وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

تلوث حبوب الذرة الصفراء والحنطة بسم(Deoxynivalenol(DON
في محافظتي كربلاء وبابل

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير في
علوم الحياة/ علم نبات – سموم فطرية

من قبل

هديل أموري عبد علي العامري

(بكالوريوس / علوم حياة/جامعة كربلاء)

بإشراف

أ. د. سامي عبد الرضا الجميلي

١٤٣٦ هـ ٢٠١٥ م

بسم الله الرحمن الرحيم

وَقُل رَّبِّ أَدْخِلْنِي مُدْخَلَ صِدْقٍ
وَأَخْرِجْنِي مُخْرَجَ صِدْقٍ
وَاجْعَل لِّي مِن لَّدُنكَ سُلْطَاناً
نَّصِيراً

صدق الله العلي العظيم

سورة الاسراء : اية{٨٠}

الإهداء

الى سيدالثقلين.....أمام القبلتين

صاحب قاب قوسين..... جد الحسن والحسين

الرسول الكريم محمد صلى الله عليه واله وسلم

الى من ينجلي برؤيتهم تعب النفس ووفقني دعاؤهم في كل حين ((أمي وأبي)) العزيزين أدامهما الله

الى شريك رحلة

الحياة.....((زوجي))

الى رفقاء دربي ونبضات قلبي.....((أخواتي وأخواني))

الى الأمل الذي ولداثناء هذه الدراسة....أبني.((حسين))

شكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين محمد وعلى آله الطيبين الطاهرين.

بعد أن منّ الله عز وجل عليَّ بنعمته في إنجاز عملي البحثي لا يسعني إلا أن أتقدم بجزيل شكري وتقديري وإمتناني إلى الرمز العلمي الذي أضاء لي طريقي أُستاذي ومشرفي الفاضل الدكتور سامي عبد الرضا الجميلي لجهوده المخلصة المتميزة في إقتراح موضوع الرسالة ومتابعته المستمرة والمتواصلة لي طيلة مدة البحث وإرشاداته القيمة . أدامه الله عز وجل رمزاً من رموز العلم. كما ويشرفني إن أتقدم بشكري الكبير وامتناني إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة اساتذة واداريا وبالخصوص الدكتور نصير مرزة لتوفير مستلزمات الدراسة والبحث.

واقدم خالص الشكر و الامتنان إلى السيد والأخ صاحب الأخلاق الرفيعة محمد فخري لجهده المتواصل وعملها الدؤوب في مساعدتي على أكمال البحث وفقه الله لكل خيروأتقدم بالشكر الخالص لمن وظف نفسة للعلم الدكتور حيدر جبر كحبوش لتشخيص المقاطع النسجية أدامه الله للخير وجعله رمزاً من رموز العلم و أتقدم بالشكر الجزيل للدكتور مجيد متعب ديوان لمساعدته القيمة في تشخيص الفطريات وأتقدم بخالص الشكر والامتنان للست دعاء فايق الأسدي لتوجيهاتها المستمرة ونصائحها الراشدة أدامها الله للخير.وأقدم شكري وامتناني إلى زملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا لتقديمهم لي الدعم المعنوي طيلة مدة البحث(صديقتي المخلصة رؤى أمين ,آيات شنشول ,السيد ذوالفقار,السيد أسعد ,السيد اسلام ,ست سهاد، نادية، نبراس ،ست بركات ،ندى, ضحى, دعاءعلي ودعاء عبدالكريم)واقدم خالص الشكر والتقدير الى السيد حيدر عبد الواحد عاصي لقيامه بفحوصات الدم أدامه الله للخير.واقدم شكري إلى الست هدى محمد صالح لوقفتها الجادة معنا في البحث وفقها الله للخير واقدم شكري إلى السيد محمد مهدي الشمري لارشاداته المختبرية واقدم شكري وأمتناني الى عائلتي الكريمة وزوجي العزيز لمساعدتهم القيمة وجهودهم المستمرة معي ادامهم الله فمن دونهم ماكان لي ان اكون

هديل

٢٠١٥

الخلاصة

تضمنت الدراسة الى تقييم فعالية زيت الزيتون في خفض سمية السم المقيىء Deoxynivalenol(DON) للنظم الحيوية لإناث الجرذ الابيض فضلاً عن إجراء مسح أولي عن مستوى تعرض أفراد المجتمع الكربلائي لهذا السم.

وبينت نتائج إختبار قابلية عزلات الفطر *Fusarium* Spp. على إنتاج سم الـ Deoxynivalenol (DON) باستخدام تقانة صفائح الكروماتوغرافية الرقيقة Thin Layer Chromatography(TLC) وجود ست عزلات منتجة من أصل تسعة عشر عزلة أي بنسبة ٣١،٥٪ .شُخصت الأنواع المنتجة لسم الـ DON وكانت جميعها تعود للنوع *F. graminearum*

وأظهرت تجربة التحري عن تلوث عينات الذرة الصفراء والحنطة تلوث عينات الذرة الصفراء والحنطة بالسم DON حيث أظهرت نتائج التحليل الكيميائي لعينات الذرة الصفراء بإستعمال تقنية صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة بتلوث ٤ عينات من أصل ١٢عينة من عينات الذرة الصفراء بالسم DON أي بنسبة ٣٣،٣٪، في حين كانت النسبة المئوية لتلوث حبوب الحنطة بالسم هي ٢٥٪ أي بتلوث ٣ عينات من أصل ١٢عينة.

وأوضحت نتائج تجربة تأثير بعض العوامل في نمو فطر الـ (*F. graminearum* أن عامل pH أثر بشكل ملحوظ حيث لم ينمو الفطر وتثبط بالكامل عند pH=٣ بينما بقية الأرقام وصل معدل قطر المستعمرة إلى ٩ سم في اليوم الثامن عند الرقم الهيدروجيني ٦، أماعامل الملوحة فأظهرت النتائج أنه كلما زاد مستوى الملوحة قل معدل نمو الفطر حيث وصل عند مستوى ١٪غم إلى٩ سم بينما عند المستوى ٤٪غم وصل إلى ٤،٣ سم.

وأظهرت نتائج تأثير سم الDONعلى إناث الجرذ الابيض تأثير كبير في معاير الدم الكيموحيوية والفسلجية حيث ارتفع معدل تعداد كريات الدم البيض بفارق معنوي مقارنتا بمعاملات السيطرة وانخفض كل من معدل تعداد كريات الدم الحمر ومكداس الدم ومعدل الهيموكلوبين الكلي وارتفاع انزيمات الكبد في معاملات السم وأنخفاض البروتين الكلي بالأضافه الى حدوث تأثير كبير في الأنسجة المدرسية مثل اللتهابات في الخلايا الكبدية وانحلال في الكبيبة والنبيبات في الكلية كذلك حدوث ضمور في الزغابات بالامعاء ونزف دموي في الطحال

في حين لم يبدي زيت الزيتون اي تأثير سمي في المعاير المدروسة في الوقت الذي ابدى فعالية كبيرة وحماية عالية للنظم المدروسة من اثار سم الDON معاملة زيت الزيتون متبوعا" بسم ال DON مما يدل على كفائة العالية في اختزال تأثيرات السم داخل إناث الجرذ الابيض

أما تجربة الكشف عن مستويات التعرض لهذا السم في المجتمع الكربلائي فقد أظهرت النتائج بوجود السم في عينة واحدة(فرد واحد) من أصل خمسين عينة أي بنسبة ٢٪ اذ ظهر هذا السم في دم احد المصابين بالتهابات كلوية وهذا مؤشر واضح على تلوث جزئي في الأغذية الموجودة في الأسواق المحلية.

قائمة المختصرات

الرمز	الوصف
TLC	Thin Layer Chromatography
FAO	Food and Agriculature Organization
GPT	Glutamic Pyruvat Transaminase
GOT	Glutamic Oxaloacite Transaminase
WBC	White Blood Cells
RBC	Red Blood Cells
Hb	Total Hemoglobin Concentration
PCV	Packed Cell Volume
Zen	Zearalenone Toxin
PDA	Potato Dextrose Agar
RF	Retradation Factor
GC	Gas –Liquid Chromatography
HPLC	High Performance Liquid ChromatograpHy

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1	المقدمة Introduction	1
2	استعراض المراجع Lierature Review	4
2-1	الفطريات المرافقة للحبوب	4
2-2	فطر الFusarium	5
2-2-1	تصنيف فطرFusarium	5
2-2-2	الخصائص المظهرية	6
2-2-3	الخصائص المجهرية	6
2-3	السموم الفطرية التي ينتجها الفطر Fusarium	6
2-4	الترايكوثيسيناتTrichothecenes	7
2-5	التركيب العام والتركيب الكيميائي للترايكوثيسينات	8
2-6	تلوث المحاصيل والمنتجات الزراعيه بسموم الترايكوثسين	9
2-7	تأثيرات سموم الترايكوثسينات في صحة الإنسان	10
2-8	سم DON (Deoxynivalenol)	11
2-9	الخواص الكيميائية والفيزيائية لسمDON	12
2-10	تاثير سم الDONعلى الخواص الكيميائية والفيزيائية	13
2-11	العلاقة بين الفطر Fusarium و سم الـ DONوتلـوث الاغذية به	14
2-12	دراسة تأثير بعض العوامل البيئية في نمو الفطر Fusarium المنتج لسم الـDON	15
2-12-1	الرقم الهيدروجيني (pH)	15
2-12-2	تاثير الملوحةNac l	16
2-13	تأثير المستخلصات النباتية على السموم الفطرية	17
2-14	زيت الزيتون	17
2-14-1	وصف عام لنبات الزيتون	17
2-14-2	مكونات زيت الزيتون	17
2-14-3	الاهمية الطبية لزيت الزيتون	17
3	المواد وطرائق العمل	19
3-1	المواد	19
3-1-1	الاجهزة والادوات المستعملة	19

قائمة المحتويات

2-1-3	المواد الكيميائية المستعملة	20
3-1-3	الأوساط الزرعية المستخدمة	21
4-1-3	الحيوانات المختبرية	21
2-3	طرائق العمل	22
1-1-2-3	جمع العينات	22
2-1-2-3	الاوساط المستخدمة في الدراسة	22
1-2-1-3	**وسط أكار البطاطا والدكسترو**	22
2-2-1-3	وسط الرز	22
3-2-3	عزل الفطر Fusarium	23
4-2-3	حفظ عزلات الفطر Fusarium	23
5-2-3	تنمية عزلات الفطر Fusarium على وسط الرز لإنتاج سم الـDON	23
6-2-3	الكشف والتحري عن سم ال DoN	24
1-6-2-3	استخلاص سم الDON	24
2-6-2-3	التنقية بأستعمال عمود الكروماتوغرافي	24
7-2-3	الكشف عن سم الـ DON في مزارع الرز بأستعمال صفائح الكروماتوكرافي (TLC)	25
8-2-3	الكشف التأكيدي للسم DON	25
9-2-3	التحري عن وجود سم الـDON في عينات حبوب الذرة الصفراء وحبوب الحنطة بإستعمال تقنيةTLC .	26
10-2-3	**دراسة تأثير بعض العوامل في معدل النمو القطري للفطر** Fusarium **المنتج لسم ال DONمختبرياً**	26
1-10-2-3	**تأثير الرقم الهيدروجيني(pH)**	26
2-10-2-3	**تأثير الملوحة(NaCl)**	26
3-3	تقيم فعالية زيت الزيتون في حماية النظم الحيوية لحيوانات الجرد الابيض من الاثار السمية السم DON	27
1-3-3	تحضير سم DON	27
2-3-3	تهيئة مادة زيت الزيتون	27

قائمة المحتويات

3-3-3	تنفيذ المعاملات	27
4-3	تجربة الكشف عن سم الـ DON في دم بعض أفراد المجتمع في محافظة كربلاء	29
4	النتائج والمناقشة	30
1-4	عزل وتشخيص الفطرFusariumsppفي عينات حبوب الذرة الصفراء والحنطة	30
2-4	اختبار قابلية عزلات الفطرFusariumsppعلى إنتاج سم DON على وسط الرز	30
3-4	تشخيص أنواع فطر Fusarium المنتجة لسم DON	31
4-4	الكشف عن السم في عينات حبوب الحنطة	32
1-4-4	الكشف عن السم في عينات حبوب الذرة الصفراء	32
2-4-4	الكشف عن السم في عينات حبوب الحنطة	32
5-4	دراسة تأثير بعض العوامل في معدل النمو القطري للفطر F. graminearum المنتج للسم مختبرياً	32
1-5-4	الرقم الهيدروجيني (pH)	32
2-5-4	تأثير عامل الملوحة(NaCl)	34
6-4	تقييم فعالية زيت الزيتون في حماية النظم الحيوية لحيوانات الجرذ الأبيض من الآثار السمية لسم DON	37
1-6-4	معايير الدم الكيموحيوية	37
2-6-4	حساب مستويات أنزيميGOT وGPT	37
1-2-6-4	حساب مستوى البروتين الكليTP	38
3-6-4	الاختبارات الفسلجية لدم	38
7-4	الدراسة النسيجية	41
8-4	تجربة الكشف عن سم DON في دم بعض أفراد المجتمع في محافظة كربلاء	48
1-5	**الإستنتاجات**Conclusions	٥٣
2-5	التوصياتRecommendations	٥٤

قائمة الأشكال

٢-١	التركيب الكيميائي للترايكوثسينات	٨
٢-٢	التركيب الكيميائي DON	١٢

قائمة الجداول

٣-١	المستعملـة في تنفيذ الدراسة الأجهزة والأدوات	١٩
٣-٢	المواد الكيميائية المستعملة في الدراسة	٢٠
٣-٣	الاوساط الزرعية المستخدمة	٢١
٣-٤	يوضح معاملة زيت الزيتون للحيوانات المختبرة	٢٧
٤-١	قابلية عزلات فطر *Fusarium* على إنتاج سم DON.	٣١
٤-٢	(تأثير مديات مختلفة من الرقم الهيدروجيني pH) على معدل نمو الفطر*F. graminearum* على وسط PDA	٣٣
٤-٣	تأثير مستويات ملحية مختلفة في معدل نمو الفطر *F. graminearum* على وسط PDA .	٣٥
٤-٤	تأثير معاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسم DON في بعض معايير الدم الكيموحيوية لحيوانات الجرذ الابيض.	٣٨
٤-٥	تأثير مادة زيت الزيتونفي الفعالية السمية لسم DON في بعض معايير الدم الفسلجية لحيوانات الجرذ الابيض.	٤٠

قائمة الصور

٣٤	تاثير الرقم الهدروجيني على نمو الفطر	٤-١
٣٦	تأثير مستويات ملحية مختلفة في معدل نمو الفطر *F. graminearum*	٤-٢
42	تأثير سم DONفي كبد حيوانات الجرذ الأبيض (قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السيطرة B= معاملة السم .	3-4
42	تأثير معاملة سم DONفي كلى حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السيطرة B= معاملة السم	4-4
43	تأثيرمعاملة سمDONفي الأمعاء الدقيقة لحيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السيطرة B= معاملة السم .	5-4
43	تأثيرمعاملةسم DONفي الطحال لحيوانات الجرذ الأبيض (قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السيطرة B= معاملة السم	6-4
44	مقطع في كبد معاملبزيت الزيتون (قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السيطرة B= معاملة زيت الزيتون	7-4
44	مقطع في كلى معاملة بزيت الزيتون (قوةالتكبيرA(X40= معاملة السيطرة B= معاملة زيت الزيتون .	8-4
45	مقطع في أمعاء دقيقة معاملة بزيت الزيتون(قوةالتكبيرA(X40 =	9-4

	معاملة السيطرة B= معاملة زيت الزيتون	
10-4	مقطع في الطحال معاملبزيت الزيتون (قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السيطرة B= معاملة زيت الزيتون	45
11-4	تأثيرمعاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسمDON في كبد حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السمB= معاملةالسم و زيت الزيتون	46
12-4	تأثيرمعاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسمDON في كلى حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السم B= معاملةالسم و زيت الزيتون	46
13-4	تأثيرمعاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسمDON في أمعاء حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السم B= معاملةالسم و زيت الزيتون.	47
14-4	تأثيرمعاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسمDON في طحال حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبيرA(X40 = معاملة السم B= معاملةالسم و زيت الزيتون	47

المقدمة

INTRODUCTION

1 -المقدمة(Introduction)

تعد الذرة الصفراء والحنطة من المحاصيل الحبوبية المهمة في العراق والعالم، وتاتي أهميتها من خلال تعدد استخدامها إذ تدخل في غذاء الانسان بصورة مباشرة أو غير مباشرة او من خلال استخدامها كمكون أساسي في العليقة الحيوانية (الاسودي، ٢٠٠٢).

تتعرض الحبوب والمحاصيل الزراعية المختلفة للإصابات الفطرية في الحقل و أثناء عمليات الحصاد والنقل والخزن وتعد الأنواع الفطرية التابعة لأجناس *Aspergillus* ، *Penicillium*، *Bipolaris Fusarium* الأكثر شيوعاً في احداث تلك الأصابات (ميخائيل و بيدر ، ١٩٨٢) .

ينتج عن الإصابات الفطرية آثار سلبية متمثلة في خفض حيوية إنبات الحبوب واختزال نسبة الإنبات علاوة على قدرة العديد من الفطريات المخزنية على إنتاج مركبات أيضية سامة في تلك الحبوب تدعى بالسموم الفطرية (Mycotoxins) ،مما يقلل من قيمتها الإقتصادية وتصبح غير صالحة للإستهلاك البشري والحيواني (سعيد ، ١٩٨٥) .**والسموم الفطرية (Mycotoxins) هي مواد أيضية ثانوية سامة تنتجها الفطريات خلال طور النمو في مختلف أنواع الأغذية ومحاصيل الحبوب وتؤثر في صحة الإنسان والحيوان** (Ciegler وآخرون ١٩٨١)

تنتشر فطريات متنوعة خاصة أنواع فطر الـ*Fusarium* spp.-إنتشارا واسعا في البيئة وتصيب محاصيل عديدة، وخاصة الذرة الصفراء (Abbas وآخرون ١٩٨٤) وأنواع جنس الـ *Fusarium* شائعة الوجود في الطبيعة ويمكن أن تصيب النباتات المزروعة في الحقل وتسبب تعفن العرنوص(Ear rot)في الذرة الصفراء (Wyllie and Morehouse ١٩٧٧). ولا شك ان انواع فطريات *Fusarium* في طليعة الفطريات المنتجة للسموم ومنها سموم الترايكوثسينات التي تشكل مع الافلاتوكسين والزيرالينون و الفيومونايزين والاوكراتوكسين مجاميع السموم الفطرية الاكثر خطورة في العالم(Adebanjo and Bankole ,2003).

تحتوي سموم الترايكوثيسينات على مجموعة كبيرة من المركبات السامة تقدر بأكثر من 150 مركب جميعها سموم فطرية تتميز بتأثيرها السام للإنسان والحيوان والنبات تنتج بواسطة الأيض الثانوي لسلالات عدد من الفطريات مثل الاجناس *Fusarium* و

*Verticimonsoporium*و *Trichoderma* و *Myrothecium* و *Trichothecium* و *Cylendrocarpon* و *Stachybotrys* و *Cephalosporium* (D'mello, ١٩٩١).

تقسم سموم الترايكوثسينات إلى أربع مجاميع وهي (D,C,B, A) حسب التركيب الكيميائي لجزيئة السم , أكثر هذه المجاميع تأثيرا في صحة الإنسان هي مجموعتي (Bو A) والتي غالبيتها تنتج بواسطة الأيض الثانوي للفطر *Fusarium* ويعتبر سم الـ DON أكثر سموم الترايكوثيسين ضمن مجموعة B كونها ترافق معظم أنواع الحبوب والفطر المنتج لهذا السم بشكل أساسي هو الفطر *Fusarium graminearum*(ابراهيم والجبوري ١٩٩٨،).أشارGerhardو Rudolf (2005) بأن الفطر *F.graminearum* يسبب لفحة رأس الحنطة الفيوزارمي على محصول الحنطة , ومرض تعفن العرانيص الجبرلي على محصول الذرة الصفراء في الحقل أذ ينتقل مع الحبوب إلى المخزن منتجا سم الـ DON في الحبوب عندما تكون الظروف ملائمة لانتاج السم اذ يعد هذا المرض من الأمراض الخطرة التي تحدد إنتاج الحبوب في العديد من دول العالم , فخلال الاعوام١٩٩١-١٩٩٧ كانت الخسائر تقدر ٤,٨ بليون دولار في الولايات المتحدة وان نسبة كبيرة من هذه الخسائر كانت بسبب تلوث الحبوب بسم الـ DON لما يتميز به من تأثيرات شديدة في الإنسان والحيوان , فمن تأثيراته في صحة الإنسان , تتمثل بأعراض تقيء وغثيان والآم في البطن وصداع ودوار وحمى وتتطور الحالة إلى إسهال شديد ونزف معوي(Luo ,1988) .

واكد Overnesوآخرون (1997) بأن لسم الـ DON تأثيرات في الجهاز المناعي لكونه يختزل الأجسام المضادة , مما يجعل الجسم أكثر حساسية للأصابة بأمراض فايروسية وبكتيرية

في حين أشارHallوWild (1996) بأن السمية المزمنة للسم الـ DON تسبب أمراض خطيرة مثل سرطان المريء وسرطان المعدة وسرطان الكبد وأمراض التهاب المفاصل.

أوضح Alexander وEriksend(١٩٩٨)بأن سم الـ DON يعمل على تثبيط البروتين وذلك لأنه يثبط تخليق الرايبوسومات والحوامض النووية RNA وDNA . وأكد Marescaوآخرون (2002) بأن سم الـ DON له تأثيرات في امتصاص المواد الغذائية من قبل الخلايا المعوية ويؤثر في جاهزية هذه المواد للأمتصاص لذلك فأن يثبط الكثير من التحويلات الإنزيمية للمواد الغذائية . تم تحديد المستوى المسموح به لهذا السم في حبوب الحنطة وفي بقية الحبوب الاخرى فقد بلغ 0,3- 2 ملغرام/كيلوغرام أما في الطحين المستخدم

للاستهلاك البشري فقد بلغ ٠,٧٥ ملغرام /كيلوغرام وهذه المستويات كانت معتمدة فقط في دول الاتحاد الاوربي(FAO ,2004)إن جميع التأثيرات الخطيرة لسم الـ DON وإمكانية وجوده بتراكيز عالية والتي قد تفوق الجرعة القاتلة وكذلك إمكانية إنتاجه بمدى حراري واسع (8-25م°)وبفترات زمنية قصيرة (10-15) يوم و إنتاجه من قبل عدد غير قليل من الفطريات العائدة للجنس *Fusarium* مثل*F.compactum* و *F.culmorum* و *F.graminearum* و*F.verticilliodes* والدلائل تشير الى إن الفطر *F.graminearum* هو المنتج الرئيسي لسم الـ DON والذي يتمتع بإمكانية عالية على إصابة العديد من محاصيل الحبوب في بيئات متباينة الظروف البيئية فانه من الارجح ان يكون موجود ويصيب المحاصيل تحت ظروف العراق وعلى ضوء ماتقدم تم اجراء هذا البحث والذي يهدف الى:-

آ-التحري عن سم DON في حبوب الحنطة والذرة الصفراء في سايلوات محافظتي كربلاء وبابل

ب-إجراء مسح اولي عند احتمالية تواجد سم DON في دماء أفراد من المجتمع الكربلائي

ج-دراسة فعالية مادة زيت الزيتون في إمكانية اختزال سمية DONداخل الجسم الحي لإناث الجرذ الابيض

ولتحقيق هذه الاهداف تمحورت الدراسة حول الاتي

١- عزل وتشخيص أنواع الفطر*Fusarium spp* من حبوب الحنطة والذرة الصفراء

٢- اختبار قابلية عزلات أنواع الفطر*Fusarium* Spp.على إنتاج سمDON وتحديد العزلة الأكثر إنتاجا للسم بتقنية TLC.

٣- تشخيص الأنواع الفطرية المنتجة لسم DON.

٤- دراسة تأثيربعض العوامل على نموالفطرالمنتج للسم على وسطPDA.

٥- تقيم فعالية زيت الزيتون في حماية النظم الحيوية لحيوانات الجرذ الابيض من الاثار السمية لسم الDON.

٦- التحري عن مدى تعرض أفراد المجتمع الكربلائي بسم DON

الاستعراض المراجع

LITERATURES REVIEW

2- استعراض المراجع Literature Review

1-2الفطريات المرافقة للحبوب

تتعرض الحبوب لمهاجمة العديد من الفطريات سواء في الحقل أوالمخزن، فقد قسم Christensen (1965) الفطريات التي تصيب الحبوب الزراعيةإلى ثلاثة مجاميع المجموعة الاولى، فطريات الحقل(Field Fungi)، التي تصيب المحاصيل الزراعية قبل الحصاد وتضم أنواعًا من الأجناس *Alternaria*،*Fusarium* و *Helminthosporium* و *Cladosporium*، أما المجموعة الثانية ,فتضم الفطريات التي تهاجم المحاصيل الزراعية أثناء خزنها ، وتعرف بفطريات الخزن Storage Fungi ، وتشمل انواعًا من الجنس*Aspergillus* و *Penicillium*، وتمتاز هذه الفطريات بأن اغلبها منتجة للسموم (Toxins) والتي تسبب امراض للإنسان والحيوان عند استهلاك المحاصيل الملوثة بها ، اما بالنسبة للمجموعة الثالثة فتضم فطريات التعفن (Rot fungi) التي تنمو على بقايا المواد النباتية وتشمل.*Chaetomium* spp.و *Papulospora* spp.و *Sordaria* spp و*Fusarium graminearum*.

و يعتمد مقدار التلف والضرر لهذه الفطريات على طبيعة نمو المحصول وظروف الخزن والاحتياجات البيئية لهذه الفطريات ، ويمكن أن تقسم الفطريات التي تصيب المحصول على أساس المتطلبات البيئية الى مجموعتين ، المجموعة الأولى وهي فطريات الحقل التي تهاجم الحبوب خلال مدة تكوينها وعند النضج وخلال مدة الحصاد ، إذ وجد ان نشاطِ هذه الفطريات يعتمد على المحتوى الرطوبي للحبوب والرطوبة النسبية واقل محتوى رطوبي للحبوب هو 24% ورطوبة نسبية 95% فضلاً على درجات الحرارة اللازمة لنمو هذه الأنواع والتي من اهمها *Alternaria* و*Fusarium* (Almeida وآخرون 2000) . والمجموعة الثانية وهي فطريات الخزن التي تعد اكثر خطورة على المحصول في اثناء مدة الخزن إذ تشكل فطريات الخزن مشكلة حقيقية للحبوب ،ومعظم فطريات الخزن التي تنمو على الحبوب تحتاج إلى رطوبة نسبية تساوي تقريبا 65-90 % ومن الأجناس الرئيسة لهذه الفطريات هيspp *Aspergillus*و spp *Fusarium* و *Pencillium* spp و *spp* *Alternaria* و spp *Mucor* و*Rhizopus spp* . (Chelkowski وآخرون1983).

وفي دراسة قام بها ميخائيل و بيدر (١٩٨٢) أكد ان الأنواع الفطرية التابعة لأجناس *Aspergillus*، *Penicillium*، *Fusarium* و *Bipolaris*الأكثر شيوعاً في احداث الأصابات للمحاصيل الزراعية وحبوبها.

ومن بين الأنواع المهمة ,والتابعة لجنس *Fusarium* والتي تصيب الذرة الصفراء . *F.proliferatum* F verticillioides،*F. graminearum* , *F. anthophilum* وأكثرها انتشاراً النوع*F. verticillioides* (Munkvoldوآخرون ١٩٩٧)

وفي دراسة قام بها مغلس (٢٠٠٤),على حبوب الذرة الصفراء وجد ان الفطريات الاكثر تواجد فيها هي *Fusarium* و *Aspergillus* و *Cylindrocarpon* و *Penicilllium* و*Drechslera* وكان أكثرها تكرارا الأنواع العائدة للجنس*Fusarium* فقد وجدت في جميع العينات.

وفي دراسة قام بها الحميري (٢٠٠٧) على حبوب الحنطة ظهرت الانواع *Aspergillus* ، *Fusarium*، *Alternaria*، *Penicillium, Rhizopus* إذ كانت الأنواع العائدة للجنس*Aspergillus* هي الاكثر اصابة للحبوب *A. flavus*و*A. niger*, أذ بلغت 43% كما بينت النتائج أن الجنس *Fusarium* احتل المرتبة الثانية فكانت نسبة الإصابة به 26% .

وفي الدراسة التي قام بها نعمة (٢٠١١) ،على بعض الحبوب وجد فيها ان فطر *Fusarium* يصيب الذرة الصفراء والحنطة والفستق الحلبي وفستق الحقل وحب زهرة الشمس لكن بنسب متفاوتة حيث كان الفطر*F.graminearum* أكثر إصابة للذر الصفراء .

وفي دراسة قام بها القيسي (٢٠١٠) على حبوب الذرة الصفراء وجد فيهافطريات *Aspergillus*و *Penicillium* و *Fusarium* و *Rhizoctonia* و *Alternaria* و *Rhizopus* حيث تصدرت أنواع الجنس *Aspergillus* المرتبة الأولى بنسبة 35 % إذ كانت أكثر الأنواع وجوداً *A.flarus* و *A.niger* يليه الجنس *Fusarium* فقد أحتل المرتبة الثانية بنسبة تلوث 20 % وكانت من أهم الأنواع المعزولة والتابعة لهذاالجنس *F. graminearum* ,*F.moniliforme*.

2-2 فطرالـ *Fusarium. spp*

ان أول تسجيل للفطر *Fusarium* كان عام 1812 من قبل الباحث Fries كما ذكر Booth (1971) ، وتوالت الدراسات منذ ذلك الحين واكتشفت انوع متعددة تعود لهذا الجنس ، وانواع الجنس*Fusarium* تسبب الكثير من الامراض النباتية ويمكن ان تحدث هذه الامراض مباشرة للنبات والانسان والحيوانات الداجنة او غير مباشرة من خلال السموم التي تفرزها (Boonpasart و Vismer 2002)ويعد الفطر *Fusarium* من فطريات التربة ومن أكثر الفطريات التي تصيب الذرة الصفراء أهمية وله المقدرة على اصابة النبات في جميع مراحل نموه ،اذ وجد أن مايقرب من 50% من الحبوب الناتجة من نباتات مصابة تحمل الفطر *Fusarium* (Robledo ,1991).

2-2-1 تصنيف الفطر *Fusarium*

يعود الفطر *Fusarium* الى مملكة الفطريات (Fungi) وقسم الفطريات الحقيقية (Eumycota) وتحت قسم Deutromycotina وصف Hyphomycetes وشبه رتبة Moniliales وشبه عائلة Tuberculariaceae لكن بعد اكتشاف الطور الجنسي (Teleomorph) لبعض أنواعه أخذ يُصنف ضمن الفطريات الكيسية AscomycotaLeslie (Summerell(2006)**)**، وأن الطور الجنسي لأغلب أنواعه هوzeae *Gibberella* (Seifert, 1996) **.**

2- 2-2 الخصائص المظهرية

أشــارت دراســات متعــددة الــى أن مســتعمرات الفطــر *Fusarium* الناميــة فــي الوســط الغــذائي (PDA) Potato Dextrose Agar بدرجــة حــرارة 25 ± 2°م تَكــون ذات قـوام قطنـي ومتوسـطة الـى سـريعة النمـو ومنتظمـة أو متعرجـة الحـواف، فضـلاً عـن ذلـك يُظهـر الفطـر تغـايراً كبيـراً فـي الـوان المسـتعمرات وأشـكالها حيث تكون بيضـاء اللـون فـي بدايـة نموهـا علـى الطبـق غيـر أنّهـا تتحـول الـى اللـون الـوردي والبرتقـالي والإرجـواني والأصــفر أو البنــي بتقــدم عمــر المســتعمرة (Seifert,1996)ويتــأثر لــون الصــبغات المُنتجــة فــي الطبــق أو الموائــل (slants)بنــوع الوســط الغــذائي ومُــدة الإضــاءة التــي يتعرض لها الفطر وحموضة الوسط وإن أفضل وسط لإنتاج الصبغات هوPDA

(Summerell وآخرون ٢٠٠٣; Nelson وآخرون ١٩٨٣)

3-2-2 الخصائص المجهرية

يَظهـر الطـور اللاجنسـي للفطـر علـى هيئـة خيـوط فطريـة مُقسـمة مُنتجـاً ثلاثـة أنـواع مـن الأبــواغ هــي الأبــواغ الكونيديــة الكبيــرة(Macroconidia)والأبــواغ الكونيديــة الصــغيرة (Microconidia)والأبـــواغ المقاومـــة(Chlamydospores). تكـــون الأبـــواغ الكونيديــةالكبيرة هلاليــة أو مغزليــة الشــكل ومتعــددة الأنويــة ومقســمة بعــدد مــن الحــواجز العرضـية،ذات خليـة قميـة معقوفـة وخليـة قاعديـة قدميـة الشـكل وتتكـون علـى تراكيـب تعـــــــرف بإســـــــم الوســـــــادات الكونيديـــــــة(Sporodochia) (Booth, 1971 ; Nelson*etal*, 1983)، أمــا الأبــواغ الكونيديــة الصــغيرة فتكــون أصـغر حجمـاً مـن الأبـواغ الكونيديـة الكبيـرة وبأشـكال بيضـوية أو كلويـة وتتكـون علـى الغـزل الفطـري الهـوائي، وتنـتج بعـض أنـواع الفطـر أبـواغ حرشـفية سـميكة الجـدران وذات محتــوى دهنــي عــالي تضــمن بقــاء الفطــر فــي الظــروف البيئيــة غيــر الملائمــة (Booth, 1971; Nelson *et. al*, 1983; Nelson *et. al*, 1994).

3-2 السموم الفطرية التي ينتجها فطر الـ *Fusarium*

تتميـز السـموم الفطريـة المنتجـة مـن جـنس الــ *Fusarium* بكونهـا ثابتـة حراريـاً ولا تتـاثر بـدرجات الحـرارة عنـد التعـرض لهـا , وهـذا يوضـح انـه عنـد تواجـد هـذه السـموم فـي احـدى المحاصـيل الحقليـة ثـم تعـرض هـذه المحاصـيل لـدرجات الحـرارة المختلفـة عنـد الاسـتهلاك البشـري لهـا فهـذا لا يـؤثر علـى طبيعـة تركيـب هـذه السـموم ممـا يزيـدها خطورة على الانسان (Oehme and Rumbieha ,1997)

وان سـموم الـفطر *Fusarium*االموجـودة فـي الغـذاء تتكـون بشـكل اسـاس فـي الحقـل على الرغم من بعض السموم، ربما تتكون في اثناء الخزن (Doyle ,1997).

تقسم المجاميع الاساسية للايضيات الثانوية (Metabolites Secondary) للفطر *Fusarium*على ثلاثة اصناف هي صنف البوليكايدات(polyketides) ، ومن اشهر هذه المركبات هي (Zen) Zearalenoneالذي يقع ضمن صنف -O alkylbenzoicacidlactones وصنف التيربينويدات(Terpenoids) ومن اشهر المركبات

هو Nivalenol(NIV) الذي يقع ضمن صنف الترايكوثيسينات(T) (Trichothecenes). كذلك يضم الجبريلنات(Gibberellins)التي تقع ضمن صنف kaurenoids

وصنف المركبات النتروجينية (Nitrogen Compounds)، ومن اشهر هذه المركبات هو حامض الفيوزاريك (Fusaricacid) الذي يقع ضمن تحت صنف البايريدينات(pyridines) (Bulock, 1984).

4-2 الترايكوثسينات(Trichothecenes)

ترجح تسمية الترايكوثسينات لاكتشاف أول مركب طبيعي منتج من الفطر *Trichothecium rosium* فأطلق عليه تسمية الترايكوثسين عام 1949م . وهو مركب ضعيف السمية للثديات لكنه مضاد حيوي للفطريات طعمه مر يوجد في التفاح المر الملوث بهذا الفطر, ثم توالى اكتشاف هذه المركبات تباعا , ففي عام 1994 اكتشف Diacetoxyscrpinol وفي عام 1917 تم اكتشاف T-2toxin وفي عام 1972 تم اكتشاف سم (DON) كأيض ثانوي للفطر *F.graminearium* (عبدالحميد ، ٢٠٠٠)

تضم هذه المجموعة مايقارب١٥٠نوعا تنتج من قبل مجموعة من الاجناس الفطرية ومنها *Fusarium* Spp و*Cephalosporium* spp و*Mycothecium* spp

و*Stacchbotry* . spp و *Trichoderma* spp واهمها تلك التي تنتج من قبل الجنس*Fusarium* والتي.تضـــــــــــم Nivalenol و Deoxynivalenol و-2T (Poapolathp *وآخرون* ٢٠٠٤) .

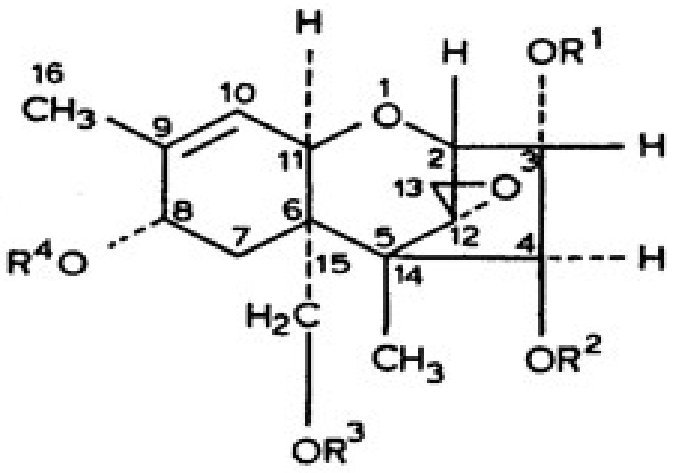
يتعرض الانسان والحيوان لهذه السموم بصورة مباشرة عند تناوله الاغذية والعلائق الملوثة بها،تستهدف هذه السموم الخلايا النشطة في الانقسام كالخلايا المعوية وخلايا الغدة الدرقية والطحال ونخاع العظم والخصيتين،ويعتبر سُم T-2 من اشدها خطورة وهو السبب الرئيسي لمرض Alimentary Toxic Aleukia(ATA) اذ انه يكبح الجهاز المناعي وله تأثيرات حادة في نخاع العظم،اما الـDONويسمى Vomitoxinايضا فهو اقل تأثيرا من -T 2وغالبا ما ينتج في الحنطة والذرة ويسبب تثبيط الجهاز المناعي للكائن المستهلك ولاسيما في مقاومة الأمراض البكتيرية الناتجةمن بكتريا*Campylobacter spp* و*Listeria* spp و *Salmonella* spp (Moss,2002).

الترايكوثيسينات مركبات عديمة اللون ،بلورية صلبة غالبا،وقد تمكن الباحثون من تحديد مواصفاتها بإستعمال تقنيات الفحص الطيفي،تختلف الترايكوثيسينات في مواصفاتها الكيمائية بعضها يذوب بسهولة في المذيبات المعتدلة القطبية مثل الكلوروفورم والإيثر ثنائي الاثيل والاسيتون،بينما يتطلب اذابة البعض منها مذيبات عالية القطبية مثل المحلول المائي لكحول الميثانول،وانها تتباين في خواصها الفيزيائية،ولخصوصية التراكيب الكيمائية للترايكوثيسينات فانه لايمكن تشخيصها اعتمادا على درجة امتصاص الاشعة فوق البنفسجية،ويشذ عن هذه

القاعدة مركبي Roridin و Verrucarinحيث من الممكن تشخيصهما باستعمال الاشعة فوق البنفسجية . (ابراهيم والجبوري ، ١٩٩٨).

5-2 التركيب العام والتركيب الكيميائي للترايكوثيسينات

تتركب الترايكوثسينات من نظام حلقي مغلق يسمى تريكوثيسان شكل (2-1) وجميع مركبات هذه المجموعة تحتوي على آصرة أوليفينية بين ذرتي 9-10 ومجموعة الأيبوكسي بين ذرتي كاربون 12-13 مما يعطي هذه المركبات ثباتية كيميائية عالية في ظروف بيئية مختلفة , تنقسم الترايكوثسينات إلى أربعة أقسام D,C,B,A طبقا لخواصها الكيميائية وتركيبها , فالمجموعة A تحتوي مجموعة هيدروكسيل في ذرة الكربون(8) ومجموعة B تحوي مجموعة كربونيل عند ذرةالكربون (8) . والمجموعة الثالثة C تحوي مركبات حلقية كبيرةلا تنتج من قبل أنواع الجنس *Fusarium*بل تنتجها فطريات*Myrothecium*و*Stachybotrys* , المجموعة الرابعة D تحتوي أيبوكسيد اخر بين ذرتي كربون 7 و 8 وهي صلبة وثابتة (Hsueh et. al,1999) . تفقد سموم الترايكوثسين سميتها ونشاطها البايولوجي عند فتح مجموعة الإيبوكسيد وأشارةالى ماوصفة عبد الحميد (٢٠٠٠) بإمكانية فتح هذه المجموعة بإضافة الحوامض القوية لهذه السموم .



شكل (٢-١)التركيب الكيميائي للترايكوثسينات

من بين سموم الترايكوثسينات المنتمية لمجموعة نوع AهيScirpentriolو HT-2toxin T-2toxin ومن سموم نوع B-Fusareuonxو Naivalenol Deoxynivalenol Diacetoxiscrpenolوهما أكثر أهمية من المجموعتين C و D (Wood,1992).

أشار Park وآخرون(1996) بأن كلا المجموعتين A وB تنتج غالبا من قبل نفس الفطريات ولكن مركبات المجموعة B هي أكثر انتاجا من سموم المجموعة A. من أكثر سموم المجموعة B أهمية ووجوداً هو سم الـDON والذي يسمى Vomitoxin, فقد أكد(wood ,1992) بأن سم الـDON أكثر السموم الشائعة من المجموعة B وأكثرها وجوداً في الحبوب , فأن معدل مستوى وجوده بالحبوب ٢ مايكروغرام/غرام وفي الطحين 1مايكروغرام/غرام وفي النخالة والأعلاف 4مايكروغرام/غرام .

2-6 تلوث المحاصيل والمنتجات الزراعيه بسموم الترايكوثسين

تعد المحاصيل الزراعية خصوصا محاصيل الحبوب مثل الحنطة والشعيروالذرة الصفراء والرز وفول الصويا من أكثرها تلوثا بسموم الترايكوثسينات، و بدرجه أقل في محاصيل أخرى كالبطاطا والموز وبذور الخردل والذرة البيضاء وزهرة الشمسWood ,(1992).

أشارGendloff واخرون(1984) الى تلوث حبوب الذرة الصفراء بسمT-2بتركيز 50نانوغرام/كغم . وتم الكشف عن سم(DON) deoxynivalenol في بذور الحنطة(عبد الرزاق ،١٩٨٩) .

وجد في بولندا أن 99% من عينات الشوفان المفحوصه كانت ملوثه بـ T2_toxin و HT2_Toxin وDiacetoxyscipenol بتراكيز 111و703و 47مايكرو غرام/كغم على التوالي (Basinski و Perkowski ٢٠٠٢).

وتم الكشف عن تلوث محاصيل الرز والشعير والذرة بسموم الترايكوثسينDON وNIV بتراكيز168-506 مايكروغرام/كغم و189-624 مايكروغرام/كغم لموسمين في كوريا الجنوبية على التوالي (Park وآخرون ١٩٩١).

ومن بين 190 عينة حنطة وشعير وشوفان تم أختبارها وجد أن 78 % من عينات الحنطة كانت ملوثة بالسم DON بتركيز3.96-43.8ملغم/كغم والشعير والشوفان بتركيز-0.33 0.27ملغم/كغم و58% من عينات الحنطه كانت ملوثه بسمZearalenoneبتركيز 1.560ملغم/كغم و30% ملوثه بسم NIV بتركيز ٢٩- 0.33- ملغم/كغم و38% ملوثه بسم T-2 تركيز 0.005-0.6 ملغم/كغم(Lepschوآخرون,1989).

وأشار Yaziciou و Omurtag (2001) أن 31-32 % من عينات الفاصولياء كانت ملوثه ب1.09ملغم/كغم من سمT-2 في تركيا. ووجد Robledo وأخرون(2002) في المكسيك تلوث حبوب القهوه بسم T-2 وFumonisin B1 وOchratoxin بتراكيز 30.1,2.5,7مايكروغرام/كغم على التوالي..وفي المانيا أشارSchodlenberger وأخرون

(2002) الى تلوث الحبوب المخزونة المأخوذه من المخازن بسموم الـT-2 وDON وNIV وHT2_Toxin وFusarenon_X .

ولسعة تأثيرها السام على الاحياء الدقيقة والنباتات والحيوان والإنسان واستمرار كوارثها فقد اعتبرت مشكلة عالمية واسعة (Tanakaواخرون ١٩٨٩ ;Jelinek واخرون ١٩٩٠) . فقد بينWannemacher وآخرون(1991) بأن جميع مركبات الترايكوثسينات هي سموم الفطرية.
وذكر Cole وCox (1981) بأن الترايكوثسينات مركبات غير متطايرة تحت الظروف المختلفة و ممايجعلها أكثر خطورة واكثر تعقيد

2-7 تأثيرات سموم الترايكوثسينات في صحة الإنسان :

إن لسموم الترايكوثسين تأثيرات في صحة الإنسان والحيوان والطيور والأسماك واللافقريات والنباتات وجميع الخلايا حقيقية النواة (Sharma و Kim ١٩٩١) . وان تأثيرات هذه المركبات في الإنسان عديدة ومختلفة وفقا إلى طريقة ومدة التعرض وجرعة السم تحدد نوع التأثير إذا كان سمية حاده أو سمية مزمنة وكلا من هذين التأثيرين له أعراض مميزة .

أن التعرض الفموي لسموم الترايكوثسين يؤدي إلى إصابته بما يعرف بالتسمم الترايكوثسيني تبدأ بأعراض تقيء وغثيان وضعف ودوار وهزال وفقدان الشهية وحرقة معوية وخلال دقائق إو ساعات يحدث إسهال شديد وبعد 3-12 ساعة تبدأ أعراض ضيق التنفس وسعال شديد يصحبها آلالم في البطن والصدر والجفاف وتؤدي الجرعة الكبيرة إلى الموت خلال دقائق أو ساعات (Stahl وآخرون ١٩٨٥; Haig; Ember,1984 1982).

في حين ان التعرض الجلدي لسموم الترايكوثسين كما ذكر Wannemachr وآخرون(1991) بأنه يؤدي إلى إصابات جلدية تبدأ بأعراض احمرار وتبقع الجلد وتهيج وحكة وبعدها ظهور طفح جلدي دموي وفي الحالات الشديدة نزف دموي من التقرحات الجلدية , أما إذا كان التعرض عن طـــريق الجهـــاز التنفسي فقد أشـــــــــــار كل من Ember (1984) و Haig (1982) أن التعرض إلى غبار القش الملوث بسموم الترايكوثسينات أو التعرض لهذه السموم مباشرة يؤدي إلى تأثيرات شديدة على الجهاز التنفسي تبدأ بضيق التنفس وآلالم صدرية عميقة وتقرحات في الحنجرة وتغيرات بالصوت و سعال شديد وجروح بالحويصلات الرئوية ,في حين ان التعرض البصري لسموم هذه المجموعة يؤدي إلى آلالم شديدة في العينين مثل الرمد والإحساس بالحرقة حولهماوالرؤيةالمشوشة والتي قد تستمرلمدة من 1-2 أسبوع تبدأ هذه الأعراض بعد 2-5 دقائق من التعرض وقد يؤدي إلى تلف القرنية وفقدان البصر, استغل هذا التأثير في الحروب كما في حروب أفغانستان وحرب شمال شرق آسيا فقد أكدت تقارير تشريح جثث الحرب بأن هذه السموم وما يسمى المطر الأصفر(Yellow Rain)تسبب جـروح حادة بالعينين تؤدي إلى ضعف الرؤية أو تلف القرنية(Watsonوآخرون ١٩٨٤) .

السمية المزمنة للترايكوثسينات تشبه إلى حد ما السمية الحادة ومن الحالات الخطيرة والمسببة لهذا التأثير هي (AlmantaryToxinicaleukia(ATA) إن هذا النوع من التسمم الغذائي يمر بأربعة مراحل اذ تتطور المرحلة الأولى مباشرة أو بعد أيام عدة من استهلاك الغذاء أو الحبوب الملوثة بالتراكوثسينات تسبب التهاب الغشاء المخاطي المعوي وتبدأ أعراض إسهال وقيء وآلالم في البطن وصداع ودوار وإعياء.أما المرحلة الثانية فهي مرحلة تحولات غير

معروفة سميت بالمرحلة المستقرة تمهيدا للمرحلة الثالثة . في المرحلة الثالثة مرحلة تتميز بظهور طفح جلدي على الصدر والمناطق الأخرى تكون على شكل بقع حمراء في بادئ الأمر وتتطور وتزداد التقرحات في الحنجرة فقد يموت المصاب بالخنق أو بعد النزف الدموي الحاد للغشاء المخاطي المعوي . وأخيراً المرحلة الرابعة وهي فترة تحسن المصاب وتبدأ بإعطاء فترات نقاهة تستمر أسابيع عدة لإعادة قدرة المصاب على تشكيل نخاع العظم والعودة إلى وضعه الطبيعي (عبد الحميد , ٢٠٠٠) .

أشار Overnes واخرون(1997) بأن الترايكوثسينات تؤثر في الجهاز المناعي لكونها تختزل الأجسام المضادة المصنعة ضد المسببات المرضية , كذلك تؤثر الترايكوثسينات في كفاءة الخلايا المعوية على امتصاص المواد الغذائية مثل السكريات واللبيدات والأحماض الأمينية (Marescaوآخرون ٢٠٠٢) . ان التأثير الرئيسي للترايكوثسينات هو تثبيط التخليق الحيوي للبروتين وذلك نتيجة خفض تخليق DNA و RNA وخفض مستوى الرايبوسومات(Rotter وآخرون ،١٩٩٦) .ان التأثير التثبيطي لسموم الترايكوثسين لسرعة انقسام الخلايا وخفض مستوى تخليق البروتين كان قاعدة لتقديمها كعلاج كيمياوي ضد الأورام السرطانية ففي السبعينيات والثمانينات كانت تعطى جرعة وريدية من سموم الترايكوثسين إلى مرضى السرطان يوميا لمدة خمسة أيام خصوصا للمصابين بسرطان الكبد وكانت تظهر عليهم أعراض غثيان وتقيء وإسهال وحمى الى غير ذلك (Spertzel وآخرون ، ١٩٩٣) .

8-2 سم Deoxynivalenol (DON)

سم DON واحد من مركبات سموم التراكوثسينات وهو الأكثر شيوعا و وجودا لهذه المجموعة فهو ملوث رئيسي لحبوب الحنطة والذرة الصفراء والشعير والشليم والعلائق الحيوانية (Josephsو Krska 2001)يعود السم لسموم المجموعة B يحتوي مجموعة كاربونيل عند ذرة الكاربون 8 وهو اكثرالسموم أهمية من مجموعة الترايكوثسينات . فقد أكد Wood , (1992)بأن السم يوجد بالحبوب والأغذية بنسبة 85% وبمعدل 2 مايكروغرام/غرام وهو أيض ثانوي لبعض أنواع الفطر *Fusarium* مثل النوع *F. graminearum* و *F. culmorum*وكلا هذين النوعين يصيبان محاصيل الحبوب مثل الحنطة والذرة الصفراء يسببان أمراضاً عدة مثل لفحة رأس الحنطة الفيوزارمي وتعفن العرانيص في الذرة الصفراء , لذا قسم الـ DON يؤثر في النبات والحيوان مثل الماشية والدواجن ويشكل خطورة على صحة الإنسان الذي يستهلك الحاصلات الزراعية الملوثة به (Volki وآخرون ٢٠٠٤) .

شخص هذا السم لأول مرة عام 1972 في اليابان من قبل Morooka وجماعته كأيض ثانوي للفطر *F.graminearum* والذي عزل من الشعير اطلق عليه Vesonder عام 1973 بالسم المقيء(Vomitoxin)لأثره المقيء (عبد الرزاق , ١٩٨٩) .

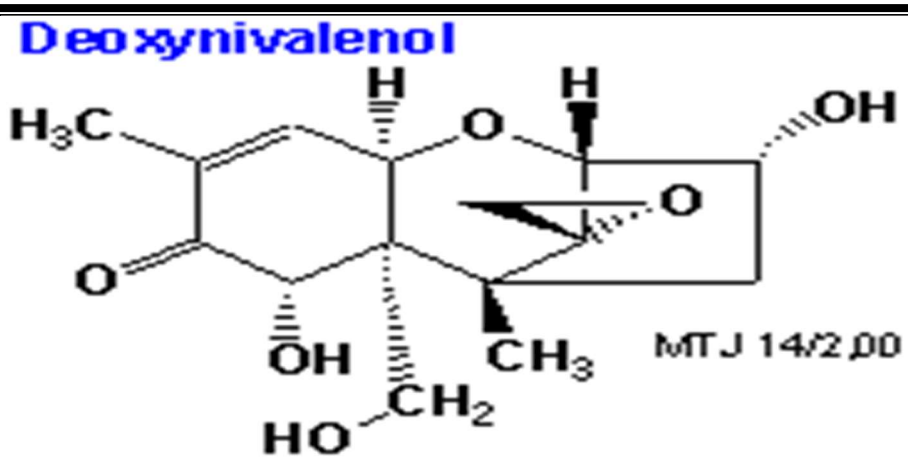
أشار كل من Rotter وآخرون(1996) وEriksend وآخرون(1998) بأن سم الـDON عبارة عن بلورات بيضاء له نشاط ضوئي يذوب في المذيبات القطبية والماء , وذا وزن جزيئي منخفض لا يتحطم بدرجات الحرارة العالية . وأكد عبد الحميد (٢٠٠٠) بأن سم الـDON كان يرمز له سابقا بالرمز (Rd) أو الرمز (R) وسمي بعد ذلك بعامل الرفض أو Vomitoxinوكثيراً ما يرافق حبوب الحنطة والذرة الصفراء ويكون قليلاً بالرز والذرة

البيضاء وقد وجد في الذرة الصفراء بالنمسا بتركيز 43 مايكروغرام/غرام و أثبت بأن LD50 له هي42مايكروغرام/غرام على الفئران .

2-9 الخواص الكيميائية والفيزيائية لسم الـ DON

سم الـ DON والذي يعرف Vomitoxin يعود لمجموعة الترايكوثسينات نوع Bيحتوي على حلقة ترايكوثسين ومجموعة epoxy بين ذرتي كاربون ١٢-١٣ يحتوي على مجموعة هيدروكسيد أولي واحدة ومجموعتين من الهيدروكسيد الثانوي ويحتوي على مجموعة كربونيل في ذرة كاربون 8 شكل(٢-٢)) لذلك فهو12(Deijn وآخرون 1997)

13- epoxy-3 ,4, 15- trihydroxytrichothec - 9en- 8- one



شكل (٢-٢)التركيب الكيميائي للـ DON

أشار كل من Eriksend وآخرون(1998)بأن سم الـ DON مادة كيميائية ذات وزن جزيئي منخفض 296.32 دالتون في حالتها الصلبة تكون بلورات بيضاء ذات نشاط ضوئي و درجة انصهاره بين 151-153 مº تذوب في المذيبات القطبية مثل الايثانول و الميثانول وخلات الأثيل و الكلوروفورم وكذلك له القابلية على الذوبان في الماء , لا يتأثر بدرجات الحرارة العالية.

بين Wolf وآخرون (1999) إن زيادة درجة الحرارة الطعام الحاوي على سم الـ DONيؤدي إلى اختزال 12% فقط من الـDONفي حين زيادة درجة الحرارة والضغط على نفس الطعام أدت إلى اختزال السم DONبنسبة 26% لذا فهو يتميز بثباتية عالية لحرارة وضغط الطهو .كذلك يتميز DON بثباته الكيميائي فقد عرض إلى تسخين وتغير درجة حموضة المحاليل الى 4 أظهر الـDON ثباتا جيدا ولم يتحطم بدرجة حرارة 120-100 مº ولكن تحطم جزئيا في حرارة 170مº بعد 60 دقيقة وعند درجة حموضة7.0 وحرارة 120-100 بقي السم ثابتا وعند حرارة 170مº ظهر تحطما للسم لمدة 15 دقيقة وعند درجة حموضة10 وحرارة 100مº أظهر تحطما جزئيا ولكن عند 120مº تحطم كليا بعد 30 دقيقة وعند حرارة 170مº فإنه يتحطم كليا بعد

15 دقيقة (Bullerman و Wolf ١٩٩٨) . كما فقد أكد Ehling وآخرون(1997) بأن لسمDONثباتية كبيرة في مدد الخزن والطحن وطهو الطعام الملوث به عند درجات حرارة مرتفعة .

بين Ostry و Skarkova (2000)الطرق التي يمكن الكشف بها عن سم الـ DONهي TLC . GC , HPTLC, HPLC , UV , Spectrophotometer, ELISA

أكد Cole و Cox(١٩٨١) أن سم الـDON واحد من مركبات الترايكوثسينات التي تتميز بعدم التطاير والثبات الكيميائي تحت ظروف بيئية مختلفة .

أشارعبد الحميد (٢٠٠٠) بأن سموم الترايكوثسين ومنها Deoxynivalenol Diacetoxjscrpenolو Nivalenol وT-2toxin بأنها سكربينات عديمة اللون ولا تمتص الاشعة فوق بنفسجية لذا لا تتألق فلا يمكن الكشف عنها بدون محـاليل إظهار .

2-10 تأثيرات سم الـDON في الإنسان

التأثير الرئيسي للسم الـDON هو تثبيط تخليق البروتين من خلال خفض مستوى الرايبوسومات وتثبيطه لتخليق الحوامض النووية DNA وRNA وكذلك له تأثير ملحوظ في منظمات النمو وبذلك تزداد حساسية الجسم للإصابة بالأمراض (Rotter وآخرون ١٩٩٦) . في حين ان التأثير الحاد لسم الـDON بينــه Luo (1988) عند التعرض الفموي يؤدي إلى التسمم المعوي الذي يبدأ بتقيء وغثيان وآلام في البطن وصداع ودوار وحمى وبعدها يصاب بإسهال حاد وتتطور الحالة بعد مرور ٣٠ دقيقة حتى يتكشف المرض مما يؤدي إلى صعوبة تمييز هذه الأعراض عن أعراض التسممات المايكروبيه يشبة آلام المعدة الناتجة عن البكتريا *Bacillus cereus*اذ سجلت هذه الأعراض في حالات تسمم في الصين بين الاعوام 1961-1985 نتيجة استهلاك الناس حنطة وذرة صفراء متعفنة أذ كانت ضحيتها 7818 ضحية أذ كانت الأعراض تظهر على المصابين بعد تناولهم الغذاء الملوث ومن خلال فترة زمنية تتراوح بين٥-٣٣ دقيقة إذ اثبتت التحاليل المختبريةبعدها تواجد سم الـ DONفيها بنسب كانت مرتفعة تراوحت بين (1-40مايكروغرام/غرام) .

أشار كل من Wildو Hall (١٩٩٦) أن السمية المزمنة للسم الـDON يسبب أمراض خطيرة مثل سرطان المريء وسرطان الكبد وسرطان المعدة وبعض الأمراض الأخرى مثل التهاب المفاصل . كذلك فأن للسم DON تأثيرات عديدة ومختلفة إذ أكـــــــــدMarescaوآخرون(2002) بأن سم الـ DON يؤثر في امتصاص مختلف أنواع المغذيات والتي تتضمن السكريات والأحماض الأمينية واللبيـــدات والتي درست باستعمال نفس اتجاه الخلايا المعوية خارج الخلية الحية(invitro) فالتركيز الواطئ للسم (١مايكروغرام/لتر)ثبط ٥٠٪ من التحويلات الغذائية والتركيز العالي (٥ مايكروغرام/لتر)كانت نسبة التثبط ٧٦٪ من التحويلات الغذائية فضلا عن التأثير على الجهاز المناعي إذ يختزل الأجسام المضادة ويصبح الجسم حساس للاصابة بالأمراض الفايروسية والبكترية

2-11العلاقة بين الفطر *Fusarium* و سم الـ DONوتلوث

في دراسة أجريت في العراق تم عزل الجنس *Fusarium* ضمن الفطريات التي أمكن عزلها من الحنطة المستوردة والمحلية مما يعطي انطباعاً عن إمكانية وجود سمومة فيها . وقد أظهرت عزلات منها مقدرتها على إنتاج سم الـDON الذي استخلص من مزارع الفطرين *F.compactum* والفطر *F.verticilliodes* و اتضح وجود علاقة طردية بين وجود هذه الفطريات وكمية السم المقيء(DON) المستخلص .(عبد الرزاق , ١٩٨٩) .

أكد كل من Perkowsk و Snijders (1990) العلاقة المباشرة بين الاصابة باللفحة الفيوزارمية والتلوث بسم الـDON في الحنطة أصبح معروفا .إذ بين Miller (1994) أن الاصابة بلفحة رأس الحنطة الفيوزارمي في الحنطة يكون غالبا مرتبط بوجود الرطوبة في وقت التزهير مثل سقوط الأمطار, يعد هذا العامل الاساسي لإنتاج السموم الفطرية والتي من أهمها سم الـDON أذ أثبتت إن جميع أنواع الجنس*Fusarium* تستطيع أن تبقى حية في بقايا الحاصلات الزراعية وهذا المصدر الرئيس للقاح الثانوي الذي يؤدي إلى انتشار الفطر .

أكدHocking و Pitt (1997) وجود سم الـ DON مرافقا بشكل كبير الفطر *F. graminearum* (*Gibberella zeae*) والفطر *F. culmorum* والذي يسبب مرض لفحة رأس الحنطة ومرض تعفن العرانيص الجبرلي في الذرة الصفراء اذ وجد الفطر *F. graminearum* ينمو بشكل مثالي بدرجة حرارة 21 مº وفي نشاط مائي (87 aw) لذا فان التوزيع الجغرافي لهذين النوعين أعطى علاقة مباشرة لتأثير درجات الحرارة وعلاقتهابوجود سم الDON .

أشار Parry وآخرون(1995) بأن السيطرة أو تقليل الإصابة بالفطر*Fusarium* سوف يختزل كمية سم الـ DON وان هذا المقياس يتضمن العمل بتقنية المكافحة الزراعية واستعمال أصناف مقاومة للجنس *Fusarium* , واستخدام المقاومة البايولوجية واستعمال المبيدات الفطرية وكل ما يؤمن منع الإصابة بهذا الفطر في الحقل .

بينو D'Mello واخرون (١٩٩٨) إن أستعمال الأسمدة المناسبة والسقي المنتظم ومكافحة الأدغال واستعمال المبيدات الفطرية والدورة الزراعية, أدى إلى تقليل أضرار الفطر *Fusarium* وإنتاج سم الـDON ولكن التعاقب بين الذرة الصفراء والحنطة يزيد من حدوث الإصابة بالفطر *Fusarium* وإنتاج سم الـ DON إذ يمكن زراعة أصناف معتدلة المقاومة وترك الأصناف الحساسة له . في حين اقترح Mao وآخرون (١٩٩٨)أستخدام المكافحة البايولوجية ضد الإصابة بالفطر *Fusarium* وإنها يمكن أن تكون طريقة بديلة للمكافحة بالمبيدات الفطرية .

أثبت عبد الرزاق (١٩٨٩) وجود السم المقيء DON في بعض عينات الحنطة التي لم يعزل منها الفطر *Fusarium*المنتج لهذا السم وهذا ما يؤكد إن المحصول يصاب بهذه الفطريات قبل الحصاد و فترات النضج والتصدير إذ إن الفطر سرعان ما يفقد حيويته بعد جفاف البذور ولكن يبقى السم موجودا في الحبوب التي تبدو سليمة ظاهريا وفي الوقت نفسه يمكن يمكن القول انه ليس جميع العينات وان عزل منها الفطريات المنتجة للسموم تكون حاوية على السموم الفطرية وذلك لعدم توفر الظروف الملائمة لإنتاج السموم الفطرية .

أكد Wood (1992) إن معــدل تلوث حبوب الحنطة بسم الـ DON كانت 2مايكروغرام/غرام وان معدل المتبقي منه في الناتج النهائي بعد الطحن هو 1مايكروغرام/غرام للاستهلاك البشري و4 مايكروغرام/غرام يبقى في علف الحيوانات أثبت Hsuوآخرون(1972) ان نسبة وجــود سم الـDON في عدة أقطاركان بمعدل تركيز 2 مايكروغرام/غرام في الأغذية والحبوب .

وفي دراسة قام بها Perkowski (1998) تتضمن تلقيح حقل من الشعير بالفطرين *F.graminearum* و *F.culmorum* وجمع عينات مصابة بأمراض الحبوب فوجد إن نسبة التلوث بسم تتراوح بين (6 .156) مايكروغرام/غرام

أجريا كل من Al-Julaifو Al-Falihi (2001) مسح لجميع العلائق الحيوانية في المملكة العربية السعودية للكشف عن الترايكوثسينات نوع A وB وجد إن نسبة وجود سم الـDON أعلى من بقية السموم الفطرية إذ وجد في جميع العينات وكان بتراكيز مرتفعة تراوحت بين2-40 مايكروغرام/غرام . أكد Ostry وآخرون(2000) على وجود سم الـDON في الحنطة والطحين والنخالة وفي جميــع المنتجات المصنوعة من الحنطة الملوثة به .

وأشار Saemarوآخرون (2001)الى وجود سم الـDON في الخبز المصنوع من الحنطة الملوثة بسم الـDONمثل French breadو Vienna bread وبنسبة عالية فكان اذ كانت نسبة التكون 56% و 41% على التوالي.

تم الكشف عن تراكيز 13 سم فطري في دراسة لأربعة مجاميع من الحبوب وهي 673 عينة ذرة صفراء و99 عينة حنطة و 116 عينة شعير و73 عينة شليم جمعت من مناطق غرب كندا من عام 1991-1998 كانت اهم السموم السائدة في جميع العينات للمجاميع الأربعة من المحاصيل هو سم الـ DON اذ كانت أعلى نسبة وجود في الذرة الصفراء وبعدها الحنطة والشعير ثم الشـــــــيلم , اذ كانت نسبة التلوث به 8-9 مايكروغرام/غرام (Camphell واخرون ٢٠٠٢)

أشارHestbjergوآخرون(2002) بأن سم الـDON وجد في حبوب الشعير بعد 19 يوم من معاملة بذور الشعير بعزلات الفطر *F.culmorum* هذه السرعة في إنتاج سم الـDON يعطي صورة واضحة عن مدى خطورة هذا السم مما يستوجب البحث عن استراتيجيات كفيلة لمنع إنتاج مثل هذه السموم .

12-2 دراسة تأثير بعض العوامل البيئية في نمو الفطر *Fusarium* المنتج لسم الـ DON:-

1-12-2 الرقم الهيدروجيني (pH)

يؤدي الرقم الهيدروجيني دوراً مهماً في التأثير في مستوى نمو الفطر *Fusarium* ونشاطه ويتحدد ذلك بمديات مُعينة من الرقم الهيدروجيني سواء كان في أثناء نموه في التربة أو على الأوساط الزرعية المحضرة، وأشار Pokharrawal وآخرون (2003) الى أن 6.5 هو الرقم الهيدروجيني6.95 الأمثل لنمو الفطر *Fusarium* وإنتاجه الابواغ. تختلف أنواع الفطر *Fusarium* فيما بينها في الرقم الهيدروجيني الأمثل للنمو فمثلاً الرقم الهيدروجيني الأمثل لنمو الفطر *F. chlamydosporum* يتراوح بين 6.5 – 7.5. (Bai *وآخرون*(1988 أما بالنسبة للفطر *F. oxysporum*f. sp. *Niveum* فإنه ينمو في مدى واسع

من الأرقام الهيدروجينية يتراوح بين 3.2– 8.3 وإن الرقم الهيدروجيني الأمثل للنمو هو 5.0 – 6.5 وإن الزيادة أو النقصان في الرقم الهيدروجيني عن الحدود المثلى للنمو يؤثر في معدل نمو الفطر وإنتاجه الابواغ (Jhamaria, 1972).

2-12-2تأثيرالملوحة(NaCl)

يعد كلوريد الصوديوم اوسع مادة كيميائية تستعمل في الطعام واقدم مادة حافظة استخدمت في حفظ الاغذية وهي مادة امينة . تعمل على تثبيط معظم الميكروبات بتركيز ٣-٥٪ وتستعمل تراكيز عالية منه 15-20% في حفظ اللحوم و الاسماك والمحلول الملحي ، اكثر تاثير من الملح الجاف في حفظ الاغذية لان المحلول يدخل في داخل الغذاء ويؤثر في الميكروبات الموجوة في داخله ، فمعظم الخلايا المايكروبية يكون الضغط الازموزي داخلها (Intracellular tonicity) يعادل تلك القوة المتولدة من محلول ملحي تركيزه 0.85 – 0.9% لتلك المحاليل الملحية للتتخفيفات البكتيرية تحضر بهذا التركيز لكي لايحدث تغير داخل الخلية . (المصلح , 1990) .

في دراسة اجراها wade واخرون (2000) لبيان تأثير كلوريد الصوديوم في القضاء على الامراض المتسببة من بعض انواع جنس *Fusarium* اثبتوا فيها ان اضافة محلول كلوريد الصوديوم للتربة مفيدة في كبت امراض الفطر في بعض انواع المحاصيل التي تمتلك قدرة على تحمل هذا المركب اذ استعمل بنسبة 0.25 – 0.5 غم Nacl / لتر كما في نبات بخور مريم (*Cyclamen*) المزروع في تربة ملوثة بفطر *F.oxysporum* فعند معاملتها بكلوريد الصوديوم قلت نسبة الموت في النباتات وحصلت زيادة في الوزن الطري ومساحة اوراق النبات وقدرته على تأخير اعراض الذبول وتقليل خطورة المرض . وعند تحليل انسجة النبات ظهر مستوى مرتفع من كلوريد الصوديوم والمغنسيوم اذ يشترك المغنسيوم في تقنيات الدفاع في انسجة النبات والفائدة الكبيرة من استعمال كلوريد الصوديوم تلاحظ عند PH (7.5) اذ يزداد عنصر المغنسيوم فضلا عن العناصر الاخرى عندما تكون PH عالية .

أوضحت الخلخالي ،(2005) في تجربة تأثير NaCl على *الفطر Fusarium soloni* إذ بينت في التجربة ان أعلى معدل لنمو الفطر كان عند التركيز 0,5%و1% واثبت بأن التراكيز المتطرفة مثل 0.1% 1,5% تكون ذات تاثير سلبي على نموالفطر اذ أدى إلى تقليل من معدل قطر الفطر ،في حين التراكيز المتوسطة كانت مفيدة في زيادة معدل نمو الفطر.

13-2 تأثير المستخلصات النباتية على السموم الفطرية

قد أجريت العديد من الدراسات لبيان فعالية المستخلصات النباتية والمركبات الفعالة اتجاه الفطريات وسمومها, ومنها دراسةMaraqa وآخرون (2007) ،فقد وجد أن مستخلص الحبة السوداء *Nigella sativa*لهُ القابلية على تثبيط سم الافلاتوكسين من نوع B_1 , B_2 وG_1 عند تركيز 5 % لفطر *A.flavus*في الوسط ألزرعي السائل لنقيع النخالة الصلب ,أما زيوت الحبة السوداء فثبطت كل من B_1 , B_2 , G_1 وG_2عند تركيز 3 % , في حين يثبط مسحوق حبوب القهوة B_1 , G_1 وG_2عند تركيز 6 % ,وللكافائين القدرة على تثبيط G_1 وG_2عند تركيز 2 % كما وجد القيسي ،(٢٠١٠) ان مستخلص نبات الدارسين أهمية في إختزال سم الزيرالينون داخل طيور السمان. وجد حديثاً أن لمادة التمر فاعلية عالية في أختزال سمية الافلاتوكسين B1والافلاتوكسين B2عند تجريعها لحيوانات الجرذ الابيض إذ ارتفع معدل تركيز الهيموكلوبين من 8.6و 7.3غم /١٠٠مل في دم الحيوانات المعاملة بالافلاتوكسينات الى 12.8و 11.6غم/ ١٠٠ مل في دم الحيوانات المعاملة بمادة التمر عن طريق الفم وسموم الافلاتوكسين B1, B2 على التوالي فضلاً عن الحفاظ على مسويات معاير الدم الفسلجية الاخرى كمكداس الدم ومعدل تعداد كريات الدم البيض وغيرها ضمن مدياتها الطبيعية وكان لمادة التمر الفعالية الملموسة في تحسين بعض معاير الدم الكيمو حيوية فمستوى اليوريا في دم الحيوانات المعاملة بالافلاتوكسين B1يبلغ 63.5غم/١٠٠في حين انخفض هذا المستوى الى 34.3غم/١٠٠مل في دم الحيوانات المعاملة بمادة التمر وسم الافلاتوكسين B1معاً كما لعبت مادة التمر دورا فعالاً في المحافظة على مستوى هرمونين LHوFSH إذ بلغ في دم الحيوانات المعاملة بسموم الافلاتوكسين B1 و B2 ومادة التمر (4.1 و4) نانو غرام/مل على التوالي في حين كان في معاملة الافلاتوكسينات فقط (2.7و3.9)نانوغرام/مل على التوالي وكان لمادة التمر فعالية كبيرة في حماية اعضاء الكبد والكلية والامعاء من الاثار السميةلسموم الافلاتوكسينات B1.B1

كما اظهرت مادة العسل نفس الفعالية في خفض سمية الافلاتوكسين B1.B2لدى حيوانات الجرذ الابيض عند تجريعها بسمومم الافلاتوكسينات ومادة العسل في حين أبدي مستخلص ثمار الرمان فعالية لابأس بها في خفض سمية هذين السمين (الجميلي ٢٠١٤)

14-2 زيت الزيتون

1-14-2 وصف عام لنبات الزيتون

نبات الزيتون *Oleaeuropaea* ينتمي الى العائلة الزيتونية Oleaceae ،ونبات الزيتون دائم الخضرة يتميز بجذع ضخم واوراق رمحية الشكل طولية بطول 7.5سم متقابلة ذات اطراف مستدقة بشكل حاد بلون أخضر فضي تحت الضوء ،الأزهاردهنية بيضاء والثمار ذات نوايات طولها حوالي ١سم خضراء اللون عند بداية الصيف إلا إنها تتحول الى اللون الأسود عند النضج (السعدي واخرون ،2013).

2-14-2 مكونات زيت الزيتون

تمتاز الزيتون بأحتوائها على الزيوت التي بدورها تتكون من مكونات متعددة مثل المركبات العطرية الطيارة والمركبات الفينوليةوالكليسيريدات بأنواعها الثلاث الاحادية والثنائية والثلاثية ،وكذلك يحتوي على الاحماض الدهنية والفيتامينات مثل E و D والدهون المفسفرةوالصابونيات والتانينات والسكوالين وغيرها. (هيكل وعمر ،1988).

3-14-2 الأهمية الطبية لزيت الزيتون

ان المستخلص المغلي لزيت الزيتون يعمل على تثبيط بعض أنواع البكتريا على وسط الاكارمثل بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ، وان للمستخلص الجليسريني الإيثانولي لزيت ثمارالزيتون والمعطى في التجويف البريتوني للجرذان عند الجرعة ١٢٥ملغم/كغم يعمل على التقليل من إرتفاع ضغط الدم،ولزيت ثمار الزيتون المعطى بالتجويف البريتوني للجرذان بجرعة ١مل /يوم لثلاث أشهريؤدي ألى تثبيط الأنجيوتنسين11 الذي يستحث ارتفاع ضغط الدم وكذلك تقليل مستوى أنزيم الرنين الذي له علاقة بأرتفاع ضغط الدم ،ولزيت الزيتون فعالية وقائية ضد التجلطات الدموية حيث له أهمية في تحليل الدهون ويقلل من تجمع الصفيحات الدموية وكذلك له أهمية مثبطة للتسرطن ومضاد للألتهابات (السعدي واخرون ،2013).

المواد و طرائق العمل

MATERIALS AND METHODS

3- المواد و طرائق العملMaterials & Methods

3-1المواد

3-1-1 الأجهزة والأدوات المستعملـة

جدول 3-1 الأجهزة والأدوات المستعملـة في تنفيذ الدراسة

الأجهزة	الشركة المصنعة	المنشا
أطباق بتري Petri dish	Unisonics LTD	England
جهاز طرد مركزي Eppendrofe centrifuge	Hettich EBA	Germany
حاضنة Incubator	Labtech	Chory
دوراق Flaskes	Unisonics LTD	England
فرن كهربائي Electric oven	Heraeus	Germany
كاميرا رقمية Digital Camera	Sony	Japan
ماصات دقيقة بأحجام مختلفة	Unisonics LTD	England
مجهر مركبLight microscopic compound	Olympus	Japan
مصدر الأشعة فوقالبنفسجيةU.V.transilluminator	UVP,IN	U.S.K
موصدة Autoclave	Allamerican	U.S.A
ميزان حساس balanceSensitive	Sartorius	Germany
ميزان عادي Balance	Sartorius	Germany
هزاز كهربائي Electric shaker	Grant	England
جهاز قياس الحموضة pH-meter	Philips	Holand

Korea	Lab Tech	Distiller water تقطير الماء
China	Tianjin Taisite	hood حجرة تلقيح
Germany	Heraeus	Humacaount جهاز حساب المعايير الدموية
Iraq	ISHTAR	ثلاجة Refrigerator
Jordan	Gold star	EDTA انابيب حاوية على مانع تخثر

2-1-3 المواد الكيميائية المستعملة

جدول٣-٢ المواد الكيميائية المستعملة في الدراسة

المادة	الشركةالمصنعة	المنشأ
صوف زجاجي	_	_
سليكا جل Sillicagel	Merch	Germany
السم القياسي Standard	Munich	Germany
صفائح الترحيل الكروماتوغرافي TLC	Fluka	Switzerland
كبريتات الصوديوم اللامائيه Na_2S0_4	BDH	England
كبريتات الامونيوم AL_2SO_4	BDH	England
كحول الايثانول Ethanol alcohol	BDH	England
كحول الميثانول Methanol alcohol	BDH	England
كلوروفورم Chlorophorm	Fluka	Switzerlad
كلوريد الصوديوم Sodium chloride	BDH	England

هايبوكلورات الصوديوم (القاصر)	تجاري	Iraq
هيدروكسيدالصوديوم NaOH	BDH	England
حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid	BDH	England
فورمالين Formalin	BDH	England
أسيتونايترل **Acetonitral**	BDH	England
يوريا **Urea**	-	Iraq
هكسان **$CH_3(CH_2)_4CH_2OH$**	Merk	Germany
المضاد الحيوي كلورامفنيكول Chloramphenicol	sammara	Iraq

3-1-3 الأوساط الزرعية المستخدمة

جدول3-3 الاوساط الزرعية المستخدمة

ت	اسم الوسط الزرعي	الشركة المصنعه	المنشأ
١	وسط اكار البطاطا والدكستروزPDA	Hi media	India
٢	وسط الرز	-	-

3-1-4الحيوانات المختبرية

استعملت اناث الجرذ البيض المختبرية *Rattus rattus* عمرها (8) أسابيع تراوحت أوزانها بين 200-280غم تم الحصول عليها من البيت الحيواني في كلية التربية/للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء، تم تهيئة الظروف الملائمة لها من حيث التهوية والإضاءة والتغذية ودرجة الحرارة المثلى التي تتراوح بين (25-30) م° لغرض إجراء الدراسة.

2-3 طرائق العمل

3 - 2-1 جمع العينات

جمعت عينات من حبوب الذرة الصفراء من حاصل العروة الخريفية ٢٠١٣ والحنطة من سايلوات محافظتي كربلاء وبابل ، كذلك جمعت عينات من بعض الاسواق المحلية للمحافظتين (كربلاء وبابل), وبمعدل ١ كيلوغرام .وضعت في اكياس نايلون حاوية على بطاقات سجل عليها تاريخ اخذ العينة ، ورقمها ، وموقع العينة ، ونقلت الى مختبر الدراسات العليا / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة / جامعة كربلاء .

3-2-2الأوساط المستخدمة في الدراسة

استخدمت أنواع مختلفة من الأوساط الزرعية بحسب الغرض من التجربة ومنها:

3-2-1 وسط أكار البطاطا والدكستروز(Potato Dextrose Agar PDA)الجاهز

حضر الوسط الجاهز من إنتاج شركة HI MEDIA الهندية بإذابة 39غم من مسحوق الوسط في لتر واحد من الماء المقطر, ثم وُزع في دوارق زجاجية سعة 250 مل وسُدت فوهاتها بسداد قطني محكمه وعُقمت في جهاز التعقيم البخاري (الموصدة)بدرجة حرارة 121°م وضغط 15 كغم/سم٢ 20 دقيقة بعدها تُرك الوسط ليبرد ثم اضيف المضاد الحيوي chloramphenicolبمقدار 250 مغلم/ استخدم الوسط لعزل وتشخيص الفطر *Fusarium spp*.

3-2-2-2 وسط الرز

حضر الوسط حسب الطريقة التي وضعت من قبل Abbas وآخرون (١٩٩٤) والمحورة من قبل الورشان (١٩٩٩) ، بأخذ 600 غم من الرز وتوزيعها على اطباق زجاجية ذات قطر 20 سم وارتفاع ٥سم وبواقع 200غم/طبق ثم اضيف لكل طبق 125 مل من الماء المقطر وتركها لمدة 2 ساعة بعدها عقمت بالموصدة بدرجة حرارة 121م وضغط 15

كغم/سم^{2} لمدة 20 دقيقة استخدم هذا الوسط لتميز عزلات الفطر *Fusarium* المنتجة لسم DON

3-2-2-3 تحضير السم القياسي DON

أذيب ١ملغم من السم القياسي في ٤مل من مذيب الكلوروفورم ليكون التركيز ٢٥٠ مايكروغرام/مل

3-2-3 عزل الفطر *Fusarium spp*

اتبعت الطريقة التي استخدمها Lacey وآخرون (١٩٩٩) لعزل الفطر *Fusarium* من الحبوب عقمت البذور هايبوكلورات الصوديوم بتركيز ١٪ ولمدة دقيقة واحدة بعدها غسلت البذور بالماء المقطرثلاث مرات للتخلص من اثارالكلور وجففت على ورق ترشيح . نقلت إلى أطباق بتري قطر ٩ سم حاوية على الوسط الزرعي(Potato Dextrose Agar (PDA بواقع خمس حبات من الذرة الصفراء والحنطة في الطبق الواحد بعدها حضنت الإطباق في الحاضنة(Incubator)في درجة حرارة ٢٥ ± ٢ مْ لمدة سبعة أيام بعدها نقيت عزلات الفطر *Fusarium* على نفس الوسط وحضنت بنفس درجة الحرارة وبنفس مدة الخضن بعدها تم تشخيص العزلات الفطرية المعزولة وبالأستعانة بالمفاتيح التصنيفية للفطريات لكل من Booth(1977) وSeifert (١٩٩٦), وبعدها تم حساب نسب الظهور للفطر *Fusarium* في عينات الذرة الصفراء والحنطة وفق المعادلة الاتية :-

$$\text{النسبة المئوية للتردد} = \frac{\text{عدد عزلات الجنس او النوع الواحد}}{\text{العدد الكلي لعزلات الفطريات}} \times 100$$

3-2-4 حفظ عزلات الفطر *Fusarium*

حفظت عزلات الفطر في أنابيب إختبار نظيفة ومعقمة حاوية على وسط (PDA) بصورة مائلة slantحيث زرعت أقراص منها على الوسط الزرعي في كل انبوبة وحضنت لمدة إسبوع بدرجة حرارة 25±2 م° بعدها حفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

3 –2-5 الكشف عن قدرة عزلات الفطر *Fusarium Spp* على انتاج سم DON

تم إجراء إختبار الكشف عن قدرة عزلات الفطر *Fusarium spp* على إفراز سم الDON اتبعت الطريقة التي اشار اليها Truksessوآخرون (١٩٨٤) وتشمل الخطوات الاتية:-

1-5-2-3 تنمية عزلات الفطر *Fusarium* على وسط الرز

تم تنمية عزلات الفطر على وسط الرز والمحضر مسبقاً وكما موضح بالفقرة (٣-٢-١-٢-٢).اذ تم تلقيح كل طبق ب(١٠)اقراص /من كل عزلة من عزلات الفطر *Fusarium spp* إذ تم توزيع هذه الاقراص على مساحة الطبق بعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة٢٥+_٢ م لمدة اسبوع مع إجراء عملية مزج الكونات الوسط كل ٤٨ ساعة لغرض توزيع لقاح الفطر عن جميع أجزاء عملية مزج لمكونات الوسط الزرعي(الرز) وبعد الانتهاء مدة الحضن تم طحن الرز بواسطة مطحنة كهربائية معقمة ثم وضعت في أكياس نايلون معقمة وحفظت في الثلاجة لحين اجراء الخطوات الاخرى .

2-5-2-3 استخلاص سم الDON

تم استخلاص سم ال DONمن حبوب الرز الملقحة بعزلات الفطر *Fusarium spp والتي سبق ذكرها في الفقرة(٣-٢-٥-١) وكمايلي:-*

١-أخذ وزن ٥٠ غم من عينة الرز المطحونة.
٢-أضيف لها ٢٠٠ مل من خليط أسيتونايتريل : ماء (٨٤ : ١٦) في دورق حجم ٥٠٠ مل .
٣-أغلق الدورق جيدا وخلط بأستعمال هزاز كهربائي ببطئ لمدة ٣٠ دقيقة .
٤-رشح خلال ورق ترشيح Watman No.2
٥-أخذ ١٢٥ مل من الراشح ووضعه في قمع فصل وإضيف له ٥٠ مل هكسان رج القمع لمدة ٢٠ ثانية مع طرد الغازات المتكونة بعدها وضع القمع على الحامل ليتم الفصل .
٦-أضيف ١٥ غم من كبريتات الأمونيوم إلى المستخلص في دورق ٢٥٠ مل رج جيدا ثم رشح خلال ورق ترشيح Watman No.2 .
٧-مرر الراشح الأخير فوق ١٠ غم من كبريتات الصوديوم اللامائية
٨-أخذ الراشح وجفف ثم حفظ في قنينة زجاجية معتمة في المجمدة لحين إجراء التنقية عبر عمود الكروموتوغرافي(clean up) .

٣-٢-٦-٢ التنقية بأستعمال عمود الكروماتوغرافي

اتبعت عملية التنقية بتوفير عمود الكروماتوكرافي المستعمل من قبل Scott وآخرون (١٩٨١) وكما يلي:
١- استخدمت سليكا جل من نوع Sillica gel 60 G for column 100 mesh من شركة Merch الألمانية اذ نشطت لمدة ساعة بدرجة (١١٠ – ١٣٠) م° في فرن كهربائي .

٢- أخذ عمود الكروماتوغرافي الزجاجي بطول ٣٠ سم وقطر ١٠ ملم وضعت في أسفله كرة من الصوف الزجاجي .
٣- أضيف ٠,٥ غم من كبريتات الصوديوم اللامائية لتكون قاعدة لاستقرار السليكا .
٤- أضيف الكلوروفورم لنصف العمود بعدها وضع ٢ غم من السليكا في بيكر صغير أضيف فوقه كمية قليلة من الكلوروفورم إلى أن يتجانس ثم أضيف ببطئ إلى العمود واستعمل قضيب زجاجي لإزالة الفقاعات و لرص السليكا في العمود ثم سحب الكلوروفورم الى مسافة ٢ سم فوق السلكا كي لا يجف العمود .
٥- أضيف ٠,٥ غم من كبريتات الصوديوم اللامائية ببطئ وبهذا أصبح العمود جاهز للأستعمال
٦- أخذ المستخلص المحضر مسبقا الفقرة(٣-٢-٥-٢)وأذيب بـ ٥ مل كلوروفورم وأضيف للعمود وأضيف ١٠٠ مل من خليط بنزين :خلات الأثيل (٨٠ : ٢٠) ثم جمع الراشح . وبخر في حمام مائي بدرجة حرارة ٥٠م° لحين الجفاف وضع في أنبوبة صغيرة ومعتمة ثم حفظ في المجمدة لحين إجراء عملية الكشوفات عليه.
تم اجراء عمليةالتنقية بواسطة عمود الكروماتوكرافيا المستخدم من قبل Scottوآخرون(١٩٨١) وكمايلي:-

3-2--5-٤ الكشف عن سم الـ DON في وسط الرز بأستعمال صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة(TLC)

استعملت في هذه الدراسة صفائح سليكاجل (Silica gel) ذات أبعاد ٢٠ × ٢٠ سم وبسمك ٠,٢٥ ملم .تم تنشيط هذه الصفائح في فرن كهربائي على درجة حرارة ١١٠ م° لمدة ساعة , تركت مسافة ١,٥ سم من كل جانب و ٢سم من الأعلى والأسفل . استخدم السم القياسي للمقارنة إذ قسمت الصفيحة إلى خمسة أقسام الجزء الأول والذي هو بأقصى اليسار أضيف اليه١٠ مايكروليتر من السم القياسي تركيز ٢٥٠مايكروغرام/مل بمحقنة دقيقة وأضيف نفس الحجم من مستخلص العينات المراد الكشف عن السم فيها في الأجزاء الباقية . استعمل السم القياسي لمقارنة بقع المستخلص من ناحيتي شدة التآلق واللون وقيمة نسبة الجريان RFلبقع المستخلص .

$$RF = \frac{\text{المسافة من نقطة الأصل إلى البقعة}}{\text{المسافة من نقطة الأصل إلى الجبهة}}$$

تركت الصفيحة لحين جفاف البقع عليها ثم وضعت في حوض الفصل الحاوي على نظام الفصل المكون من (كلوروفورم : أسيتون : أيزوبروبانول ٨ : ١ : ١) والذي حضر قبل نصف ساعة كي يشبع الحوض ببخار المذيبات المستخدمة .تركت الصفيحة في الحوض لحين صعود المحلول الى ١٧ – ١٨ سم . وتم استخراج الصفيحة من الحوض بعد إتمام الفصل جففت بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٥ دقائق , ثم رشت الصفيحة بمحلول كلوريد الألمونيوم المذاب بالميثانول ٢٠بواقع

غم من كلوريد الألمونيوم مذاب في ١٠٠ مل ميثانول (Trukses وآخرون ١٩٨٤) بعدها وضعت الصفيحة في فرن كهربائي على درجة ١٢٠ م° لمدة ٧ دقائق لإتمام التفاعل . تركت الصفيحة في مكان مظلم حتى تبرد بعدها فحصت تحت الأشعة فوق البنفسجية لملاحظة شدة تألق البقع وقورنت بالسم القياسي وتم تحديد العزلات المنتجة للسم .

3-2-5-5 الكشف التأكيدي للسم DON

هناك عدة طرائق للكشف التأكيدي لسم المقيئ DON, استعملت طريقة الكواشف في هذه الدراسة لأن سم الـ DON يمتاز بعدم تألقه تحت الأشعة فوق البنفسجية عند الفحص المباشر وانما تحتاج لرشه بكواشف المختلفة ليعطي الوان توهج مختلفة وكمايلي:-

.

١- رش المكرر الأول للصفيحة بمحلول كلوريد الألمنيوم المائي وحضر بإضافة ٢٠ غم من كلوريد الألمنيـــــوم في ١٠٠ مل من مزيج المثانول والماء وبنسبة(١:١) (Trucksess وآخرون ١٩٨٤) حيث اعطت البقع لون ازرق .

٢- رش المكرر الثاني للصفيحة بمحلول حامض الكبريتيك المركز الكحولي المحضر من حامض الكبريتيك المركز المضاف إليه الكحول المثيلي بنسبة ٥٠٪ . وضعت الصفيحتين بعد الرش في فرن عند حرارة ١٢٠ م° لمدة ٧ دقائق ثم تركت لتبرد بعدها فحصت تحت الأشعة فوق البنفسجية للتأكد من السم DON اذ حيث أعطت البقع لون احمر (عبد الرزاق ١٩٨٩).

3-2-٦ التحري عن وجود سم الـDON في عينات حبوب الذرة الصفراء وحبوب الحنطة بإستعمال تقنيةTLC .

لغرض الكشف عن امكانية تلوث حبوب الذرة الصفراء والحنطة في سايلوات محافظتي كربلاء وبابل تم إجراء هذا الاختبار والذي استخدمت فيه طريقةTrucksess وآخرون (١٩٨٤). لاستخلاص سم الـ DON من حبوب الحنطة والذرة الصفراء بأخذ ٥٠ غم من كل عينة , من عينات الحنطة والذرة الصفراء وطبقت عليها نفس الخطوات المبينة في الفقرة (٣-٢-٥)

3-2-٧ دراسة تأثير بعض العوامل في معدل النمو القطري للفطر *F. graminaerum*منتج لسم ال DONمختبرياً

3-2-10-1 تأثير الاس الهيدروجيني(pH)

لدراسة تأثير الأس الهيدروجيني في نمو الفطر*F. graminaerum* المنتج للسم أُعتمدت سلسلة من الأرقام الهيدروجينية هي٣، ٦ ،٩ و ١٢ وُزع الوسط الزرعيPDA على اربع دوارق زجاجية حجم ٢٥٠ مل بواقع ١٢٥ مل وسط لكل دورق وعُدلت الأرقام

الهيدروجينية للأوساط الى٣ و ٦ باضافة قطرات من حامض الخليك والى الرقم الهيدروجيني ٩و ١٢باضافة قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم وبعد تعقيمها بجهاز التعقيم البخاري صُبت الأوساط في أطباق بتري قطرها ٩سم وبواقع اربع أطباق لكل رقم هيدروجيني بعدها لُقحت الأطباق بقرص قطره ٥ملم مأخوذ من حافة مستعمرة الفطر النامي على الوسط الغذائي PDA بعمر سبع أيام وحُضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٥ ± ٢°م لمدةأسبوع وقُدر نموالفطر بأخذ معدل قطرين متعامدين من ظهر المستعمرة يمران بمركز القرص (Gupta ٢٠١٠)

3-2-٧-2 تأثير الملوحة(NaCl)

لدراسة تأثير الملوحة في نمو الفطر*F. graminaerum* المنتج للسم حضرت سلسلة مستويات من مادة كلوريد الصوديوم (NaCl) هي١٪،٢٪،٣٪،٤٪ثم أُضيفت هذه المستويات إلى الوسط الزرعيPDA على أربع دوارق زجاجية حجم ٢٥٠ مل بواقع ١٠٠مل وسط لكل دورق وتم تحضير دورق خامس دون اضافة أي شئ للمقارنة ثم عقمت الدوارق بجهاز التعقيم البخاري وصُبت الأوساط في أطباق بتري قطرها ٩سم وبواقع أربعة اطباق لكل تركيز لكل مستوى من كلوريد الصوديوم, بعدها لُقحت الأطباق بقرص قطره ١ سم مأخوذ من حافة مستعمرة الفطر النامي على الوسط الغذائي PDA بعمر سبع أيام وحُضنت الأطباق بدرجة حرارة ٢٥ ± ٢°م لمدة سبعة أيام وقُدر نموالفطر كما مر في الفقرة اعلاه .

3-2-٨ تقيم فعالية زيت الزيتون في إمكانية حماية النظم الحيوية لحيوانات الجرد الابيض من الاثار السمية لسم DON

تم إجراء هذه الدراسة لغرض التعرف على امكانية إمتلاك مادة زيت الزيتون فعالية في ازالة او خفض سمية سم الDONفي بعض النظم الحيوية لحيوان الجرذ الابيض عليه نفذت هذه الدراسة وفقاً للخطوات التالية:-

3-2-8-١ تحضير سم DON

لغرض تهيئة كمية مناسبة من سم الDON لإستخدامها في تنفيذ هذه الدراسةتم اتباع الخطوات التي ذكرها الجميلي وآخرون (٢٠٠٩) مع اجراء بعض التحويرات البسيطة وكما يأتي:-

آ-تنمية عزلة الفطر *F.graminearum* المنتجة لسم DONعلى وسط الرز وكما موضح في الفقرة (٣-٢-٢-٢)

ب-إستخلاص سم DON من حبوب الرز بنفس الطريقة المبينة في الفقرة (٣-٢-٥-٢)

ج-تنقية سم DON تم تنقية السم بنفس الاسلوب الوارد في الفقرة(٣-٢-٥-٢) بعدها تم التاكيد من وجود السم في العينات المستخلصة من خلال الكشف عنها الخطوات المبينة في (٤-٥-٢-٣)

كررت هذه الخطوات عدة مرات لحين الحصول على ٢٠ملغم من سم DONبعدها في ١٠مل من مادة Dimethylsulfoxid(DMSO)

3-3-٨-2 تهيئة مادة زيت الزيتون

تم الحصول على زيت الزيتون من الاسواق المحلية من انتاج شركة ZER

3-2- 8- 3 تنفيذ المعاملات

تم تنفيذ المعاملات كمامبين ادناه

جدول (3-4)يوضح معاملة زيت الزيتون للحيوانات المختبرة

المعاملات	توصيف المعاملات
معاملة السيطرة	حيوانات لم تعامل بشيء
معاملة زيت الزيتون فقط	حيوانات جرعت بزيت الزيتون ١مل/كغم من وزن الحيوان
معاملة زيت الزيتون +سم DON	جرعت الحيوانات اولاً بزيت الزيتون وبجرعة ١مل /كغم من وزن الحيوان وفي اليوم التالي جرعت الحيوانات سم ال DONوبتركيز ٢ملغم/كغم من وزن الحيوان
معاملة سم DON فقط	جرعت الحيوانات بسم DONوبجرعة ٢ملغم/كغم من وزن الحيوان فقط

جرعت الحيوانات بالنسبة لمعاملة زيت الزيتون +سم ال DONوبواقع ١٥جرعة بالزيت زيتون و١٥جرعة بسم DONوبصورة متعاقبة واستمرت التجربة لمدة شهر واحد وبعد انتهاء مدة التجربة ضحيت الجرذان بعد أن خدرت بالكلوروفورم وشرحت (عن طريق فتح التجويف البطني) وتم سحب الدم عن طريق طعنةالقلب(heart puneture) ثم وضع قسم من الدم المسحوب في أنابيب زجاجية نظيفة غير حاوية على مانع تخثر لإجراء إختبارحساب أنزيمي GPT وGOT وحساب مستوى البروتين الكلي،أما القسم الاخر فوضع في أنابيب حاوية على

مادة مانع التخثر(EDTA)لإجراء بعض إختبارات الدم الفسلجية .كماتم اخذ اجزاء من الكبد والكلية والامعاء والطحال وحفظها في محلول الفورمالين ١٠٪

وتم حساب المعايير التالية

1-المعايير الكيمو حيوية

تم أخذ أنابيب الدم الغير حاوية على مانع تخثر ووضعها في جهاز الطرد المركزي (٣٠٠٠ دورة / دقيقة) لمدة عشرة دقائق(وأُجري هذا الإختبار في مختبرالحسين الطبي / حلة / بابل) و بعد الحصول على المصل (Serum) تم حساب :

- حساب أنزيم Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT)
- حساب أنزيم Glutamic Oxaloacetic Transaminase (GOT)
- حساب مستوى البروتين الكلي(TP).total protein

2-المعايير الفسلجية للدم

أُجري حساب الإختبارات الفسلجية للدم بواسطة جهاز Humacount الالماني في مختبر السموم /كلية العلوم الطبية التطبيقية /جامعة كربلاء، حيث تم أعطاء تقرير كامل لكل معاملة من المعاملات وتضمن حساب :

- معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض(WBC).
- معدل التعداد الكلي لكريات الدم الحمر(RBC).
- حساب مكداس الدم (PCV).
- حساب معدل الهيموكلوبين الكلي(HB) .

3- الدراسات النسجية

تم اجراء الفحص النسيجي للأعضاء المدروسة(الكبد ،الكلية، الأمعاء ،الطحال) والمحفوظة في محلول الفورمالين 10% وأُجري التمرير والتقطيع النسيجي حسب طريقة Luna(١٩٦٨) في مستشفى الصدر العام / النجف الأشرف) وتم فحص المقاطع النسيجي من قبل الدكتور حيدر كحبوش/مشتشفى الحسين/كربلاء.

4-3 تجربة الكشف عن سم الـ DON في دم بعض أفراد المجتمع في محافظة كربلاء

نفذت هذه التجربةفي محافظة كربلاء للكشف عن وجود السم في دم بعض الأشخاص حيث جمعت عينات الدم التي بلغ عددها ٥٠عينة بواقع ٥ مل لكل عينة من بعض الأشخاص بصورة

عشوائية وقسمت التجربة إلى قسمين تضمن القسم الأول ٢٥ عينة جمعت من مناطق مختلفة من مركز المدينة وتضمن القسم الثاني ٢٥عينة جمعت من مناطق مختلفة من القرى والأرياف الذين يسكنون في أطراف المدينة وكان اعمار الأفراد يتراوح بين١٥-٥٠ سنة.ونفذت الطريقة الأتية للكشف عن السم في الدم:

١- أُخذت أنابيب الدم ووضعت في جهاز الطرد المركزي.
٢- أُخذ ١مل من المصل (serum) وأُضيف إلية قطرة من protein K ثم وضع في جهاز الطرد المركزي(٣٠٠٠دورة لمدة عشرة دقائق).

اخذالراشح وثم الكشف عن سم DON بنفس الاسلوب الوارد الوارد في الفقرة(٣-٢-١٠)

٣- أخذ الراشح واضيف اليه بمقدار حجمه من الكلورفورم وركزت بتعريضها لدرجة حرارة٤٥ م .
٤- تم الكشف عن السم باستخدم تقنية TLCوكما مبين في الفقرة (٣-٢-٥-٢)

التحليل الإحصائي

نقدت التجارب المختبرية على وفق التصميم العشوائي الكامل كتجارب احادية العامل، حللت النتائج باستعمال جدول تحليل التباين وقورنت المتوسطات بحسب اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D) تحت مستوى معنوية (0.05)، (الراوي، وخلف الله، ٢٠٠٠).

النتائج و المناقشة

DISCUSSION RESULTS

4- النتائج والمناقشة Results & Discussion

4-1عزل وتشخيص الفطر *Fusarium* spp. من عينات حبوب الذرة الصفراء والحنطة

أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود الفطر *Fusarium* في عينات حبوب الذرة الصفراء وبنسبة ظهور 33.3% في حين بلغت نسبة الظهور في عينات حبوب الحنطة 25% وكانت أهم الأنواع الفطرية المعزولة منه في حبوب الذرة الصفراء هي *F. graminearum* و *F. moniliforme* و *F.napiform.* كما تم عزل نوعي *F. verticilloides* و *F. graminearum* من حبوب الحنطة.

هذه النتائج مقاربة لما وجده مغلس (2004) حيث وجد ثلاث أنواع من فطر *Fusarium* ملوثة لحبوب الذرة الصفراء وهي *F. moniliforme* و *F. graminearum* و *F.semitectume*.

ومقاربة لما وجده الحميري (2007) حيث وجد الفطر *Fusarium* في عينات حبوب الحنطة المحلية والأمريكية والاسترالية وعينات حبوب الذرة الصفراء وكانت أهم الانواع المعزولة *F. moniliforme* و *F. graminearum* وتتفق هذه النتائج أيضاً مع ما وجده سلومي (2007) والقيسي (2010) والحدراوي (2011) إذ وجدوا أن الفطر *F. graminearum* موجود في حبوب الذرة الصفراء .

ويعود سبب تواجد فطر *Fusarium* وبنسب عالية حبوب الذرة الصفراء والحنطة إلى المحتوى الرطوبى العالي للمحصول خلال عملية الحصاد وتزامن موعد الحصاد مع تساقط الأمطار، و ظروف الخزن السيئة بالدرجة الأساس والتي أدت إلى توفير الرطوبة الملائمة ودرجة الحرارة المناسبة التي شجعت نمو الفطر خلال مدة الخزن فضلا عن إصابات الحشرات التي يتعرض لها المحصول والأضرار الميكانيكية الناجمة عن عمليات الحصاد والنقل . وقد وجد شهاب (1998) ان نسبه الإصابة بالفطر *F.moniliforme* تصل إلى 100% فى بعض عينات الحبوب . كما وجد حسين(2000) ان نسبة الإصابة بالفطر بلغت 20.7 % في عينات الحبوب التي جمعت من مواقع مختلفة من بغداد . وأشارت العديد من الدراسات إلى الاصابة العالية لمحصول الذرة الصفراء والحنطة بالفطر *Fusarium* ، إذ يعد من الفطريات المرافقة والممرضة لجميع مراحل النمو فهو يصيب الجذور والسيقان والعرانيص والحبوب وغالبا ما يكون ملازما لمحصول الذرة الصفراء (Adebanjo & Bankole, 2003; Fandoham *et.al.*;2001 and Marasas,2003) .

جدول (4-1)نسب ظهور الفطر *Fusarium* Spp في عينات حبوب الذرة الصفراء والحنطة

المحصول	نسبة ظهور الفطر *Fusarium*%
حبوب الذرة الصفراء	٣٣,٣
حبوب الحنطة	٢٥

4-2 اختبار قابلية عزلات الفطر *Fusarium* spp. على إنتاج سم DON على وسط الرز

أظهرت نتائج الكشف والتحري عن سم DON قدرة عزلتين(٤٠٪) من الفطر *Fusarium* spp والمعزولة من عينات حبوب الذرة الصفراء والتي مصدرها سايلو محافظة بابل قادرة على انتاج سم DON , في حين كانت عُزلة واحدة (25 %) معزولة من عينات حبوب الذرة الصفراء تعود لسايلو محافظة كربلاء منمّية سم DON . اما عُزلات الفطر *Fusarium* spp والمعزولة من حبوب الحنطة والتي لها القدرة على انتاج سم DON فكانت ثلاث عُزلات إثنان منها 33.3 % كان مصدرها سايلو محافظة بابل , في حين كانت عُزلة واحدة 25 % مصدرها سايلو محافظة كربلاء منمّية لهذا السم (جدول 4_2) , هذه النتائج مقاربة لما وجده Evans وآخرون (2000) والذين اشاروا الى قدرة عُزلات الفطر *F. graminearum* على انتاج سم DON في حبوب الرز وبكميات تراوحت بين 0.23 –

10.24 مايكروغرام / غم حبوب رز , كما وجد الحميري (2007) ان 16 عُزلة من اصل 35 عُزلة من الفطر *F. graminearum* قادرة على انتاج سم DON .

جدول(2-4) قابلية عزلات فطر *Fusarium* على إنتاج سم DON.

مصادر العزل	عدد عزلات فطر*Fusarium*	عدد العزلات المنتجة للسم الـ DON	% للعزلات المنتجة لسم DON
المجموعة (A)*	**5**	**2**	**40**
المجموعة (B)*	**4**	**1**	**25**
المجموعة (C)*	**6**	**2**	**33.3**
المجموعة (D)*	**4**	**1**	**25**
المجموع الكلي*	**19**	**6**	**31.5**

*المجموعة A=عينات حبوب الذرة صفراء من محافظة بابل .

*المجموعة B= عينات حبوب الذرة صفراء من محافظة كربلاء .

*المجموعة C =عينات حبوب الحنطة من محافظة بابل.

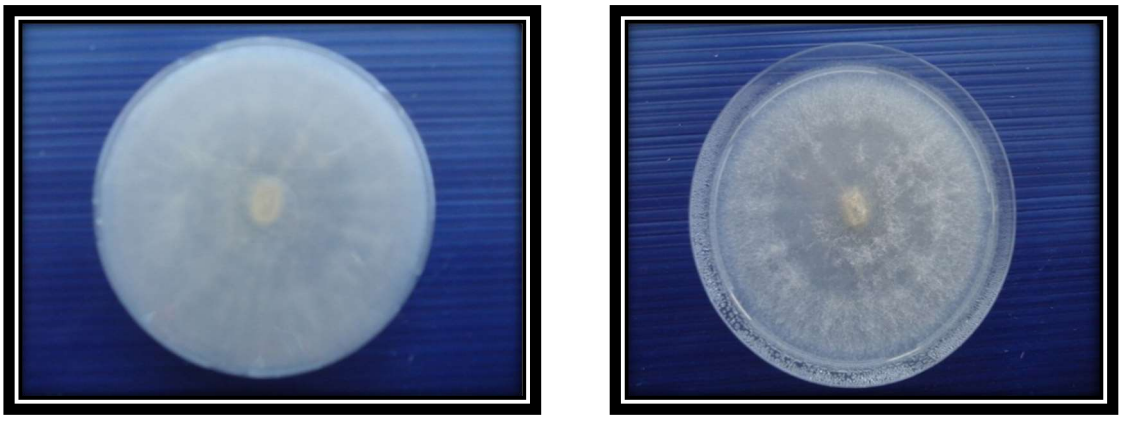
*المجموعة D=عينات حبوب الحنطة من محافظة كربلاء.

3-4 تشخيص أنواع فطر *Fusarium* المنتجة لسم DON

أظهرت نتائج هذا الإختبار أن جميع العزلات المنتجة لسم DON تعود للفطر*F. graminearum* وفقاً للمفاتيح التصنيفية لجنس *Fusarium* .(1977,Booth; 1996 ,Seifert).

هذه النتائج مقاربة لما وجده Pitt و Hocking (١٩٩٧)إذ أكداأن سم DON يكون مرافق بشكل كبير للفطر *F. graminearum* (*Gibberellazeae*) والفطر *F. culmorum* والذي يسبب مرض لفحة رأس الحنطة ومرض تعفن العرانيص الجبرلي في الذرة الصفراء .وتتفق أيضاً مع ما وجده Volki وآخرون (2004) حيث أكدوا أن سم DON هو أيض ثانوي لبعض أنواع الفطر *Fusarium* مثل النوع *F. graminearum* و*F. culmorum* وكلا هذين النوعين يصيبان محاصيل الحبوب مثل الحنطة والذرة الصفراء. كما وجد الحميري (2007) أن جميع العزلات المنتجة لسم DON والمعزولة حبوب الذرة الصفراء والحنطةالمحلية والاسترالية والأمريكية تعود للفطر *F. graminearum* .

وفيما يخص الصفات التشخيصية فقدأظهرت مستعمرات الفطر *F. graminearum* **لون أبيض لكلا السطحين وبمرور الوقت تظهر صبغة صفراء فاتحة من قاعد المستعمرة ، والغزل الفطري كثيف أبيض الى أصفر أو برتقالي فاتح سريع النمو على الوسط الغذائي** PDA**، الوسادة الكونيدية تتكون ببطء وتكون حمراء اللون، الأبواغ الكونيدية الكبيرة مقوسة بعض الشيْء ذات سطح بطني مستوي وسطح ظهري محدب الخلية القمية مستدقة والخلية القاعدية قدمية الشكل عدد الحواجز فيها عادةً من 5-6** . وهذا يوافق ما ذكره Trail وآخرون (٢٠٠٥) و ما ذكره كاظم ،(2011).(صورة 4-1)



A **B**

صورة(١-٤) الشكل المظهري للفطر*F. graminearum* المنتج للسم A - الجهة العليا المستعمرة B– الجهة السفلى المستعمرة.

4-4الكشف عن سم DON في عينات حبوب الذرة الصفراء والحنطة

4-4-1الكشف عن السم في عينات حبوب الذرة الصفراء

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي لعينات الذرة الصفراء بإستعمال تقانة صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة TLC بتلوث 4 عينات من أصل 12عينة من عينات الذرة الصفراء بالسم DON أي بنسبة 33.3%.

هذه النتائج مقاربة مع ما وجده كل منSchuh وHochsteiner (٢٠٠١) إذ وجدا سم DON في 979 عينة من أصل 1970 عينة أي بنسبة 49.6 % ملوثا للعينات وتتفق النتائج أيضاً مع ماوجده الحميري (2007) حيث وجد 16 عينة من حبوب الذرة الصفراء من أصل 25عينة ملوثة بسم DON. وتعلل نتائج وجود السم في حبوب الذرة الصفراء إلى توفر الظروف الملائمة للفطر المنتج للسم من حيث الرطوبة والحرارة المناسبة له وكذلك تعود لقدرة الفطر على تحمل كثير من الظروف البيئية القاسية إذ وجد كاظم (2011) عند دراسة تاثير بعض العوامل على بعض أنواع فطر *Fusarium*وجد ان الفطر *F. graminearum* ينمو في مدى واسع من درجات الحرارة و الرقم الهيدروجيني (pH).

4-4-2الكشف عن السم في عينات حبوب الحنطة

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي لعينات حبوب الحنطة بإستعمال تقنية صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة TLC بتلوث 3عينات من أصل 12عينة من عينات حبوب الحنطة بالسم DON أي بنسبة 25%.

وهذه النتائج مقاربة لما وجده كل من Schuh وHochsteiner (2001)بأن وجود سم DON في عينات الحنطة والذرة الصفراء كان في 979 عينة من أصل 1970 عينة أي بنسبة 49.6 % ،وهذه النتائج وتتقارب أيضا مع ماوجده الحميري (2007)، حيث وجد18 عينة من عينات حبوب الحنطة ملوثة بسمDON من أصل 40 عينة .

كما بينت النتائج أعلاه ان تلوث حبوب الذرة الصفراء كان أكثر من تلوث حبوب الحنطة بسمDONوهذا يتفق مع ماذكره Camphell وآخرون (2002) أن نسبة وجود سم DON في الذرة الصفراء أعلى من الحنطة والشعير.

4-5 دراسة تأثير بعض العوامل في معدل النمو القطري للفطر*F. graminearum* المنتج للسم مختبرياً

4-5-1 الرقم الهيدروجيني (pH)

أظهرت النتائج المبينة في الجدول(4-4) تأثير الرقم الهيدروجيني في معدلات نمو الفطر *F. graminearum* على الوسط الغذائي PDA بدرجة حرارة 25 ± 2 °م إذغطى مساحة الطبق بالكامل (9 سم) في اليوم السابع من الحضن في حين لم يلاحظ اي نمو للفطر عند الرقم الهيدروجيني 3.(صورة 4-1).

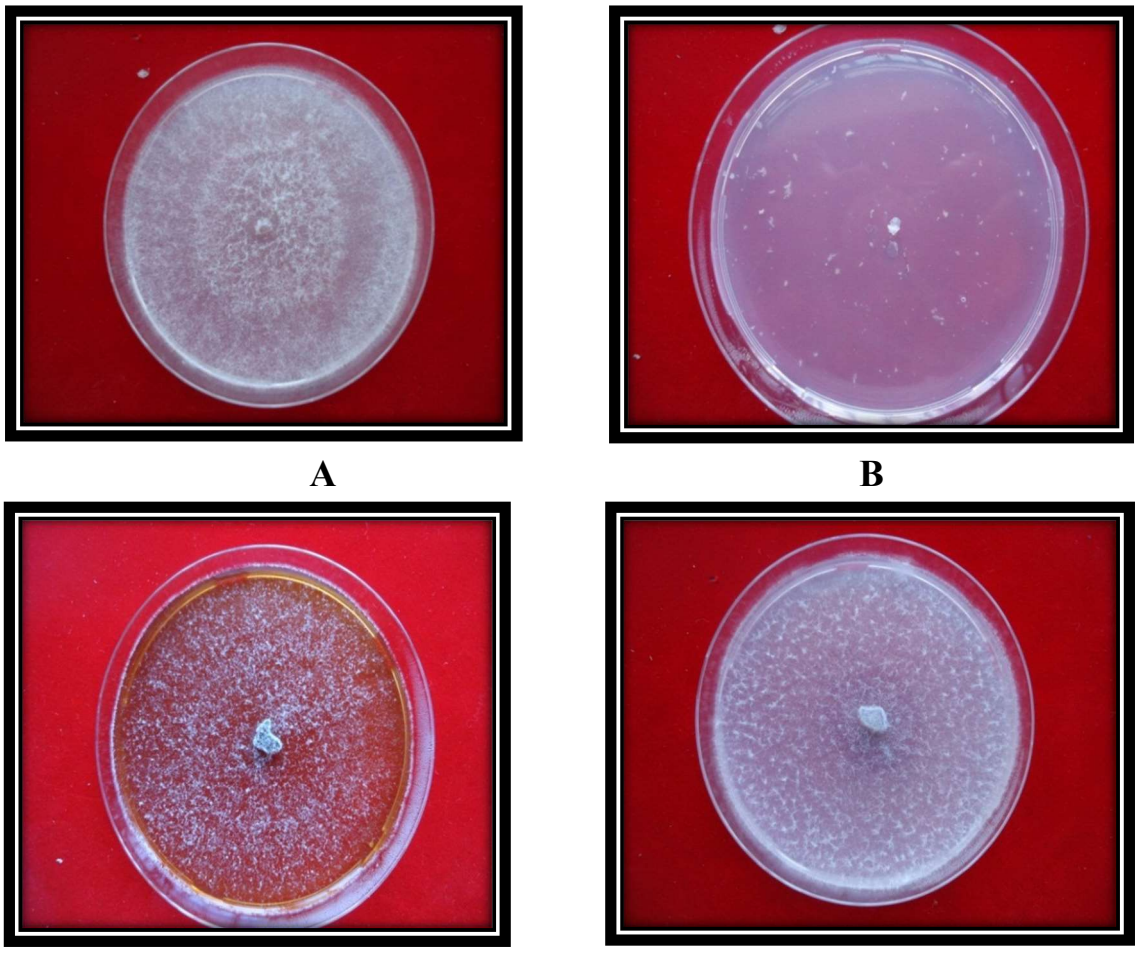
نتائج هذه الدراسة مقاربة لما وجده كاظم (2011) من كون الرقم الهيدروجيني 8هو الأمثل لنمو الفطر *F. oxysporum*، بينما كان أفضل نمو للفطر *F. babinda* عند الأرقام الهيدروجينية 6 و 8 و 9. في حين لم يؤثر تغيير الرقم الهيدروجيني للوسط في معدل نمو الفطر *F. graminearum*إذ كان نمو الفطر متماثل عند إستخدام الأرقام الهيدروجينية 5و6و7و8 و9 .وقد يعود سبب ذلك الى قدرة هذا الفطر على النمو في مدى واسع من الأرقام الهيدروجينية وأن بعض عزلات الفطر النامية في الوسط الغذائي PDA تعمل على تغيير الرقم الهيدروجيني للوسط من القاعدي الى الحامضي من خلال كمية ونوعية المواد الأيضية .

كما يمتاز سايتوبلازم الخلية الفطرية بكونه غير ناضح لأيونات الهيدروجين والهيدروكسيل لذلك فإنه يمكن أن يبقى محافظاً على نسبته من الأيونات الموجودة، لكن الأنزيمات الموجودة في الغشاء السايتوبلازمي نفسه تتأثر بتركيز أيون الهيدروجين مما يؤدي الى تأثر الفعاليات الأخرى منها ألفة هذه الأنزيمات تجاه المواد المذابة في الوسط (السعد، 1990). وأشار Shresti (٢٠٠٥)الى إن إنخفاض الرقم الهيدروجيني للوسط يجعل الغشاء البلازمي معرقلاًلمرور الأيونات الموجبة، أما عند إرتفاع الرقم الهيدروجيني تعمل أيونات الهيدروكسيل على منع مرور الأيونات السالبة الضرورية.

جدول (3-4) تأثير مديات مختلفة من الرقم الهيدروجيني (pH) على معدل نموالشعاعي للفطر *F. graminearum*على وسط PDA .

ت	الرقم الهيدروجيني	معدل قطر المستعمرة (سم)	النسبة التثبيط(%)
1	3	0	100
2	6	9	0
3	9	9	0
4	12	9	0

*الأرقام تشير إلى معدل ثلاث مكررات لكل معاملة.



صورة(2-4)تأثير الرقم الهيدروجيني(pH)على معدل نمو الفطر *F. graminearum* A=pH6 ,B=pH3 ,c=pH9 ,D=pH12

2-5-4 تأثير عامل الملوحة NaCl

أظهرت نتائج هذا الاختبار وجود فروق معنوية في قطر مستعمرات الفطر*F. graminearum* المنتج لسم DON إذ يقل مع زيادة مستوى الملوحة المضاف للوسط الزرعي PDA ولمدة أسبوع إذ كان أعلى نمو للفطر عند مستوى ملوحة1%غم إذ بلغ 8.4 سم وعند المستوى 2%غم بلغ قطر الفطر7.4سم أما عند المستوى 3%غم بلغ القطر5.9سم وعند مستوى 4%غم بلغ قطر الفطر4.3 سم في حين بلغ في معاملة المقارنة (9)سم .(صورة 2-4).

هذه النتائج تتقارب مع ما وجدته إحدى الدراسات والتي أشارت إلى أن أعلى نمو للفطر *F. soloni*كان عند مستوى ملوحة 0.5%و 1% واثبت أيضاً بأن المستويات المتطرفة تكون ذات تأثيرات سلبية في النمو (الخلخالي ،2005). وقد أشارت الدراسات إلى ان معظم الخلايا المايكروبية يكون الضغط الازموزي داخلها (Intracellular Tonicity) يعادل تلك القوة المتولدة من محلول ملحي تركيزه0.85 –

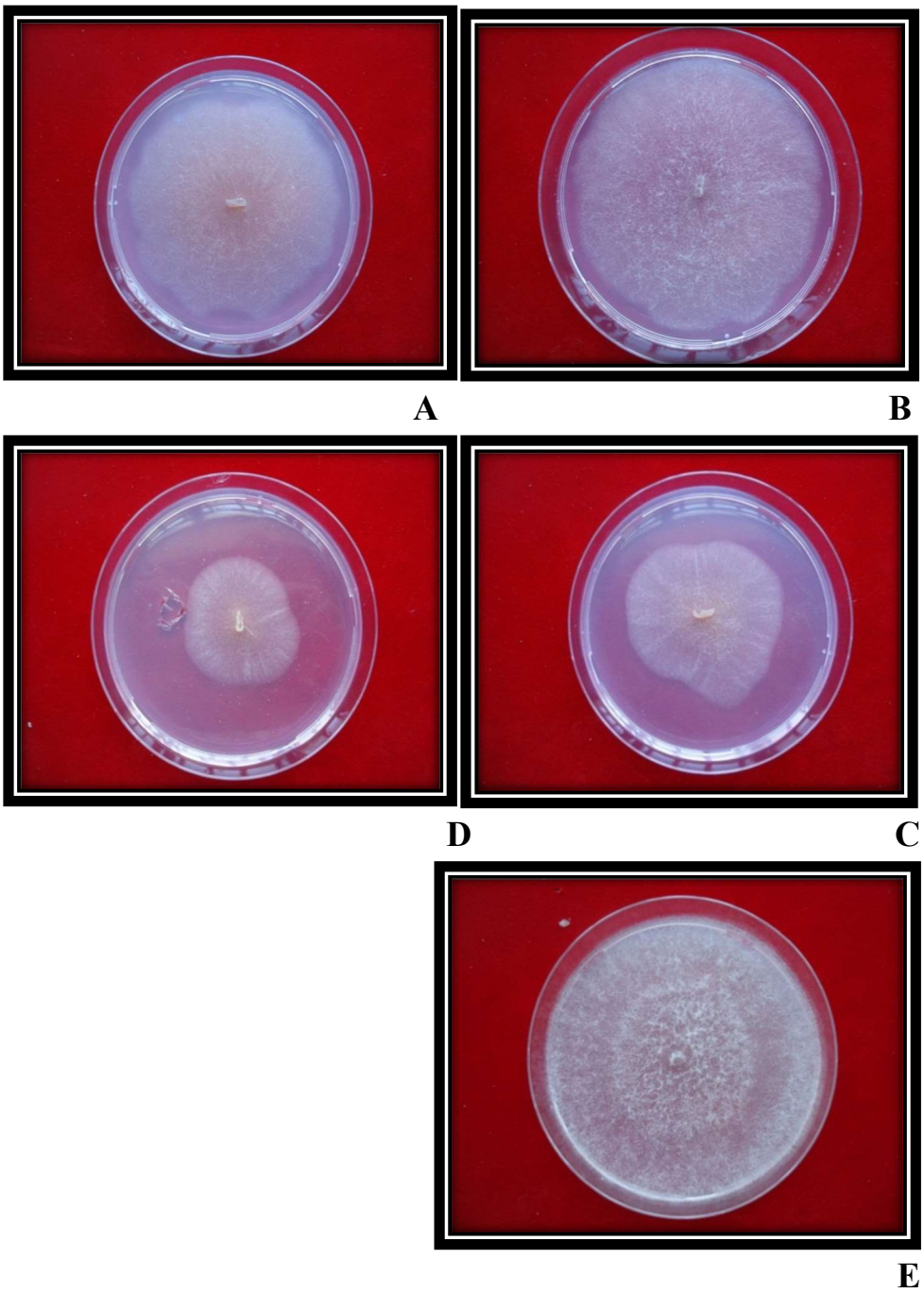
0.9% ولذلك المحاليل الملحية للتخفيفات البكتيرية تحضر بهذا التركيز لكي لا يحدث تغير داخل الخلية (المصلح ، 1990) .

وهذا يفسر النتيجة الحاصلة مع الفطر *F. graminearum* عند مستوى ملحي1% إذ لم تؤثرا هذه النسبة على النمو الطبيعي للفطر في الوسط الزرعي . وهذا يؤكد ان الضغط الازموزي داخل خلايا الفطر يعادل هذا التركيز وبهذا لم يحصل أي تغير فسلجي في الفطر . في حين التراكيز الأعلى 3%و 4% اثرت سلبا على نمو الفطر وسببت انخفاضاً ملحوظاً في معدل قطر المستعمرات . ويمكن تفسير هذه النتيجة بان الخلية الفطرية للفطر *F. graminearum* عند تنميتها في التركيز ٤٪ الذي يعتبر اعلى من محتوى تركيز الخلية من مادة كلوريد الصوديوم مما سبب خروج الماء من داخل الخلية الى خارجها عبر الاغشية شبه النضاحة في الخلية الفطرية بهدف معادلة التركيز متسبب في حدوث ظاهرة الانكماش (Plasmolized) ثم تجف (dehydration) (داود وجماعته ، 1991) .

جدول (5-4) تأثير مستويات ملحية مختلفة في معدل النموالشعاعي للفطر *F. graminearum* على وسط PDA .

ت	المستوى الملحي (%)	معدل قطر المستعمرة (سم)	النسبةالتثبيط(%)
1	0	9.0	0
2	1	8.4	2.3
3	2	7.4	13.9
4	3	5.9	31.3
5	4	4.3	50.0
	(P < 0.05) L.S.D	0.44	

*الأرقام تشير إلى معدل ثلاث مكررات لكل معاملة.



صورة (٢-٤) تأثير مستويات ملحية مختلفة في معدل نمو الفطر *F. graminearum* على وسط PDA /A= 1% ، B=2% ، C=3%، D=4% ، E=0%.

4-6تقييم فعالية زيت الزيتون في حماية النظم الحيوية لحيوانات الجرذ الأبيض من الآثار السمية لسم DON

4-6-1 معايير الدم الكيموحيوية

4-6-1-1 حساب مستويات أنزيمي GPT وGOT

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (4-6) أن سم DON أدى إلى ارتفاع نسبة أنزيمي GPT وGOTفي دم الحيوانات المعاملة بالسم فقط إذ بلغت22.5 وحدة دولية /لتر و198.6 وحدة دولية /لتر على التوالي في الوقت التي بلغت مستويات تلك الأنزيمات في معاملة السيطرة 8.3وحدة دولية /لتر و 21.4 وحدة دولية/لتر على التوالي .وكان لمادة زيت الزيتون فعالية عالية في خفض مستويات هذين الأنزيمين في دم الحيوانات المعاملة بزيت الزيتون أولاً ثم يتبعه معاملتها بسم DONبعد مرور 24 ساعة من معاملتها بزيت الزيتون إلى 8.9 و30.6وحدة دولية /لترعلى التوالي ومن جانب آخر لم يكن لمادة زيت الزيتون تأثيرات سلبية إذلم يحدث فيها إرتفاع ملحوظاً على مستويات هذه الأنزيمات فقد بلغت 8.5و 23.2وحدة دولية /لترعلى التوالي .

ويمكن تعليل نتائج ارتفاع نسبة الأنزيمين في مصل الدم لمعاملة سم DON فقط تعود الى ان سم DONادى إلى حصول تلف في الكبد والكلية بحيث يفضي إلى تحلل بعض الخلايا وتحرر محتوياتها في الدم و ان مركز وجود هذين الأنزيمين هو الكبد والكلية فمن الطبيعي أن تحصل زياده في مستويات هذين الأنزيمين في الدم أونتيجة الموت الموضعي لخلايا الكبد أو الكلية وبالتالي تسرب الانزيمين للدم(عفيفي ،2000) وقد اثبتت الفحوصات النسيجية حصول تلف في خلايا المكونة لكل من الكبد والكلية في معاملة سم DON.

وهذه النتائج تتفق مع ماوجده مغلس (2004) حيث وجد زيادة مستوى الانزيمين في مصل الدم عند تغذية الحيوانات المختبرة على علائق ملوثة بسم الفيومونوزين B1المنتج من قبل الفطر *F.moniliforme* كما وتتقارب مع ماوجده الحديثي (٢٠٠٥) إذ وجد زيادة مستوى الإنزيمين عند تناول ذكور فار الابيض غذاء ملوث بسم T-2المنتج من قبل بعض أنواع الفطر*Fusarium*

وكذلك أشار عامر وجماعته (2010) ان زيادة هذين الأنزيمين مرتبطة بعدد من الامراض وخاصة في الأنسجة الغنية بهما مثل الكبد والقلب.

وأما مايخص معاملات زيت الزيتون فقدتبين سلامة زيت الزيتون وكفاءتة في اختزال تأثير السم وهذه النتيجة تؤكدها نتائج الفحص النسجي اذ بينت سلامة زيت الزيتون وكفاءته في اختزال السم، وهذا يتقارب مع كثير من الدراسات فقد ذكر السعدي وجماعته ،(2013)،ان للمستخلص الجليسريني الإيثانولي لزيت بذور الزيتون والمعطى في التجويف البريتوني للجرذان عند الجرعة 125ملغم/كغم يعمل على التقليل من إرتفاع ضغط الدم،وتبين ان زيت بذور الزيتون المعطى بالتجويف البريتوني للجرذان بجرعة 1مل /يوم لثلاث أشهر يؤدي إلى تثبيط الأنجيوتنسين11 الذي يستحث ارتفاع ضغط الدم وكذلك تقليل مستوى أنزيم الرنين الذي له علاقة بأرتفاع ضغط الدم ،ولزيت الزيتون فعالية وقائية ضد التجلطات الدموية حيث له أهمية في تحليل الدهون ويقلل من تجمع الصفيحات الدموية وكذلك له أهمية مثبطة للتسرطن ومضاد للألتهابات وتعود فعالية زيت الزيتون لإحتوائه على الزيوت التي تمثل مكونات عديدة مثل المركبات العطرية الطيارة والمركبات الفينوليةوالكليسيريدات بأنواعها الثلاث الأُحادية

والثنائية والثلاثية ،وكذلك يحتوي على الاحماض الدهنية والفيتامينات مثل E و D والدهون المفسفرة والصابونيات والتانينات والسكوالين وغيرها. (هيكل وعمر ،1988).

كما قد تعود فعالية زيت الزيتون في إختزال تأثيرات سم الـ DON لإحتوائه على الفيتامينات التي ثبتت فعاليتها في إختزال بعض السموم الفطرية فقد أشارChen وآخرون (1982) بأن لفيتامين E القدرة على اختزال سم الافلا B_1 المجرع للدجاج عن طريق منع ارتباط السم بالحامض النووي لخلايا الكبد وبالتالي منع حدوث السرطان ، كما أشارDenli وآخرون (٢٠٠٣) أن فيتامين A يعمل كعامل مضاد للأكسدة وله القابلية على اختزال مرض التسمم بسم الافلا aflatoxicosis في الكبد والكلى لطيور *Coturnix coturnix* Japonica بعد إن جرعت بالسم مسبقا ، كما أشار Bender and (2003) Mayes أن فيتامين E يعمل كمضاد للأكسدة. كما وجد Verma وآخرون (٢٠٠٨) في تجربة على ذكور الجرذان البيض قابلية فيتامين E المجرع مع زيت الزيتون على اختزال سم الافلا ومنع حدوث التغيرات النسجية غير الطبيعية في البربخ .

4-6-1-2حساب مستوى البروتين الكلي TP

أظهرت النتائج المبينة في الجدول (4-6) أن سم DON تسبب في إختزال مستوى البروتين الكلي في دم الحيوانات المعاملة بالسم فقط إذ بلغ مستواه 2.1 غم/100مل في حين بلغ مستوى هذا البروتين في معاملة السيطرة (حيوانات غير معاملة) 5.8غم/100مل وكان لمادة زيت الزيتون دور فاعل في رفع مستوى البروتين الكلي إلى 4.3غم/100مل في معاملة زيت الزيتون والسم معاً لنفس الحيوانات وهذا المستوى قريب من مستواه في دم حيوانات معاملة السيطرة .كما لم يكن لمعاملة زيت الزيتون أية تأثيرات على مستوى البروتين الكلي فقد بلغ مستواه 6.0غم/100مل مما يدل على سلامته التامة داخل أجسام الحيوانات المعاملة به .

يعود إنخفاض مستوى البروتين الكلي في دم الحيوانات المعاملة بسم DON إلى ان التأثير الرئيسي للترايكوثسينات سم DON إنها تعمل على تثبيط التخليق الحيوي للبروتين وذلك من خلال خفضها تخليق DNA و RNA وخفض مستوى الرايبوسومات(Rotterوآخرون ، 1996) . اما معاملات زيت الزيتون فقد تبين سلامة زيت الزيتون وكفاءته في خفض سمية سم DONوقد تم تعليل ذلك في الفقرة (-2 وهذه النتائج تتفق مع ما وجده الحديثي (٢٠٠٥) أذ وجد أن سم T-2 أدى الى خفض مستوى البروتين الكلي عند تغذية الفئران البيض على غذاء ملوث بسم T-2 .

وان نقصان مستوى البروتين الكلي يعد حالة مرضية وخطرة لأن للبروتين أهمية كبيرة داخل الجسم أشار مغلس (٢٠٠٤) أن زيادة مستوى البروتين الكلي في دم الإنسان والحيوان له أهمية من خلال إحداث التوازن الطبيعي للجسم ، كما يعد مخزن للأحماض الأمينية وناقلا للعديد من المركبات الدهنية والمواد الكربوهيدراتية والتي تنقل بشكل بروتينات دهنية (Lipoproteins) أو بشكل بروتينات كربوهيدراتية (Glycoproteins). 6-4.

جدول (4-6) تأثير معاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسم DON في بعض معايير الدم الكيموحيوية لحيوانات الجرذ الابيض.

ت	المعاملات	أنزيم GPTوحدة دولية/لتر	أنزيم GOT وحدة دولية/لتر	البروتين الكليTP غم/100مل
1	سم DONفقط	22.5	198.6	2.1
2	زيت الزيتون فقط	8.5	23.2	6.0
3	زيت الزيتون +سم DON	8.9	30.6	4.3
4	السيطرة	8.3	21.0	5.8
	L.S.D ($P < 0.05$)	4.9	7.6	0.4

*الأرقام تمثل معدل ثلاث مكررات

4-6-3الإختبارات الفسلجية للدم

4-6-3-1 حساب معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض WBC

أوضحت النتائج المبينة في الجدول (4-7) أن معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض في دم الحيوانات المعاملة بسم DONفقط كانت هي الاكثر تعداداً وبفروقات معنوية عن بقية المعاملات الأُخرى إذ بلغت13 $\times 10^9$ خلية /لتر مقارنة بمعاملة السيطرة 8.0×10^9 خلية /لترفي حين بلغ معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض في معاملة زيت الزيتون فقط 9.0×10^9 خلية /لتر.ومن جانب آخر بلغ معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض في معاملة زيت الزيتون وسم DON معاً 11.0×10^9 خلية /لتر

وتؤشر نتائج هذه الدراسة قدرة سم DONعلى إستحثاث تكوين خلايا الدم البيض وهذا يتوافق مع ما أشارإليهJawetzوآخرون (2004)الى ان دخول اي جسم غريب الى داخل الجسم يتسبب في حث مناعة الجسم وزيادة اعداد الخلايا اللمفية في الدم كوسيلة دفاعية ومقارب لما وجده Nelson واخرون (1966) اذ لاحظوا إستجابة مناعية للخنازير ضد بعض السموم الفطرية.وهذه النتيجة تختلف عما بينه Overnes وآخرون(1997) من ان دور السم يعمل على تعطيل الجهاز المناعي .

4-6-3-2حساب معدل التعداد الكلي لكريات الدم الحمرRBC

بينت النتائج الموضحة في الجدول(4-7) أن سمDON أثر في معدل التعداد الكلي لكريات الدم الحمر في دم الحيوانات المعاملة بسمDONفقط إذ بلغت 4.0×10^{12}كرية/لتر مقارنة بمعاملة السيطرة والتي بلغ عددها 5.8×10^{12} كرية/ لتر بينما كان معدل تعداد كريات الدم الحمر في معاملة زيت الزيتون فقط 5.5× 10^{12}كرية/لتر وفي معاملة زيت الزيتون والسم معاً بلغت 5.1×10^{12} كرية/لتر إذ أبدى زيت الزيتون فعالية جيدة في التقليل من الآثار السمية لسم DON وأعاد مستوى كريات الدم الحمر الى مستوى يقارب معدلها في دم حيوانات معاملة السيطرة.

وهذا يتماشى مع نتائج عدد من الدراسات السابقة والتي أكدت ان الحيوانات المعرضة لبعض السموم الفطرية ينخفض فيها خضاب الدم وتصاب بفقر الدم(Anemia) (Lanza وآخرون ،1980) وفسرت الحالة على انها ناجمة عن تأثيرات بعض السموم الفطرية في قابلية الامعاء لإمتصاص عنصر الحديد (Lanza *et .al*,1980) مما يؤدي الى انخفاض تكوين كريات الدم الحمرأو ان بعض السموم الفطرية تؤثر على مواقع إنتاج كريات الدم الحمر في نقي العظام وان نقصان كريات الدم الحمر يؤدي إلى فقر الدم(Anemia) .

وهذا يتماثل مع نتائج عدد من الدراسات السابقة والتي أكدت على أن الحيوانات المعرضة لبعض السموم الفطرية ينخفض فيها خضاب الدم وتصاب بفقر الدم(Anemia)

(Lanzaوآخرون ١٩٨٠; Kubenaوآخرون ١٩٩٧; Mouraوآخرون 2004)وفسرت الحالة على

وأن نقصان كريات الدم الحمر يؤدي إلى فقر الدم (Anemia) ،كما و قد يعود سبب انخفاض كريات الدم الحمر إلى أن زيادة الإنتاج المفرط لعوامل الاستجابة المناعية ومنها السايتوكاينز(Cytokinases) لدى الكائن الحي المجرع بالمنتجات الأيضية للفطريات تسببت في زيادة عملية الأكسدة في الخلية مما يزيد الجذور الحرة التي تهاجم خلايا الدم الحمراء مسببة تحطمه (GutonوHall ،١٩٩٧) ،أو أن المنتجات الأيضية الثانوية لبعض الفطريات تحتوي على مركبات لها القابلية على الارتباط الشديد ببروتينات الدم المسؤولة عن التخليق الحيوي لكريات الدم الحمراء ، مما ينتج عنه قلة كميتها كما أنها تؤثر في التوازن الدموي (Hemostasis) وهذا ما أشار إليه Kubena وآخرون (١٩٩٧) أو قد يكون النقص حاصل نتيجة ارتباط الناتج الأيضي مع بروتينات الغشاء مما أثر على تجهيز الكرية بالطاقة المتمثلة بـATP وكذلك نقل السكريات إلى داخل الخلية وهذه العملية تؤدي في النهاية إلى قصر عمر الكرية وبالتالي موتها (Clohrty وآخرون ٢٠٠١).

كما وجد الحديثي (٢٠٠٥) انخفاض في عدد كريات الدم الحمر والهيموغلوبين ومكداس الدم عند تغذية الفئران على السم T-2 .

كما أظهرت معاملة زيت الزيتون سلامة تامه وكفاءة عالية في إختزال تأثيرات سم الـ DON داخل إناث الجرذ الأبيض وتعلل النتائج بأن زيت الزيتون يحتوي على كثير من المواد الفعالة وخصوصا الفيتامينات فقد ذكر Bender و Mayes (٢٠٠٣) أن فيتامين C يعمل كعامل مختزل(Reducing agent) فعالاً في الأنسجة , وكذلك يساعد على زيادة امتصاص عنصر الحديد من الأمعاء , ووجد إن لفيتامين C القابلية على زيادة فعالية بعض الإنزيمات ، كما أشارDenli وآخرون (٢٠٠٣) أن فيتامين A يعمل كعامل مضاد للأكسدة وله القابلية على اختزال مرض التسمم بسم الافلا aflatoxicosis في الكبد والكلى لطيور Japonica *Coturnix coturnix* بعد إن جرعت بالسم مسبقا

4-6-3-3حساب مكداس الدم PCV.

أوضحت النتائج المبينة في جدول (7-4) ان سم DON أثر سلباً في حجم مكداس الدم (حجم الخلايا المرصوصة) إذ خفض نسبته إلى 34.2% وبفارق معنوي عن معاملة السيطرة التي بلغت 38.5% بينما كان لمادة زيت الزيتون دور فاعل في التقليل من آثار سم DON في دم الحيوانات المعاملة بزيت الزيتون والسم معاً إذ بلغت 38.0%.من جانب آخر لم يكن لماد زيت الزيتون فقط أية تأثيرات في الحيوانات المعاملة به إذ بلغ مكداس الدم 36.7% .

هذه النتائج مقاربة لما وجده مغلس (2004) في دراسة تأثير سم الفيومونوزين على الطيور الداجنة فقد وجد انخفاض في مكداس الدم في دم الطيور المتغذية على علائق ملوثة بسم الفيومونايزين وتتفق أيضاً مع ما وجده القيسي (2010) في دراسة تاثير سم الزيرالينون على طيور السمان . ويعود سبب إنخفاض مكداس الدم إلى تأثير سم DON في قابلية إمتصاص الأمعاء لعنصر الحديد وبالتالي خفض تكوين كريات الدم الحمراء وبالتالي إنخفاض مكداس الدم .

4-6-3-4حساب معدل الهيموكلوبين الكلي Hb .

تسبب سم DON في خفض معدل هيموغلوبين الدم إذ بلغ في دم الحيوانات المعاملة بالسم فقط 11.8غم / 100 مل مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغ فيها معدل الهيموغلوبين 12.3 غم / 100 مل في حين كان لزيت الزيتون دور فعال في هذا المعيار إذ قلل من تأثير سم DON في دم الحيوانات المعاملة بزيت الزيتون والسم معاً إذ بلغ معدل الهيموغلوبين 12.4 غم / 100 مل ومن جانب آخر لم يكن لزيت الزيتون أية آثار على معدل الهيموغلوبين إذ بلغ 12.0غم / 100 مل.جدول(7-4)

وفسرت حالة أنخفاض كمية الهيموكلوبين في دم الحيوانات بالسم DON فقط يعود الى تأثيرات بعض السموم الفطرية في قابلية الامعاء لامتصاص عنصر الحديد الذي يعتبر من مكونات الهيموغلوبين الأساسية مما يؤدي إلى إنخفاض نسبة الهيموغلوبين في الدم (Lanza وآخرون ،1980)وكذلك يعود السبب الى دور السم في التأثير في صنع البروتينات وذلك لتأثيرها في خفض تخليق DNA و RNA وخفض مستوى الرايبوسومات(Rotter وآخرون ،1996)وان أغلبية الهيموغلوبين هو بروتين حيث يبلغ ٩٦٪ ويدعىGlobin (عامر وجماعته، 2010).

جدول (7-4)تأثير مادة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسم DON في بعض معايير الدم الفسلجية لحيوانات الجرذ الابيض.

ت	المعاملات	WBC خلية/لتر	RBC كرية/لتر	PCV %	HB غم/100مل
1	سم DON فقط	$10^9 \times 13.0$	$10^{12} \times 4.0$	34.2	9.7
2	زيت الزيتون فقط	$10^9 \times 9.0$	$10^{12} \times 5.5$	36.7	12.0
3	زيت الزيتون + سم DON	$10^9 \times 11.0$	$10^{12} \times 5.1$	38.0	12.4
4	السيطرة	$10^9 \times 8.0$	$10^{12} \times 5.8$	38.5	12.3
	L.S.D (P < 0.05)	0.46	0.37	2.31	1.28

*الأرقام تمثل معدل ثلاث مكررات.

4 - 7 الدراسة النسجية

أظهرت نتائج الفحص والتشخيص المختبري للمقاطع النسجية لأعضاءالكبد والكلية والأمعاء الدقيقة و الطحال الى حدوث تغيرات نسجية مرضية في تلك الأعضاء للحيوانات المعاملة بالسم مقارنة بمعاملة السيطرة .

فقد ظهر في الكبد حدوث التهابات مزمنة واحتقان وعائي وارتشاح خلوي مع حدوث انحلال خلوي للخلايا الكبدية . صورة (4-4)B.

أما الكلية فحدث فيها التهابات مزمنة وارتشاح خلوي اضافة إلى انحلال في النبيبات والكبيبة صورة(4-4)B .

أما الأمعاء فحدث ضمورللزغابات (Villi) وانحلال مع التهابات صورة(5–4)B .

وفيما يخص الطحال فظهر فيه احتقان ونزف دموي وحدوث حالة Hyperplasia التي تعني فرط انقسام الخلايا(صورة (5-4)B. وهذا يحدث فقط في الخلايا النشطة التي لها القدرة على الإنقسام ومن ضمنها خلايا الطحال ويحدث فرط الإنقسام كما ذكر عفيفي (2000) نتيجة عامل فسيولوجي أو عامل سام.

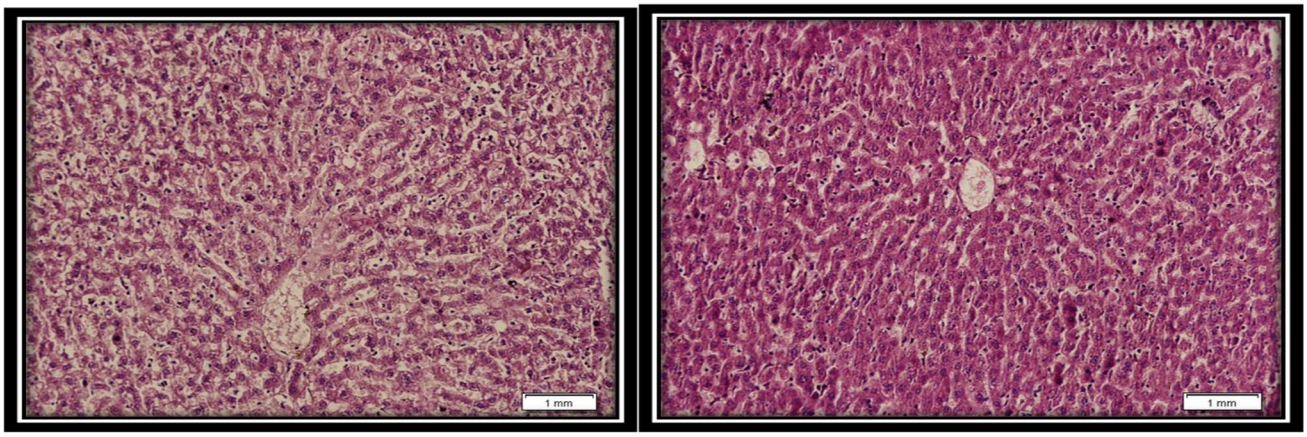
وتعليل هذه النتائج بأن سموم الترايكوثسينات تستهدف الخلايا النشطة في الانقسام كالخلايا المعوية وخلايا الغدة الدرقية والطحال ونخاع العظم ، ومن الحالات الخطرة التي تسببها سموم الترايكوشينات هو (ATA)Almantary Toxinicaleukia) إن هذا النوع من التسمم الغذائي يُحدث بعد أيام من استهلاك الغذاء أو الحبوب الملوثة بالتراكوثسينات فيسبب التهاب الغشاء المخاطي المعوي وتبدأ أعراضه بإسهال وقيء والالآم في البطن وصداع ودوار وإعياء (عبد الحميد , 2000) ، كذلك تأثير الترايكوثسينات في كفاءة الخلايا المعوية على امتصاص المواد الغذائية مثل السكريات واللبيدات والأحماض الأمينية (Maresca وآخرون ،2002).وقد يعود سبب هذه التأثيرات الى قابلية هذه السموم على الارتباط مع

الغشاء الخلوي للخلايا مسببة انحلاله ، او انها تمتلك تأثيراً على المستوى الوراثي مسببة تلف او عدم تصنيع بروتينات الغشاء مما ينتج عنه موت وانحلال الخلايا ، فقد اشار Jouany. وآخرون (2005)الى ان بعض السموم الفطرية لها القابلية على الارتباط بمواقع ولاسيما في الغشاء الخلوي للكائن الحي ومواقع الارتباط هذه هي β-D-glucose التي تعد المكون الاساس للغشاء الخلوي ، اذ تعمل السموم على تخريب الغشاء وتجعله فاقداً لقوامه الاصلي مخترقة اياه وصولا الى النواة مسببة تأثيرات على المستوى الجيني .

وأظهرت نتائج الفحص النسجي للأعضاء المدروسة سلامة أعضاء الكبد والكلية والأمعاء الدقيقة والطحال من أية آثار سمية لمادة زيت الزيتون مما يدل على أنها مادة أمينة الإستخدام . وكما موضح في الصور(7-4 و8-4 و9-4 و10-4).

كما أظهرت مادة زيت الزيتون فعالية عالية في حماية أنسجة الأعضاء المدروسة من التأثيرات السمية لسم DON إذ لم تظهر أية تغايرات نسجية في أعضاء الكبد والكلية والأمعاء والطحال.وكما موضح في الصور(11-4 و12-4 و13-4 و14-4) .

وقد تعود فعالية مادة زيت الزيتون في حماية الأعضاء من الآثار السمية لسم DON إلى إحتواء مادة زيت الزيتون على الفيتامينات والتي تعمل على إختزال سمية الكثير من السموم الفطرية من خلال عملها كمضادات للأكسدة .فضلاً عن كون مادة زيت الزيتون غنية بالعديد من العناصر الغذائية والتي تعمل على زيادة الفعاليات الحيوية بالجسم ومنها زيادة فعالية الجهاز المناعي والذي يعمل على إختزال سمية العديد من السموم البيئية المختلفة.

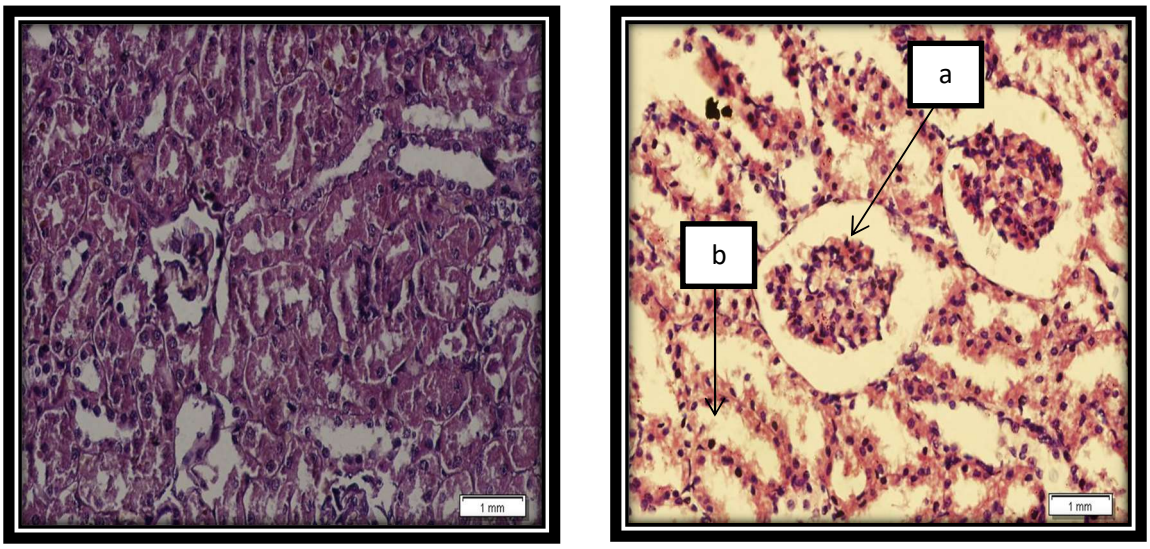


B **A**

A = معاملة السيطرة B= معاملة زيت الزيتون

a = التهاب خلوي مزمن b= انحلال الخلايا الكبدية

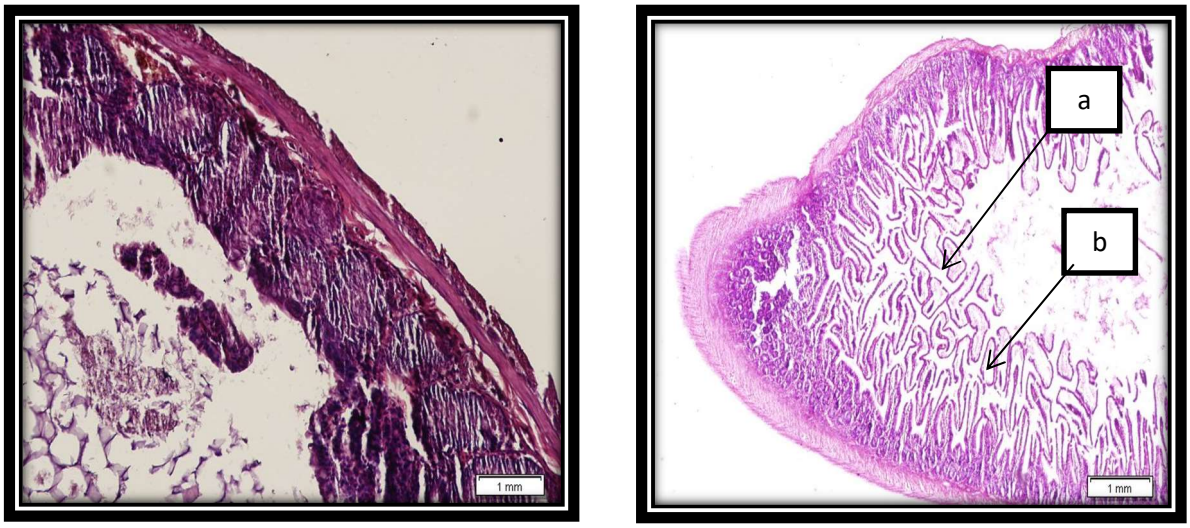
صورة(3-4) تأثير سم DONفي كبد حيوانات الجرذ الأبيض (قوةالتكبير40X) B= معاملة السم .



A B

صورة(4-4) تأثير معاملة سم DONفي كلى حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبير A(40X = معاملة السيطرة B= معاملة السم

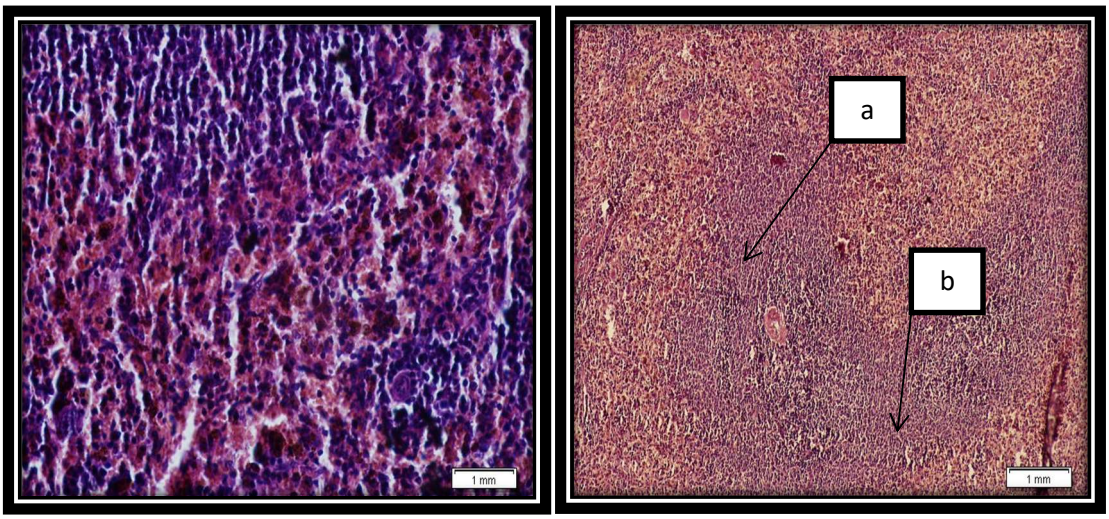
a= انحلال الكبيبة b= انحلال النبيبات



A B

صورة(5-4) تأثيرمعاملة سمDONفي الأمعاء الدقيقة لحيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبير A(40X = معاملة السيطرة B= معاملة السم .

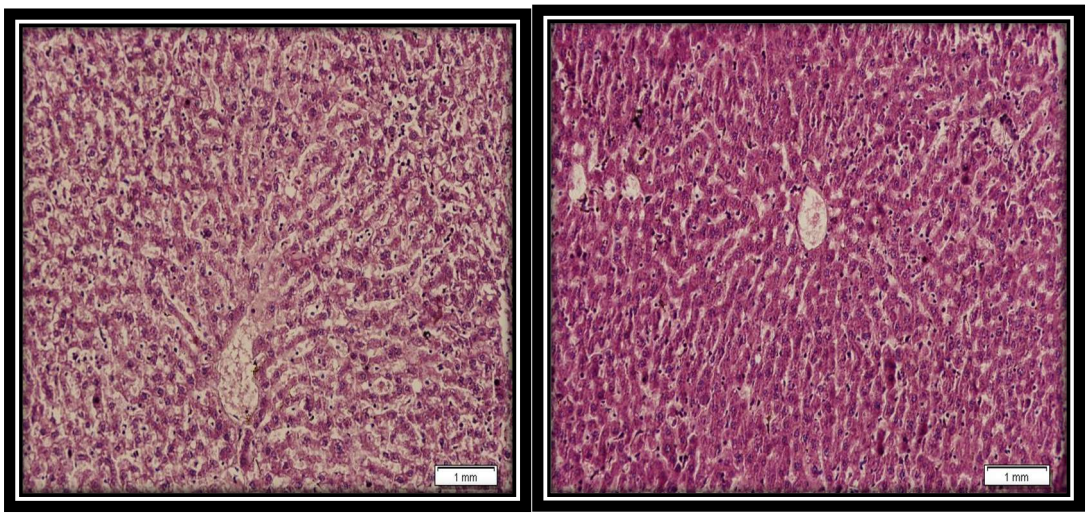
a= ضمور الزغابات b= حدوث التهابات



B A

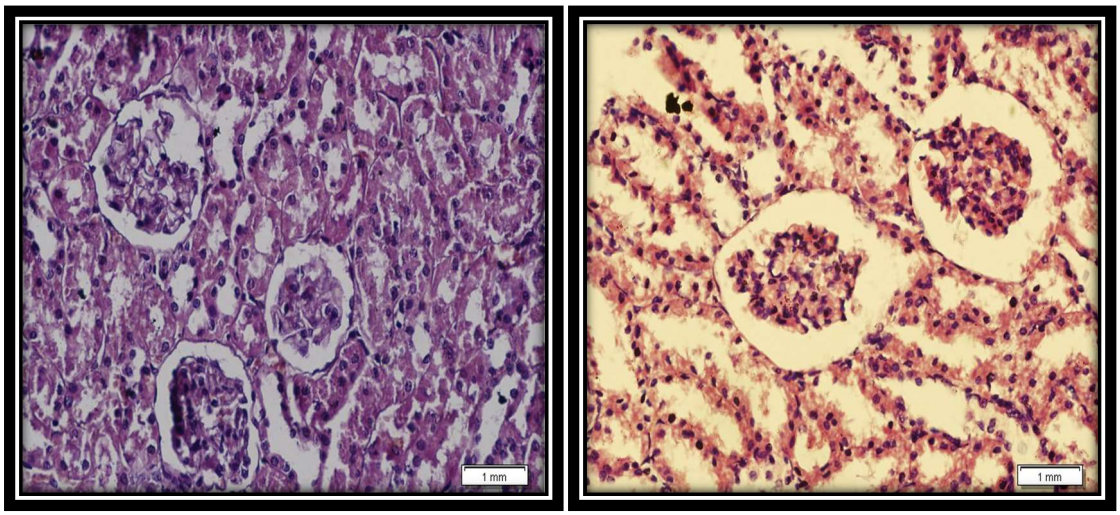
صورة(٦-٤) تأثير معاملة سم DONفي الطحال لحيوانات الجرذ الأبيض (قوةالتكبيرA(40X =
معاملة السيطرة B= معاملة السم

a= احتقان دموي b= نزف دموي



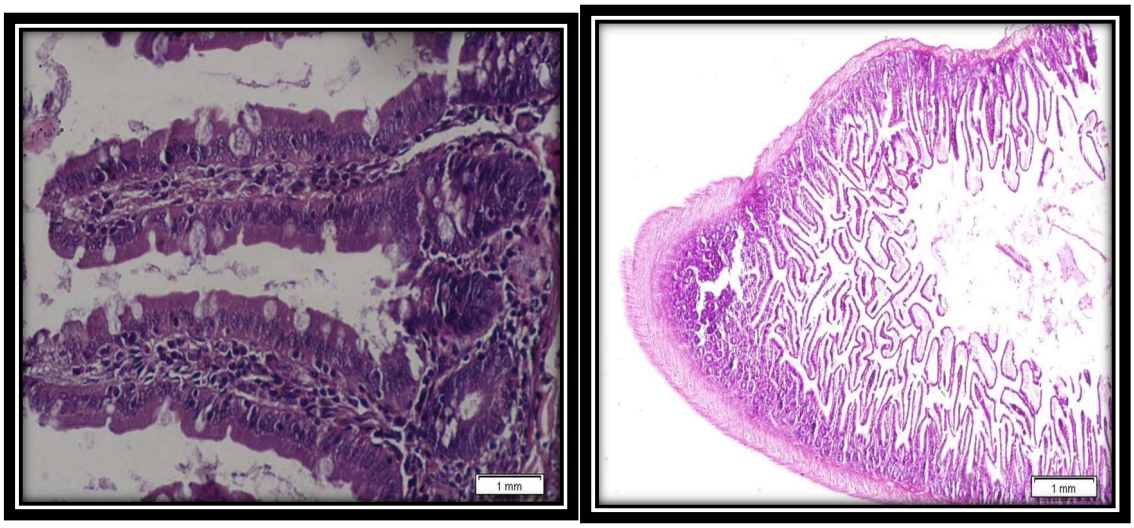
B A

صورة(٧-٤) مقطع في كبد معامل بزيت الزيتون (قوةالتكبيرA(40X = معاملة السيطرة B= معاملة زيت الزيتون



A B

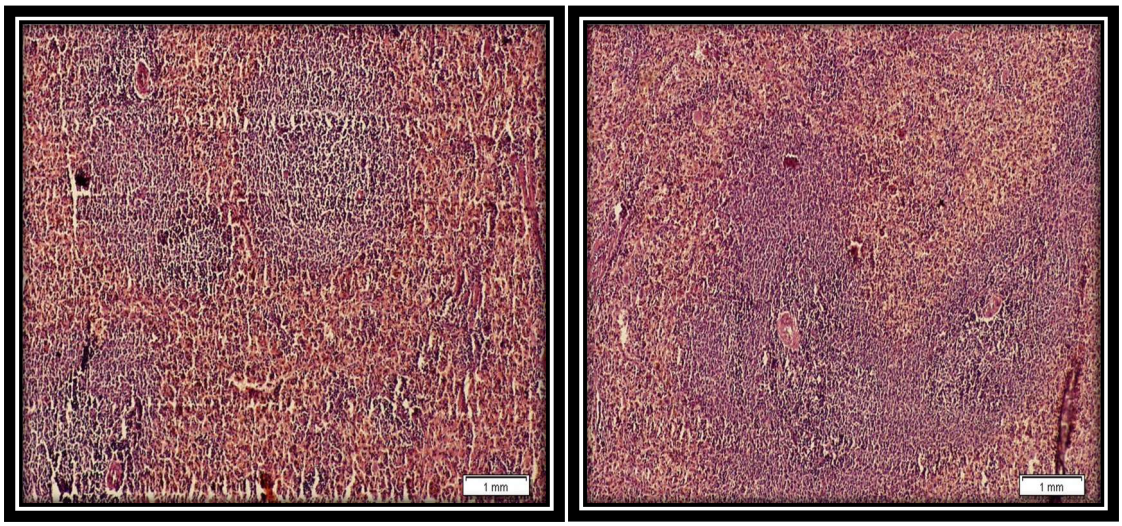
صورة(٤-٨) مقطع في كلى معاملة بزيت الزيتون (قوةالتكبير40X)A= معاملة السيطرة B= معاملة زيت الزيتون .



A B

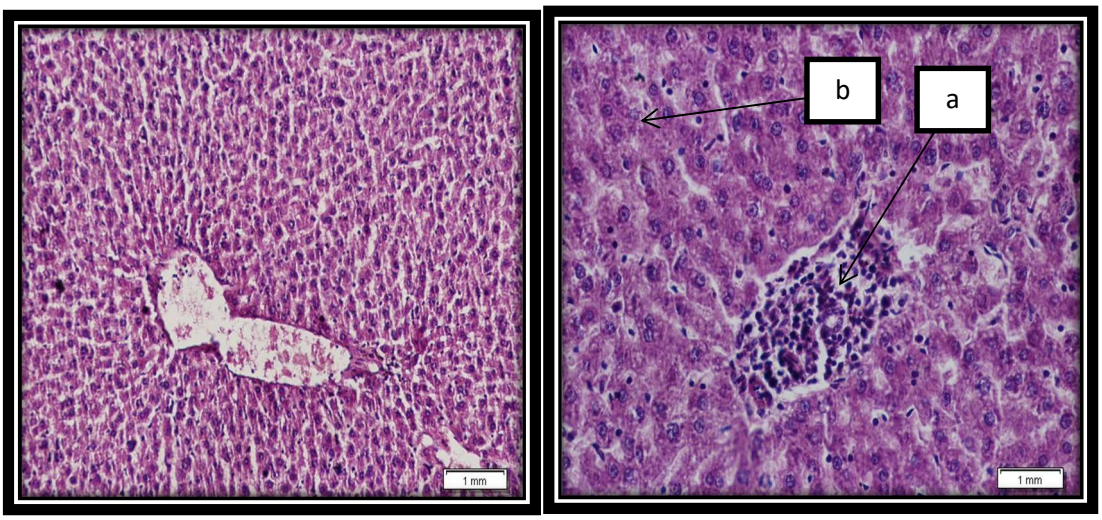
صورة(4-9) مقطع في أمعاء دقيقة معاملة بزيت الزيتون(قوةالتكبير X40) A = معاملة السيطرة

B= معاملة زيت الزيتون



B A

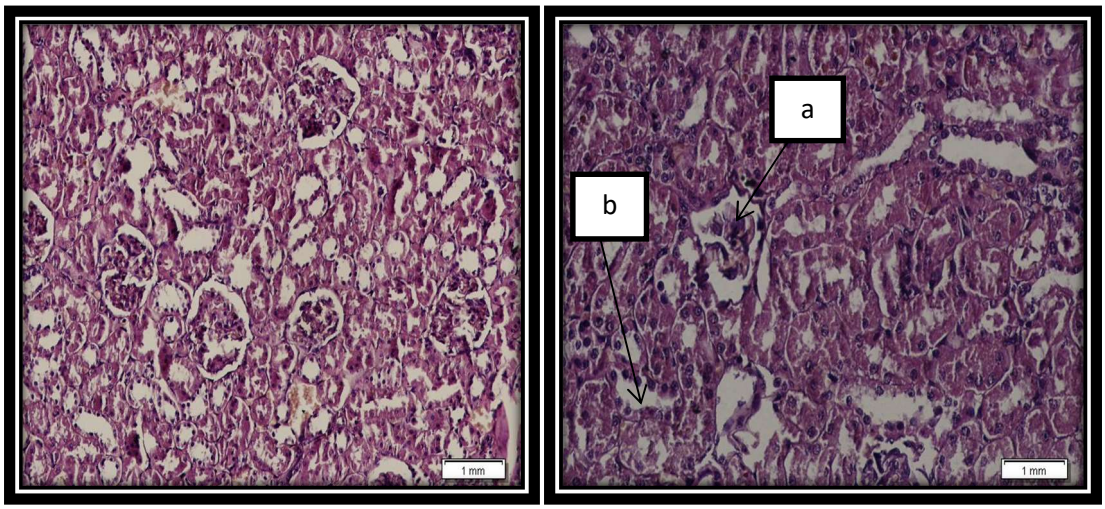
صورة(4-10) مقطع في الطحال معامل بزيت الزيتون (قوةالتكبيرA(40X = معاملة السيطرة B= معاملة زيت الزيتون



B A

صورة(4-11) تأثير معاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسمDON في كبد حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبيرA(40X = معاملة السمB= معاملة السم و زيت الزيتون

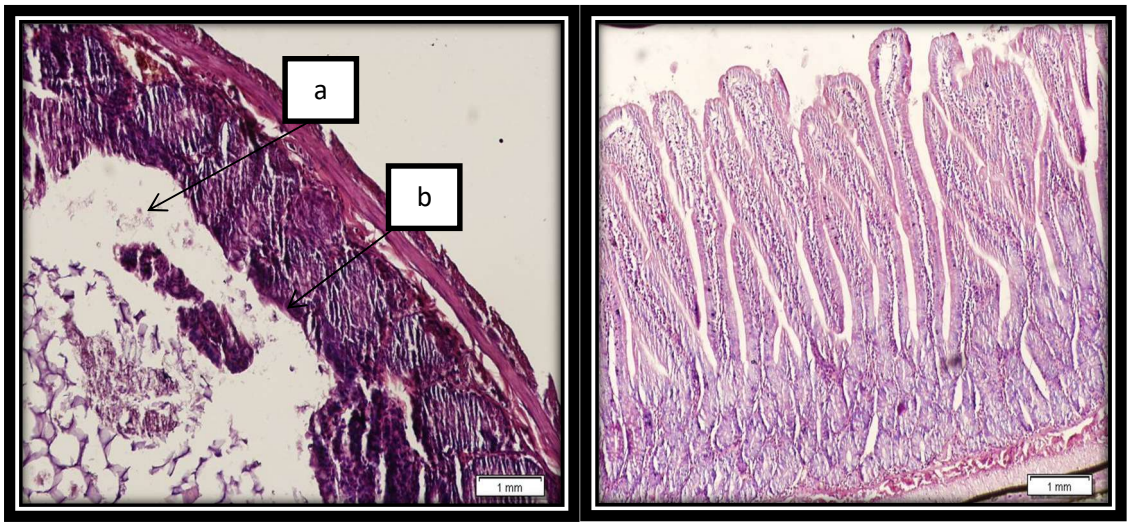
a= التهاب خلوي مزمن b= انحلال الخلايا الكبدية



B **A**

صورة(٤-١٢) تأثير معاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسمDON في كلى حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبيرA(40X = معاملة السم B= معاملة السم و زيت الزيتون.

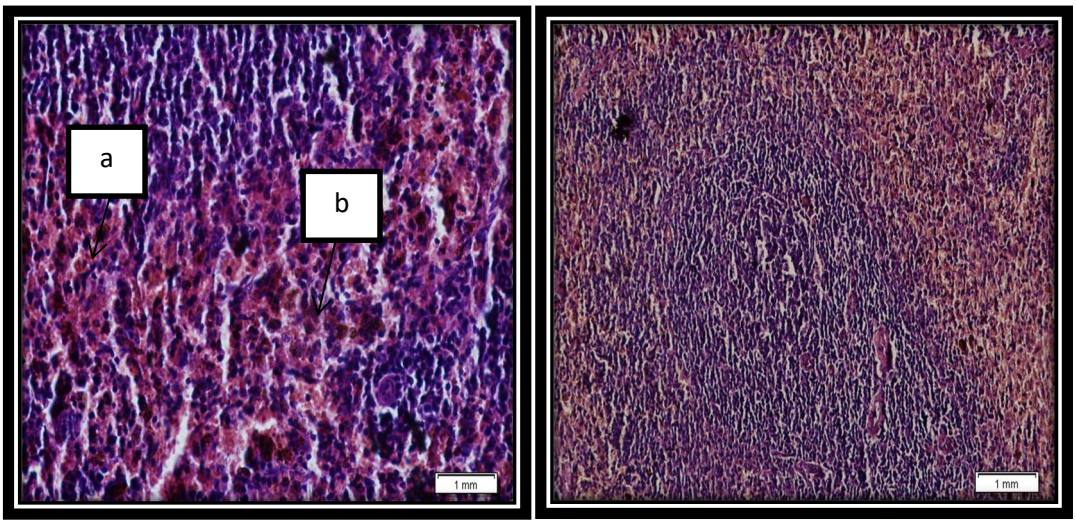
a= انحلال الكبيبة b= انحلال النبيبات



A **B**

صورة(٤-١٣)) تأثير معاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسمDON في أمعاء حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبيرA(40X = معاملة السم B= معاملة السم و زيت الزيتون.

a= ضمور الزغابات b= حدوث التهابات



A B

صورة(١٤-4)) تأثير معاملة زيت الزيتون في الفعالية السمية لسمDON في طحال حيوانات الجرذ الأبيض(قوةالتكبير40X)A = معاملة السم B= معاملة السم و زيت الزيتون.

a= احتقان دموي b= نزف دموي

8-4 تجربة الكشف عن سم DON في دم بعض أفراد المجتمع في محافظة كربلاء

أظهرت نتائج تجربة الكشف عن سم الـ DON في دم بعض أفراد محافظة كربلاء بوجود السم لدى فرد واحد من اصل 50 فرد أي بنسبة مئوية وصلت إلى 2%، وكانت هذه العينة تابعة للعينات التي أُخذت من أطراف المحافظة وبعمر 48 سنة .وتعلل نتائج وجود السم في بعض الافراد إلى اعتماد هولاء الافراد على الوجبات التي مصدرها الرئيسي الحبوب الملوثة بالسم مثل حبوب الذرة والحنطة والشعير فقدأكد Ostry وآخرون(2000) على وجود سمDON في الحنطة والطحين والنخالة وفي جميع المنتجات المصنوعة من الحنطة الملوثة به .أولعله تناولوا المنتجات الحيوانية كالحوم أوالحليب والتي سبق وان تغذت هذه الحيوانات على اعلاف ملوثة بالسم ، وكذلك ان عمر الفرد الذي وجد السم في دمه كان متوسط العمر فظهر السم نتيجة الفعل التراكمي للسموم الفطرية بمرور الزمن .أما نتائج عدم وجود السم في بقية الأفراد فلعله موجود لكن بمستويات قليلة جداً لا تستطيع تقانة TLC الكشف عنة باعتبارها قليلة التحسس للمقادير الواطئة جداً اذا ماقورنت بتقانات مثل كروموتوغافي السائل عالية الأداء(HPLC) و كروموتوكراي الغاز والسائل (GC) . وكذلك كانت أعمارمعظم الأفراد للعينات المدروسة تتراوح بين 15-39 سنة وهذه الفئة العمرية يكون الجهاز المناعي لديهم نشيط وفعال في معادلة السموم فضلاً عن إمكانية أن تكون الأغذية في محافظة كربلاء قليلة التلوث بهذا السم .

كما تم ملاحظة ان الفرد الذي وجد السم في دمه يعاني من بعض الإلتهابات في الكلية والم في المعدة والأمعاء وكذلك يعاني من الضعف البدني .وهذا يتفق مع العديد من الدراسات فقد أشار Luo (1988)أن التعرض الفموي لسم DON يؤدي إلى التسمم المعوي الذي يبدأ بتقيء وغثيان وآلام في البطن وصداع ودوار وحمى وبعدها يصاب بإسهال حاد .كماأشار Wildو Hall (1996)بأن التأثير التراكمي أوما يسمى السمية المزمنة لسم DON يسبب أمراض خطيرة مثل سرطان المريء وسرطان الكبد وسرطان

المعدة وبعض الأمراض الأخرى مثل التهاب المفاصل .وأشارMarescaوآخرون(2002) بأن سم DON يؤثر في امتصاص مختلف أنواع المغذيات والتي تتضمن السكريات والأحماض الأمينية واللبيـــدات وبالتالي عدم الإستفادة من الغذاء وحصول حالة من الضعف البدني .

جدول (٦-٤) الكشف عن تواجد سم DON في بعض أفراد محافظة كربلاء

ت	الفئة العمرية(سنة)	عدد الأفراد	عدد الأفراد الذين وُجد فيهم سم DON
1	39 - 15	35	0
2	50 – 40	15	1

الاستنتاجات والتوصيات

CONCLUSIONS & RECOMMENDATIONS

5-1الاستنتاجات Conclusions

١. **كانت جميع العزلات المنتجة لسم** DON **تعود للنوع** *F. graminearum*.
٢. أثبتت الدراسة أن فطر *F. graminearum* يستطيع النمو بمدى واسع من الرقم الهيدروجيني يتراوح بين 6 - 12 فضلاً عن تحمله مستويات ملحية تتراوح بين 1–4 %.
٣. **كان لمادة زيت الزيتون دور فعال في المحافظة على سلامة النظم الحيوية لحيوانات الجرذ الأبيض من الآثار السامة لسم** (DON) Deoxynevalenol.
٤. **أثبتت هذه الدراسة وجود سم** Deoxynevalenol**في دم أحد أفراد المجتمع الكربلائي وهذا دليل على وجود تلوث غذائي بسم** DON **في هذه المحافظة .**

2-5 التوصيات Recommendations

١- الكشف عن مشتقات السم الكشف عن مشتقات السم DON في دم الافراد قيد الاختبار

٢- إنشاء مختبرات في محافظات القطر متخصصة بفحص السموم الفطرية في الأغذية المستوردة والمحلية .

٣- نشر الوعي بين أفراد المجتمع على أهمية تناول الأغذية الطبيعية ومنها زيت الزيتون والتي أثبتت هذه الدراسة فعاليته في اختزال سمية سم DON.

٤- ضرورة إجراء بحوث مسحية عن مديات التلوث الغذائي بالسموم الفطرية وتحديد مستويات السموم الأساسية ومنها سم DON في دماء أفراد المجتمع ومن ثم العمل الحثيث على إيجاد الوسائل الفعالة لتقليل التلوث الغذائي بالسموم الفطرية .

٥-إجراء دراسات كيميائية لمعرفة الألية التي يعمل بها زيت الزيتون في اختزال الاثار السمية للسموم الفطرية

المصادر

REFERENCES

المصادر العربية

إبراهيم ، إسماعيل خليل و الجبوري ، كركز محمد ثلج . (1998) . السموم الفطرية آثارها ومخاطرها . مركز ابداء للابحاث الزراعية . الطبعة الاولى .دارالكتب و الوثائق - بغداد، ٣٤٣ صفحة

أبو شبع , رائد علي حسين .(2003). دورالتاثير السمي للأفلاتوكسينات التي يفرزها*Aspergillusflavus* و*Asperillusniger*على بعض انسجة الفار الابيضوامكانية حماية حاصل الذرة الصفراء من الاصابة بهما . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة الكوفة

الأسودي ، محمد حميد ياسين . (2002). **التهجين التبادلي وتقدير المعالم الوراثية والارتباطات الوراثية والمظهرية بين الصفات لسلالات نقية من الذرة الصفراء. اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة ، جامعة بغداد.**

البلداوي ، منير سعيد محسن. (2007). **التأثير الفردي والمشترك لسمي الاوكراAوالافلاB1 في فروج اللحم وامكانية خفضهما باستعمال عوامل نباتية وكيميائية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة ، جامعة بغداد.**

الحدراوي,سعاد وحيد كاظم .(2011).توصيف الاحياء المجهريه الملوثه لبعض الاغذيه الجافه في الاسواق المحليه ودراسة اثارها السميه وامكانية السيطرة عليها .اطروحة دكتوراه_كليةالعلوم_جامعة الكوفه.١٢٦صفحة.

الحديثي ، عدي نجم. (2005). **تأثير نوعية مياه الري ومغنطتها ومستويات السماد البوتاسي في بعض صفات التربة الكيميائية ونمو وحاصل الذرة الصفراء . أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة ، جامعة بغداد.١٠٥ صفحة.**

الحساوي , غانم سعد الله وباقر عبد خلف الجبوري .(1982). **الادغال وطرق مكافحتها . دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل . ١٩٥ صفحة .**

حسين ، حليمة زغير . (2000). **استعمال اليوريا في مقاومة فطريات مابعد الجني وسمومها على الذرة الصفراء المخزونة. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة ، جامعة بغداد.**

الحميري ، ياسر ناصر حسين. (2007). **التحري عن وجود السم** Deoxynivalenol (DON) **في حبوب الحنطة والذرة الصفراء وامكانية اختزاله. رسالة ماجستير. كلية الزراعة ، جامعة بغداد.٩٢ صفحة.**

الخلخالي ،هدى جميل باقر.(2005).تقييم كفاءة بعض المعاملات الكيمياوية والحيوية في حماية حاصل البطاطا من الاصابة بالفطر*Fusariumsolani*وتاثير راشحه في بعض المعايير الفسلجية والكيموحيوية للدم في ذكور الجرذان .رسالة ماجستير- كلية العلوم- جامعة الكوفة. **٩٠ صفحة.**

داود , خلف صوفي , اليس كريكود , رشيد محجوب مصلح , طالب كاظم المفرجي , ضحى سعد صالح , مها رؤوف السعد , نظام كاظم الحيدري , هدى صالح مهدي عماش . (1991). علم الاحياء المجهرية – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – دار الحكمة للطباعة والنشر – جامعة الموصل . ٧٩٦ صفحة .

الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله. (2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. الطبعة الثانية. كلية الزراعة. جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق. ٤٨٧ صفحة.

الساعدي ، هادي علوان محمد شكير.(2004). **تقويم كيميائي واحيائي لفعالية اليوريا في معالجة كسبتي زهرة الشمس والقطن الملوثة بالافلاتوكسين**B1. **اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.**

السعد، مها رؤوف.(1990). فسلجة الأحياء المجهرية. الطبعة الثانية. جامعة بغداد، ،٥٠٠ صفحة.

السعدي،علي حمود ؛ بريسم ،باسم كاظم ؛الطريحي ، منى نجاح .(2013).النباتات الطبية .عمان :دار الرضوان للنشر.الطبعة الأُولى . ٤٧٩ صفحة.

سعيد، كامل كرار. (1985). وجود الافلاتوكسنوالزيرالينوس في بعض الحبوب ومنتجاتها الغذائية فيبعض المحافظات العراقية. المجلد العراقية للعلوم الزراعية (زانكو)، المجلد ٣، العدد ٢: ١٦٥- ١٧٧.

سلومي ، علي كريم. (2007). **الكشف عن سم الزيرالينون**Zearalenone **في الذرة الصفراء واختزال سميته . رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. ٨٤صفحة.**

شريف،فياض محمد.(2012).فسلجة الفطريات.الذاكرة للنشر والتوزيع ،الطبعة الاولى،٣٩٨ص.

شعبان ، عواد ونزار مصطفى الملاح . (1993) . المبيدات . دار الكتب للطباعة والنشر ـ جامعة الموصل . ٥٢٠ صفحة

شهاب ،احمد عباس (1998) . **تلوث حاصل الذره الصفراء بالسم فيومونيزين**B1 **المنتج من قبل الفطر** *Fusariummoniliforme* . **رسالة ماجستير . كلية الزراعة – جامعة بغداد.**

العاشور ، علي جابر . (2009).تقييم كفاءة بعض العزلات المحلية التابعة للجنس *Bacillus* في السيطرة على بعض الفطريات الممرضة لنباتي الحنطة و الباميا . أطروحة دكتوراه . كلية العلوم. جامعة الكوفة.١٧٧صفحة.

عامر، نبيل ؛جرار، عادل أحمد ؛ الطريفي ، محمد إبراهيم والخطيب ، فيصل عبد الفتاح .(2010).الكيمياء الحيوية. دار الفكر،عمان .الطبعة الرابعة .٤٤٤ صفحة.

عبد الحميد ، عبد الحميد محمد (2000) . الفطريات والسموم الفطرية ، كلية الزراعة – جامعة المنصورة .٣١٣ صفحة.

عبد الرزاق ، أماني عبد الوهاب .(1989) . المحتوى الفطري ، ومدى وجود السم المقيء deoxynivalenol في الحنطة المحلية والمستوردة. رسالة ماجستير .قسم علوم الحياة- كلية العلوم – جامعة بغداد .

عفيفي، فتحي عبد العزيز.(2000) .أُسس علم السموم .دار الفجر للنشر، القاهرة ،مصر, الطبعة الأُولى . ٦٥٨ صفحة.

القيسي،إيمان عباس عبود.(2010).إستعمال بعض المواد الكيميائية والمساحيق النباتية والأحيائية للحد من تلوث العلائق بسم الزيرالينونZearalenone ودراسة أثر التداخل مع سم الأفلاB1 في طيور السمان .رسالة ماجستير.كلي الزراعة ،جامعة بغداد.١٠٩صفحة.

كاظم،سارة كريم.(2011).دراسة بعض الخصائص الحيوية والجزيئية للفطر *Fusarium spp.* وتأثير بعض الظروف البيئية في نموه وتكاثره مختبريا .رسالة ماجستير.كلية العلوم ،جامعة بابل .١٤٨صفحة.

مجيد ، مجيد علي.(1997). **دراسة تأثير اليوريا على الفطر** Aspergillusflavus**والافلاتوكسين** B1 **في البلوكات العلفية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة ، جامعة بغداد.**

مرجان ، علي فاضل رزوقي.(2006). **المكافحة المتكاملة للمسببات الفطرية المرافقة لبذور الذرة الصفراء. رسالة ماجستير. كلية الزراعة ، جامعة بغداد.١٠٤صفحة.**

المصلح , رشيد محجوب .(1990). **الاحياء المجهرية في الاغذية , الطبعة الثانية . مطابع التعليم العالي في الموصل . ٥٥٤ صفحة .**

مغلس ، محمود احمد. (2004). **الكشف عن فيومنزين** B1 **وامكانية ازالة سميته في حبوب الذرة الصفراء ، تأثيراته الحيوية في الطيور الداجنة. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة ، جامعة بغداد.٨٠صفحة.**

ميخائيل، سمير وبيدر،تركي. (1982).أمراض البذور. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة

نخيلان ،عبد العزيز مجيد.(2011) .السموم الفطرية. عمان ،دار دجلة ،الطبعة الأُولى .٣٢٠صفحة

نعمة،عقيل عبد.(2011).التحري عن بعض الفطريات المنتجة للأفلاتوكسينات في بعض الأغذية ومحاولة تقليل أضرارها بإستخدام المستخلصات النباتية والفيتامينات .رسالة ماجستير،كليةالتربية.جامعة كربلاء. ٩٦ صفحة.

هيكل ،محمدالسيد وعمر، عبد الله عبد الرزاق .(1988)**.النباتات الطبية ،كيمياؤها، انتاجها ، فوائدها. منشاة المعارف . الاسكندرية. ٤٩٠ صفحة.**

الورشان ، سالم حسن صالح (1999) **. استعمال بعض الممصات الكيميائيه للحد من تلوث علائق الطيور الداجنه بالافلاتوكسين . رسالة ماجستير مقدمة إلى كلية الزراعة – جامعة بغداد .**

المصادر الأجنبية

Abass, H.K., C. J.Mirocha, and W. T. shier. (1984) . Mycotoxinsproduced from fungi; isolated from foodstuffs and soil. Comparison of toxicity in fibroblasis and oral feeding tests. Appl. Envir. Micro. 48 : 654-661 .

Al-Julaif, M. Z. and A. M.Al-Falih. (2001). Detection of trichothecenes in animal feeds and foods teffs during the year 1997 to 2000 in Saudi Arabia . Journal. food. Protection 67 : 1603-1606 .

Almeida , A.P., B. Correa, M.B. Mallozzi , E.Sawazaki , L.M. V. Soares. (2000). Mycoflora and aflatoxinfumonisin production by fungal isolates from freshly harvested corn hybrids. Brazilian Journal of Microbiology. 31 : 321-326.

Bai, J.K.; Yin, Z. and Hu, J.C. (1988). A study on the pathogen of maize stalk rotin northeast China. *ActaPhytophylactica -Sinica,* 15: 93-98.

Bankole, S.A. and A.Adebanjo.(2003). Mycotoxins in food in West Africa :Current situation and possibilities of controlling it. African Journal of Biotechnology.2(9):254-263.

Belgin, M. ; Ozlem, K. and Halukcelik, T. (2004). Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA .Food Control.J.15(1):45-49

Bentley, A.R.; Summerell, B.A. and Burgess, L.W. (2008). Sexual compatibility in *Fusarium pseudograminearum* (*Gibberellacoronicola*). *Mycol. Res.,* 112: 1101-1106.

Boonpasart, S., N. Kasetsuwan, V. Puangsricharern, LPariyakanok,andJittpoonkusol.(2002). Infections King Chulalongkorn Memorial Hospital: A-12-year retrospectivestudy of 391 cases. Journal of the Medical Associationof Thailand85(Suppl. 1): S217-S230. (1)

Booth , T. ; Gorrie , S. &Mabsin , T.M. (1988) . Life Strategies among fungal ; assemblages on *Salicornia europase*agg . Mycol. ; 80 : 176 - 191.

Booth, C. (1971). The Genus *Fusarium.* Common wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

Booth, C. (1977).*Fusarium* Laboratory Guide to The Identification of The Maijer Species. Common wealth Mycological institute, kew. surgery, England. 58 pp .

Bosch, U., C.J. Mirocha, and Y.Wen. (1992). Production of Zearalenone, Moniliformin and Trichothecenes in intact sugar beets under laboratory conditions. Mycopathologia (Netherlands). 119(3) p: 167-173 .

Bulock , J.(1984). Useful metabolites of *Fusarium*,.In the Applied biology of *Fusarium (* 214-228), Moss, M.O. and Smith,J.E.(eds.) UK. Cambridge University Press Combridge

Camphell, H., T. M.CHOO, B. Vigier, and h.L.Under. 2002. comparison of mycotoxin profiles among cereal samples form eastern Canada. Canadian journal of Botany 80 : 526-312 .

Cast,R .h. (2003). Mycotoxins: risks in plant , animal, and human systems . (Council for Agricultural Science and Technology) .Task Force Report, Ames low ,USA,No. 139, PP:45-60.

Chavan, S.S. (2007). Studies on fungal diseases of patchouli with special reference of wilt caused by *Fusariumsolani*(Mart.). Sacc. M. Sc. thesis. University of Agricultural Sciences, Dharwad. College of Agriculture, Dharwad. pp 98.

Chelkowski, J., K. Trojanowska, and M. Wiewiorowska. (1983). Mycotoxin in cereal grain port. VIII. Microbiology evaluation of cereal grain quality connected with mycotoxin occurrence. Die Nahrung.. 27(4): 311-318.

Christensen , C . M . (1965) . Fungi in cereal grains and their products in Food stuffs . Press . Cambridge . Massachusetts .

Ciegler , A ., Burmeister , H. R., Vesconder , R . F . D and Hesseltine , C . W., (1981) . Mycotoxins and Nitoso compound : Environmental risks , (shauk , R . C ., Ed.) . CRC press Vol 1:1 – 51

Cole, R. J., R.H.Cox. (1981). The Trichothecenes in : cole, R. J., Cox, R. H., Handbook of Toxic Fungal Metabolites . New York, Ny : Academic press : 152-263 .

D'Mello ,J.P.F., A.M.C. MacDonald, D. Postel, T.P. Dijksma, A. Dujardin, and C.M.Placinta. (1998). Pesticide use and

mycotoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus*phytopathogens. Eur. J. Plant Pathol., 104: 741–751.

Deijns, A.J., H.P. Egmond, G.A.J. Speijers, and H.V.Loveren.(1997). Immunotoxicity van natuurlijketoxinen. Eenliteratuuroverzicht. RijksInstituutvoorVolksgezondheid en Milieu, Bilthoven. pp. 16-17.

D'Mello, J.P.F.(1991). Antigenic proteins in Toxic substances in crop plants. Cambridge, UK, Royal Society of Chemistry. p. 107-125.

Doyle, M.E. (1997).*Fusarium*mycotoxin Food Res .Ins., UW. Madison. (FRIUW) .

Eaton,M.G. and Gallagher,G.F.(1994). Proprieties of aflatoxin . FAO. Food and nutrition , 15: 12-13

Ehling, G., A. Cockburn, P. Snowdon, and H. Buchhaus.(1997). The significance of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) for human and animal health. Cereal Research Commun .25:443-447.

Ehrlich,K.C and K.W.Daigle.(1987). Protein synthesis inhibition by 8-oxo-12,13- epoxytrichothecenes. Biochem. Biophys. Acta, 923: 206–213.

Ember, L. R.1984. Yellow rain. Chemical and Engineering New. 62(2) 8-34.

Eriksend, G.S and J.Alexander. (1998).*Fusarium* toxins in cereals - a risk assessment. Nordic Council of Ministers; pp 502.

Evans, C. K., R. M. Hunger, and W. C. siegerist. (1993). Enhanced production of pyrenophoratritici-repentis conidial suspensions. Plant Dis. 77 : 981-984.

Evans, C. K., W. Xei, R.D.Macky, and C. J. Mirocha. (2000). Biosynthesis of deoxynivalenol in spikelete of berley inoculated with macroconidia of *Fusarium graminearum*, Plant, Dis. 84 : 654-660.

Fakhoury,A.M.;C.P.Woloshunk.(1999). Amyl,the α-amylasegene of *Aspergillus flavus*: involvement in Aflatoxinbiosynthesis in maize kernels. Phytopathology 89: 908-914.

FAO (Food and Agriculture organization).2004. Worldwide Regulations for Mycotoxins2003. A compendium. FAO food and Nutrition. Rome Italy. pp 81 .

FAO (Food and Agriculture organization).(1997). Worldwide Regulations for Mycotoxins 1995 . compendium. FAO food and Nutrition . Rome Italy . pp 64.

Fusarium spp. Causing wilt disease in psidiumguajava L. In India. *Plant protection*, 50.

Garrido,N.S.;Iha,M.H.Sautos,M.R. and Duarte,R.M.(2003). Occurrence of aflatoxins M1and M2 in milk commercializedin Ribeirao Preto – SP , Brazil. Food Addit.Contam.20:30-70 .

Gendloff,E,H;J.J.Pestka;S.P,Swanson and L.P,Hart .(1984). Deyection of T2_toxin in Fusariumsporotrichioides infected corn by enzyme linked immunonosorbent assay. .Applied Environmental Microbiology .47(5):1161-1163

Gerhard ,A., and M. Rudolf.(2005). Engineered Ribosomal protein limits plant Resistance to my cotoxin. Information systems for Biotechnology .pp 329-340 .

Grabarkiewicz, S. J., M. Kostecki, P. Golinski, and I.kiecaNa.(2001). Fusario toxins in kernels if winter wheat cultivars field samples collected during 1993 in Poland. Nahrung. 45 : 28-30 .

Gupta, V.K., Misra, A.K. and Gaur, R.K. (2010). Growth characteristics of

Gwinner, J., R. Harnisch, O. Much.(1996). Conservation of grains après-recolte. GTZ, Eschborn, Germany. p. 368. http://www. fao.org/inpho/vlibrary/move_rep/xo298p/htm_34k.

Haig, A. M. (1982). Chemical warfare in southeast Asia and Afghanistan. Washington, DC : US Government printing office : March 22. 1982. Report to the cougress .

Hestbjerg, H., G.Felding, and S.Elmholt. (2002).*Fusarium culmorum* infection of barley seedlings : correlation between aggressiveness and Deoxynivalenol control. Journal of phytopathology-phytopathologischzeitschrift 150 : 308-312 .

Hoch'steiner, W. and M.schuh. (2001). occurrence of the *Fusarium* toxins Deoxynivalenol and Zearalenon in Austrian feed stuffs in

the period of 1995 to 1999 . Deutsche Tierarztlichewochenschrift . 108 : 19-23 .

Hoerr, F. J., W. W.Carlton, J., Tuite, R. F., Vesonder, , and W. K., Rohwedder(1982). Experimental Trichothecenemycotoxins produced in broiler chickens by *Fusariumsporotrichiella*Varsporotrichioides. A vian pathology. 3: 385-405 .

Hoogenboom L.A.P., J. Tulliez, J. P. Gautier, R.D. Coker , J.P. Melcion, M.J. Nagler, H.G. Polman and L. J.Delort.(2001). Absorption ,distribution and excretion of Aflatoxin-derived ammoniation products in lactating cows . Food. Contam., 18 :47-58.

Hsu. I.C., E.B. Smaliey, W.E. Strong. (1972) . Identification of T-2Toxin in moldy corn associated with aletholtoxicosisindairycottle. Appl. Microbiol. 24 : 685.

Hsueh, C.C., R.I. Liu, and M.S.Freund .(1999). Indirect electrochemical detection of type-B Trichothecenemycotoxins. Anal chem. 71: 4075-4080 .

Humason, G.L.(1967) " Animal tissue techniques " . 2nded, Freeman, W.H and Company U.S.A.

Hussein,H.S.andBrasel,J.M.(2001).Toxicity,Metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals .Toxicolgy.15:101-134

Jawetz,E.; Melnik, J.L.; Adeberg, E.A. ; Brook, G.F.; Butel, J.S. and Morse ,S.A. (2004). Medical Microbiology 24th. Ed.Appleten and lang New York.Connctical.pp:45-60.

Jelinek, C. F., A.E. pohland, and G.E.Wood .(1989). Worldwide occurrence of mycotoxin in foods and feeds an update . J.Assoc .Chem .72 :223-230 .

Jhamaria, S.L. (1972). Nutritional requirement of *Fusariumoxysporum*f. sp. *niveum. Indian Phytopathology,* 25: 29-32.

Jouany, J.P.; Yiannikouris, A.andBertin, G. (2005). The chemical bonds between mycotoxins and cell wall components of animals have been identified. Research centre of clermont- Theix. France. PP:78-90.

Juber, K.S. (1982). Studies on some seed – borne diseases of Dianthus and Gypsophila. M.Sc. Thesis, University of Manchester,158 pp.

Krska, R. and R.Josephs . (2001). The state of the art in the analysis of estro-genic mycotoxin in cereals. Fresenius journal of Analytical chem. 369 : 469-476 .

Lacey, j., G. L. Bateman, and C. J.Mirocha. (1999). Effects of infection time and moisture on development of ear blight and Deoxynivalenol production by *Fusarium*spp. In wheat. Ann. Appl. Biol. 134 : 277-283 .

Lacycostello , B.P.(2003). A prototype system for the early detection of microbially linked spoiloge in stored wheat grain . Measurement science and technology .14 : 397-409 .

Lanza, G.M.,W. wash burn and R.D. wxatt. (1980). stroin Variation in hematological response science . 9: 2686 – 2691 .

Lepsch_vGleissenthal,J;Dietrich,R;Martlbauer,E;Suss A ,andTerplan ,G .1989.A surveryon the occurrence of *Fusarium*mycotoxin in Bavarian cereal from the 1987 harvest .Z LebensmUnters ,Forsch.188;521_526.

Leslie, F.J. and Summerell, B.A. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. First edition. Oxford: Blackwell Publishing.

Lim, S.H.; Yun, S.H. and Lee, Y.W. (2001). Mating behavior, mycotoxin production, and vegetative compatibility of Gibberellafujikuroi species complex from sorghum in Korea. *Plant Pathol. J.*, 17: 276-280.

Luna, L.G.(1968) " Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology " . 3rded.USA.Mcgrew, HillBook.

Luo, X.Y.(1988). Outbreaks of moldy cereals poisoning in China. In: Issues in Food Safety, Washington DC: Toxicology Forum, Inc., pp. 56–63.

Mao, W., R.D. Lumsden, J.A. Lewis, and P.K, Hebbar .(1998) . Seed treatment using pre-infiltration and biocontrol agents to reduce

damping-off of corn caused by species of *Pythium* and *Fusarium*. Plant Dis. 82 :294–299.

Maraqa, A. ;AL-sharo'a, N. F. ;Farah, H. ;Elbjeirami, W. M. ; Shakya, A. K. &Sallal, A. J. (2007) . Effect of Nigella sativa extract and oil on aflatoxin production by *Aspergillusflavus* . Turk . J. Biol., 31: 155-159.

Marasas,W.F.;Nelson,P.E. and Toussoun,T.A.(1986). Toxigenic *Fusarum* species : Identity and Mycotoxicology. the Pennsylvania state university press,university park.PP:122-135.

Maresca, M., R. Mahfoud, N.Garmy, and J.Fantini. (2002). The mycotoxinDeoxynivalevel in human intestinal epithial cells. Journal of Nutriation 132 : 2723-2731.

Martins, M. L., H. M.Martins. (2002). Infuence of water activity, temperature and incubation time on the simultaneous production of Deoxynivalenol and Zearalenonein corn (*Zea mays*) by *Fusariumgraminearum* .J. food chem.. 79 : 315-318 .

Miller, J.D. **(1994**) . Epidemiology of Fusarium ear diseases of cereals. In: Miller, J.D. and Trenholm H. L., eds, Mycotoxins in Grain—Compounds Other than Aflatoxin, St Paul, Minnesota: Eagan Press, pp. 19–36.

Miller,M.A.(1996). Regulatory aspects of Fumonisins with respect to animal feed. PP:363-368. InL.S.Jackson. J.W. Devries, and L.B.

Mirocha, C. J., R. A. Pawlosky , K. Chatterjee, S. Watson, W.Hayes. (1983). Analysis for *Fusarium* toxins in varioun samples implicated in biological warfare in southeast Asia. J Assoc off Anal chem . 66(6): 1485-1499 .

Moss, M.O. (2002). Mycotoxin Review- 2. *Fusarium.* Mycologist. 16 part. P:45-70.

Munkvold, G.P., R.L.Hellmich, and W.B. Showers. (1997). Reduced *Fusarium* ear rot and symptomless infection in kernels of maize genetically engineered for European corn borer resistance. Phytopathology 87: 1071-1077.

Nelson, G.H., C.M. Christensen, and C.J. mirocha. (1966). Proc. 70th Ann. Meeting U.S.Liverstock saint. Assoc., 1966. p.614.(cited by ciegler, et al., 1971).

Nelson, P.E.; Dignani, M.C. and Anaissie, E. J. (1994). Taxonomy, Biology, and Clinical aspects of *Fusarium*species. *Clin. Microbiol. Rev*., 7: 479- 504.

Nelson, P.E.; Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. (1983). *Fusarium*species: Anillustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park.

Olowokudejo, J. D. ;Kadiri, A. B. &Travih, V.A. (2008) . An Ethnobotanical survey of herbal markets and medicinal plants in lagos state of Nigeria . Ethnobotanical Leaflets., 12: 851-65 .

Omurtag,G,Z ,and Yazicioglu,D.(2001). Occurence of T2_toxin in processed cereals and pulses in Turkey determined by HPLC andTLC.Food.Addit.contam.18(9):844_849.

Ostry, V. and j. skarkova. (2000). Development of an HPLC method for the determent of Deoxynivalenol in cereal products. JPC. J. of planar chromatography Modem. TLC. 13 : 443-446 .

Overnes, G., T. Matre, T. sivertsen, H.J. Larsen, W. Langseth, L.J. Reitan, and J.H. Jansen.(1997). Effects of diets with graded levele of naturally Deoxynivalenol-contaminated oats on immune response in growing pigs. Journal of Veterinary medicine series A. Animal physiology, Pathology and Clinical Veterinary Medicine . 44: 539-550 .

Park, J.J., E.B. Smalley, and F. S. Chu.(1996). Natural occurrence of *Fusarium*Mycotoxin in field samples from the 1992 Wisconin corn crop Appl. Environ. Microbiol. 62: 1642-1648 .

Park,J,C;Zong,M,S ,and Chang,I,M.(1991).Survey of the presence of the *Fusarium*MycotoxinNivalenol ,Deoxynivalenal and T2_toxin in Korean cereal of the 1989 harvest .Food ,Addit.Contam.8(4):447_451.

Parry, D.W., P.Jenkinson, and L.McLeod. (1995) .*Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals: A Review. Plant Pathol. 44, 207–238.

PerkowskiJ,andBasinski T. (2002). Natural contamination of oat with groups Trichothecene mycotoxins in Poland. Food AdditContam. 19(5):478_482.

Perkowski, J.(1998). Distribution of Deoxynivalenol in bareley kernels infected by *Fusarium*.Myco. Res .42 : 81-83.

Peter, K. V. &Nirmal - Babu, K .(2004) . Introduction: in Peter, K. V**.** (2004). Handbook of Herbs and Spices . 2nd Volume ., Woodhead Publishing Ltd : 365 pp.

Pitt, J.I. and A.D.Hocking. (1997). Fungi and Food spoilage, Gaithersburg, Maryland: Aspen Publisher ,٢ nd Ed edition .London ,England: Blackie academic and professional .pp 593.

Piva , G., FP. F., Galvano , RD, A. Pietri , A. and Piva , RD. (1995). Detoxification methods of Aflatoxins . A review. Nutrition Research.

Poapolathp,A.;Sugita-Konishi,Y.;Phitsanu,Doxi,K.andKumagai,S. (2004). Placental and milk transmission of TrichotheceneMycotoxins, Nivalenol and Fusarenon-x,in mice. Toxicon44 (1):47-98.

Pokharrawal, Thakore, B.B.L. and Rawal, P. (2003). Investigation on *Fusarium*rot of sponge gourd fruits. *Journal of Mycology and Plant Pathology,* 33: 15-20.

Rabbani, N.; Dajwa, R. and Javaid, A. (2011). Influence of culturing conditions on growth and sporulation of Drechslerahawaiiensis, the foliar blight pathogen of Marsileaminuta L. African Journal *of*Biotechnology, 10: 1863-1872.

Rajasinghe, M. ;Abeywickrama, K. &Jayasekera, R. (2009). AflatoxigenicAspergillusflavus and aflatoxin formation in selected spices during storage . Trop. Agr. Res. Ext., 12(1):1- 6 .

Rheeder , J.P. ; W.F.O.Marasas and P.S. Van Wyk. (1990). Fungal association in corn kernel and effect on germination . Phytopathology 80 : 131-134.

Robledo MD, Marin S, and Ramos AJ.(2002). Natural contamination with Mycotoxins in forage maize and green coffee in Nayarit State (Mexico). Rev IberoamMicol 18(3):141_144

Robledo, R. (1991). Strategies for the prevention and contIn: Champ BR, Highley E, Hocking AD, Pitt JI. Eds. Fungi and mycotoxins in stored products. Proceedings of an international conference, Bangkok, Thailand, 23 - 26 April 1991: 39-46.

Rotter,B.A., D.B. Prelusky, J.J. Pestka . (1996). Toxicology of Deoxynivalenol (vomitoxin). J. Toxicol Environ Health .48:1-34.

Rumbeiha , W . K ., and Oehme . F . W . (1997) . Fumonisinexposure to Kansans through consumption of corn – basedmarket foods and cereals . foods . Vet . Human Toxicol . 39(4) : 220 – 225 .

Saemar, M. M., , M. S. Neira , S.L Resnik, and A.N. paci.(2001). Effect of fermentation on naturally occurring Deoxyivalenol (DON) in Argentineen bread processing technology. Food Addritiver and contaminants .18 : 1004-1010 .

Sato, N. and Y.Ueno.(1977) . Comparative toxicities of TrichothecenesMycotoxins in Animal and Human Health, Park Forest South, Illinois: Pathotox..pp 296-307 .

Scalera, G. (2002). Effects of conditioned food aversion on nutritional behavior in human.Nutr.Neuro.Sci.5(3): 159-188.

Schollenberger M; Jara HT; Suchy S; DrochnerW,and Muller HM. (2002). *Fusarium* toxins in wheat flour collected in an area in southwest Germany. Int J. Food. Microbiol. 72(1-2):85_89.

Scott, P.M., P.Y.Lau, and S.R. kanhere.(1981). Gas chromatography with electron capture and mass spectrometric detection of Deoxynivalenol in wheat and other grains. J. Assoc. off. Anal. chem. 64 : 1364-1371 .

Seifert,k.(1996). Fuskey(*Fusarium*Interactiv Key)Agriculture and Agri-food Canada. . P. 65 .

Sharma, R. P., Y. W. Kim . (1991). Trichothecenes Mycotoxins and phytoalexins. Boca Raton, Fla : CRC press : 339-359 .

Shresti, R.A.Y. (2005). Stidies on collar rot complex of coleus forskohlii(Wild.) Briq. M. Sc. thesis. University of Agricultural Sciences. Collage of Agriculture, Dharwad. pp. 100.

Smith, J. E., M.O. **Moss. (1985).**Mycotoxin, formation, analysis and significance John Wiley and Sours. New York, pp 148 .

Snijders, C.H. and J. Perkowski.(1990). Effects of head blight caused by *Fusariumculmorum* on toxin content and weight of kernels. Phytopathology.80: 566–570.

Spertzel, R. O., R. W. Wannemacher, W.C. Ratrick, C. D. Lindon, and D. R.Franz.(1993). Technical Ramifications of Inclusion of Toxins in the chemical weapons convention (CWC). Alexanderia, Vai Defense Nuclear : DNA Technical Report. p: 92-116 .

Stahl, C. J., C. C. Green, and J. B.Farnum .(1985). The incident at Tuolchrey : Pathological and toxicological examination of casualty after chemical attack J. Forensis Sci. (2) : 317-33

Summerell, B.A., Salleh, B. and Leslie, J.F. (2003). A utilitarian approach to *Fusarium*identification. *Plant Disease*, 87: 117-128.

Tanaka, T., S. Yamamoto, H. Akihiko, N. Aoki, J.R. Besling, S.Yoshitsugu, and Y.Ueno .(1990). A survey of the natural occurrence of *Fusarium*Mycotoxins, Deoxynivalenol, Nivalenol and Zearalenone, in cereals harvested in the Netherlands. Mycopathologia, 110, 19–22.

Trucksess. M. W., S. Nesheim. and R.M. **Eppley.(1984) .**Thin layer chromatographic Determination of Deoxynivalenol in wheat and corn. J. Assoc. off Anal. Chem. 67 : 40-43.

Verma,R.J.(2004). Aflatoxin cause DNA damage. Int.J. Hum. Genet. 4:231-236.

Vismer, H. F., W. F. O. Marasas, J. P. Rheeder, and J. J. Joubert. (2002). *Fusariumdimerum*as a cause of human eye infections. Medical Mycology40:399-406 .

Volki, A., B. Vogler, M.schollenberger, and P.Karlorsky. (2004). Microbial detoxification of MycotoxinDeoxynivalenol. Inis. Basic Microbial. Baud 44. Heft 2: 147-156.

Wade . H . Elmer , R . J . Mcgovern , David . M . Geiser and B.K. Harbaugh . (2000) . Biology , Epidemiology and integrated management of diseases caused by *Fusarium* in potted ornamentals , University of Florida , p . 14 **.**

Wannemacher, R. W., D. L. Bunner, and H. A.Neufeld. (1991). Toxicity of tricho the cenes and other related Mycotoxins in laboratory animals. Mycotoxin and animal foods. Boca Raton, Fla : CRC press. p : 499-552 .

Watson, S. A., C. J. Mirocha, and A. W. Hayes. (1984). Analysis for Trichothecenes in samples from southeast Asia associated with "Yellow Rain" . FundamApplToxicol ,5 : 700-717 .

Wild, C.P. and A.J**. Hall.(1996).** Epidemiology of Mycotoxin-Related disease.The Mycota .VI., Berlin: Springer. pp 213-225 .

Wolf, C.E. and A.B.Bullerman. (1998). Heat and PH alter the concentration of Deoxynivalenolin an aqueous environment. Journal of Food Protection. 61 : 365-367.

Wolf-Hall, C.E., A.H. Milford, and L.B. Bullerman. (1999). Stability of Deoxynivalenol in heat-treated foods. J. Food Prot. 62: 962–96

Wood, G.E.(1992). Mycotoxins in foods and feeds in the united states. J. Anim. Sci .70: 3941-3949 .

Wyllie , T.D. and L.G. Morehouse . (1977). Mycotoxic fungi , Mycotoxins , Mycotoxicosis. An Encyclopedic Handbook. Vol. I. Mycotoxic Fungi and chemistry of Mycotoxins. Dekker , pp. 538.

Abstract

The study included to assess the effectiveness of olive oil in reducing the toxicity of the venom Almqae Deoxynivalenol (DON) systems vital to the White female mice as well as conducting a preliminary survey on exposure of members of the community to Karbalai this poison level.

The results of the viability test isolates fungus *Fusarium* Spp. To produce the poison Deoxynivalenol (DON) technology using chromatographic thin sheets Thin Layer Chromatography (TLC) and the presence of six isolates that produce out of nineteen any isolation by 31.5% .chkst species producing the toxin DON It was all belonging to the type *F. graminearum*.

Showed the investigation of pollution maize samples and wheat experience pollution maize samples and wheat poison DON where the results of the chemical analysis of samples of maize using sheets Alkromatokrava thin pollution 4 Technology showed samples out of 12 samples of maize poison samples DON an increase of 33.3%, while the percentage of contamination of wheat poison pill is 25% of any pollution 3 samples out of 12 samples.

The results of the experiment the effect of some of the factors in the growth of fungus the *F. graminearum*) that the pH factor impact significantly where no fungus grows and discourage full when 3pH = while the rest of the numbers Qatar rate of the colony to 9 cm on the eighth day at pH 6, Omaaml salinity Vozart It results that the greater the level of

salinity Say mushroom growth rate reaching at a level of 1% to 9 g cm while at the level of 4% reached 4.3 g cm.

The results of the effect of CM the DON on female rat White significant impact in a calibrated blood biochemical and physiological where census white blood lead moral Mqarndta transactions control Kiryat rate rose and fell all of census red blood cells and hematocrit and the rate of the overall Alimoklopan and elevated liver enzymes in the venom transactions and lower total protein as well as rate to great effect in the school such as the occurrence of inflammatory tissue in the liver cells and the dissolution of the glomerulus and tubule in college as well as the occurrence of atrophy of the villi and intestinal hemorrhage in the spleen

While olive oil did not show any toxic effect in the calibrator studied at the time showed a large high-efficiency and the protection of the studied systems from the effects of the poison DON treatment of olive oil followed by "In the name of the DON demonstrating the high efficiency in the reduction of the effects of the poison inside the female White Rat

The detection of the levels of exposure to this poison in Karbalai community experience, the results showed the presence of poison in one sample (one person) out of fifty sample an increase of 2%, with the back of this poison in the blood of one of the injured infections renal This is a clear indication of the partial contamination in foods found in local markets.

Ministry of Higher Education & Scientific Research
University of Kerbala
College of Education for Pure Science
Department of Biology

A thesis

Contamination of maize and wheat grain name of Deoxynivalenol (DON) in the provinces of Karbala and Babylon

In
Biology
Botany – Mycotoxins
By

HadeelAmoori A.A. AL Amri

(B. Sc. Karbala University)

Supervised By

A. D. Sami Abdul RedhaAL- Jumaili

2015AD **1436AH**