manilay and A.S.frio, Eds.).

- in rice. Seed Sci. and Techno. 16: 693 – 698.
17. Smith, J. E.; G. L. Solomons; C. W. Lewis; J. G. Anderson. 1994. Mycotoxins in human nutrition and health. 300 pp. Directorate. General XII, Res. Develop.
15. Raper, K. B. and D. I. Fennell. 1965. The genus *Aspergillus*. 685 pp. Williams and Wilkins comp. Baltimore. USA
16. Shetty, S. A. and H. S. Shetty. 1988. Development and evaluation of method for detection of seed borne fungi

Identification of fungi and their toxins associated with Imported rice grain to Iraq

Suzan.A.AL- Habeeb Khalid .A.Habib Khalid .AL-Obaidy

Abstract

Investigations on Imported rice were done concerning fungi of field and storage origin as well as mycotoxine production in the form of aflatoxin. Identification of 1356 fungal isolates revealed the existence of 15 different species belonging to 8 genera, which include Alternaria, Aspergillus, cladosporium, Fusarium, Mucor, Penicillium, Stemphylium and Rhizopus.

The Genus Aspergillus was dominant in all imported rice samples and included A.candidus,A.clavatus , A.flavus , A. fumigatus ,A.glucus, Aochraceous , A.ornatus , A.oryzac, A.parasiticus, A.terreus and A.versicolor .

The study revealed the occurrence of aflatoxin B1 in all imported rice samples. The highest amount of this toxin was found to be 2.35 ppb in Vietnamese rice, while the highest amount of Aflatoxin B2 was 0.86 ppb in the Egyptian rice .