وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات القرنفل ومنظمات النمو النباتية والتداخل بينهما ضد بعض الفطريات المعزولة من بعض المواد الغذائية

رسالة مقدمة

الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في

علوم الحياة / علم النبات – فطريات

من قبل

منى جابر نعمة

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة

جامعة كربلاء -2007

باشراف

أ.م.د بان موسى حسن الزبيدي

جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

صفر1444هـ **أيلول 2022 م**

بسم الله الرحمن الرحيم

(قَالُواْ سُبْحَٰنَكَ لَا عِلْمَ لَنَآ إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَآۖ إِنَّكَ أَنتَ ٱلْعَلِيمُ ٱلْحَكِيمُ)

صدق الله العلي العظيم
سورة البقرة الآية (32)

إقرار المشرف على الرسالة

نشهد ان اعداد هذه الرسالة (**تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات القرنفل ومنظمات النمو النباتية والتداخل بينهما ضد بعض الفطريات المعزولة من بعض المواد الغذائية**) قد جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء/ وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علم النبات/ الفطريات .

التوقيع:

الاســم: د. بان موسى حسن

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء

التاريخ: 2022/11/16

توصية رئيس قسم علوم الحياة

اشارة الى التوصية اعلاه من الاستاذ المشرف، أحُيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاســم: د. نصير ميرزا حمزة

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ: 2022/11/16

إقرار المقوم اللغوي

أشهدُ إن هذه الرسالة الموسومة (**تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات القرنفل ومنظمات النمو النباتية والتداخل بينهما ضد بعض الفطريات المعزولة من بعض المواد الغذائية**) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير .

التوقيع:

الاسم: د. مشكور حنون

المرتبة العلمية: أُستاذ مساعد

الكلية والجامعة: كلية العلوم الإسلامية / جامعة كربلاء

التاريخ: 6 / 11 / 2022

إقرار لجنة المناقشة

نحن اعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة (**تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات القرنفل ومنظمات النمو النباتية والتداخل بينهما ضد بعض الفطريات المعزولة من بعض المواد الغذائية**) المقدمة من قبل الطالبة (منى جابر نعمة) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء، وبعد اجراء المناقشة العلمية وجد انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعلية نوصي بقبول الرسالة بتقدير (امتياز).

رئيس لجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم : د. رجاء غازي عبد المحسن

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل : جامعة كربلاء/ كلية الزراعة

التاريخ : 16/ 11/2022

عضو لجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم :د. الاء عبد علي حسن

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل :جامعة الكوفة/ كلية التربية للبنات

التاريخ : 16/ 11/2022

عضو لجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم :د. قيود ثعبان يوسف

المرتبة العلمية :مدرس

العنوان :جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : 16/ 11/2022

عضوا و مشرفا

التوقيع :

الاسم : د. بان موسى حسن

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : 16/ 11/2022

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

اصادق على ما جاء في قرار اللجنة اعلاه

التوقيع :

الاسم : د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية : استاذ

التاريخ : 30/ 11/2022

الاهداء

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة .. ونصح الأمة إلى نبي الرحمة ونور العالمين

سيدنا محمد "صلى الله عليه وعلى اله وسلم"

إلى معنى الحنان والتفاني .. إلى بسمة الحياة وسر الوجود ..إلى من كان ذكرها سر نجاحي إلى أغلى الاحبة

أمي رحمها الله

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار ..إلى من أحمل اسمه بكل افتخار

والدي رحمه الله

الى... من هو أغلى علي من نفسي من كان عونا لي في شدتي

زوجي الغالي

الى من هن دافعي في نجاحاتي في الحياة

بناتي العزيزات

إلى من أشد بهم أزري

إخوتي وأخواتي

إلى شمس العلم المضيئة على مر الزمان

أساتذتي

الى كل قلب خفق حباً ووفاء لي ... أهدي ثمرة جهدي وفاء بالجميل

منى

شكر وتقدير

إلهي لايطيب الليل إلا بشكرك ولايطيب النهار إلا بطاعتك ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك .. ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك الحمد لله الذي جعل الحمد مفتاحا لذكره وخلق الاشياء ناطقة بشكره والصلاة والسلام على نبيه نبي الرحمة محمد صل الله عليه وعلى آله الطيبين الطاهرين .

اتوجه بجزيل الشكر والامتنان الى كل من ساعدنا من قريب أو بعيد على انجاز هذا العمل وفي تذليل ما واجهناه من صعوبات فواجب علينا شكرهم فلا بد ان اتقدم اولا بالشكر الى أستاذتي الفاضلة الدكتورة بان موسى حسن التي تفضلت بالاشراف واقتراح موضوع الرسالة والتي كانت توجيهاتها عونا لنا في اتمام هذا العمل .

كما اتقدم بالشكر الى رئاسة قسم علوم الحياة واساتذتي الافاضل لتعاونهم خلال فترة الدراسة   اتمنى لهم دوام الصحة والتوفيق .

كما ويسعدني ويشرفني أن أتقدم باسمى عبارات الشكر والتقدير إلى زملائي في الدراسات العليا واخص بالذكر الزميلة الرائعة الست ميساء تقي عبد الحسين والزميلة الست نضال وهاب حميد والزميلة الفاضلة الست نبا محمد عبيس   لما ابدوه من مساعدة ومواقف مشرفة ونصائح قيمة في اكمال هذه الرسالة .

واخيرا اهدي شكري وتقديري الى كل من غاب اسمه وحضر فضله وبقي حسن عمله ، وكل من مد يد العون والمساعدة ولم يبخل عليه بنصيحة أو دعاء .

واسال الله العلي العظيم التوفيق والنجاح الدائم للجميع ...

منى

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة الى عزل وتشخيص الفطريات المنتجة للسموم الفطرية من بعض المواد الغذائية في محافظة كربلاء .أجريت الدراسة في مختبرات كلية التربية للعلوم الصرفة للعام الدراسي 2021 - 2022 لغرض تقييم فعالية المستخلصات المائية والكحولية لنبات القرنفل ودراسة تاثير منظمي النمو النباتية Giberellic acid و Indol aacetic acid واجراء توليفة بين المستخلصات النباتية ومنظمات النمو على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين .

بينت نتائج عزل وتنقية الفطريات المرافقة للمواد الغذائية المكسرات و البقوليات واللحوم والالبان والخضروات والفواكه والاندومي والاجباس والبسكت والشعرية ومعجون الطماطة والسمسم والرز والمعكرونة والدخن والخبز التي عزلت من بعض المواد الغذائية المتداولة في الأسواق المحلية في مدينة كربلاء انها كانت ملوثة بالفطريات وان جميع الفطريات التي عزلت كانت منتجة لسم الافلاتوكسين اذ تم الاستدلال على ذلك باستخدام وسط جوز الهند مع محلول الامونيا .

شخصت الفطريات تشخيصا مظهريا و تشخيصا جزيئيا وذلك باستخدام تقنية Polymerase chain Reaction (PCR) والتي نجحت في مضاعفة NS8 و NS1 مع البادئات (ITS) وقد تم استخدام نفس البادئات في تحديد تتابع القواعد النايتروجينية العائدة لـrRNA التابعة للمركز الدولي لمعلومات التقانات National Center of Biotechnology Information (NCBI) Genbank وقد تم إيداعها في قاعدة بيانات (الفطريات الاحيائية).

وان الفطريات التي تم عزلها هي *Penicillium oxalicum , Penicillium expansum , Aspergillus flavus , Cladosporium Uredinicola , Aspergillus sydowii , Aspergillus Oryzae , Aspergillus Tamarii , Aspergillus nomius , Alternaria triticina , Penicillium griseofulvum , Aspergillus austwicki , Aspergillus flavus , Cladosporium cladosporioides, Penicillium brevicompatum , Fusarium proleferatum , Aspergillus caespitosus , Aspergillus versicolor*. وقد تم تسجيل جميع هذه العزلات بالبنك الجيني العالمي وقد أعطت لها ارقام تسلسلية . MT03303 ,AF033479 ,MZ35787 JN088229 , LC094427 , MH66405 , MT25485, MK45036 , JX418360 , MF03465 , OM72177 , MW51015 , MF47593, MT55892 , HQ44324 , KU866669 , MK64522 , MT49745 على التوالي وقد بينت النتائج أن هناك تشابه بنسبة 99 - 100٪ بين هذه العزلات والعزلات العالمية.

حسبت النسبة المئوية لظهور الانوع الفطرية المنتجة للسموم في العينات التي تم دراستها وكانت نسبة ظهور للفطر *Aspergillus* هي 55.56 % اذ ظهر في عشر عزلات ، اما الفطر *Penicillium* فظهر في اربع عزلات وكانت نسبة ظهوره 22.22 % ، اما نسبة ظهور الفطر *Cladosporium* فكانت 11.11% فقد ظهر في عزلتين فقط ، اما جنس الفطر *Alternaria* وجنس الفطر *Fusarium* فكانت نسبة ظهور كل منهما 5.56 % اذ ظهر كل منهما في عزلة واحدة . اما النسبة المئوية للتردد فقد تردد الفطر *Aspergillus flavus* ثلاث مرات من عزلات مختلفة وهي التفاح و الباذنجان والكاجو وكانت نسبة تردده 16.67 % ، اما بقية الأنواع العائدة لاجناس الفطريات فتردد كل نوع في عزلة واحدة وكانت نسبة ترددها 5.56 % .

استخدم المستخلصات الكحولية والمائية بالتراكيز 2.5 , 5 . 10 , 15 , 20 ملغم \مل لتقييم فاعلية المستخلصات في تثبيط الفطريات المشمولة بالدراسة وحساب النسبة المئوية وتحديد قيمة التركيز المثبط

الأدنى . بينت نتائج التحليل الاحصائي تفوق المستخلص الكحولي على المستخلص المائي لنبات القرنفل وازدياد النسبة المئوية للتثبيط مع زيادة التركيز .

بينت الدراسة تاثير منظمي النمو في نمو الفطريات المدروسة اذ ظهر انخفاضا معنويا في قطر المستعمرة عند التراكيز 2.5 , 5 , 10 , 15 , 20 ملغم \مل ، وتحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى ، كما بينت نتائج التحليل الاحصائي تفوق منظم النمو الاندول استك اسد من حيث القابلية التثبيطية على الجبرلين وازدياد النسبة المئوية للتثبيط مع زيادة التركيز .

أوضحت النتائج عدم فعالية التوليفة بين المستخلص المائي لنبات القرنفل و منظمات النمو في تثبيط الفطريات المدروسة وذلك بخلط التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي 17،18 ، 19 ،20 ملغم \مل مع قيمة التركيز المثبط الأدنى لمنظمات النمو الجبرلين 17 ، 18 ، 19 ملغم \مل والاندول استك اسد 12 ، 13 ، 14 فكانت ذات فاعلية اقل في تثبيط الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين مما يدل على ان قدرة كل من المستخلص المائي ومنظمات النمو على تثبيط نمو الفطريات المنتجة للسموم تكون اعلى في حال استخدامها كلا على حده .

أوضحت النتائج فعالية التوليفة بين المستخلص الكحولي لنبات القرنفل ومنظمات النمو في تثبيط الفطريات المنتجة للسموم وذلك بخلط التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي 0.5 ، 1 ، 1.5 ، 2 ملغم \مل مع قيمة التركيز المثبط الأدنى لمنظمات النموالجبرلين 17 ، 18 ، 19 ملغم \مل ، والاندول استك اسد 12، 13 ، 14 ملغم \مل فكانت النتيجة الحصول على توليفة لها فاعلية عالية في تثبيط الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين وبتراكيز اقل .

أوضحت نتائج الكشف عن المواد الفعالة لنبات القرنفل وجود عدد من المركبات الكيميائية الفعالة حيث أظهرت النتائج باحتواء براعم ازهار نبات القرنفل على كل من الفلافونات والكلايكوسيدات والفينولات والتربينات والراتنجات والزيوت الطيارة والصابونيات والسترويدات والفلويدات .

قائمة المحتويات

ت	الموضوع	الصفحة
	الخلاصة	
1	الفصل الأول	
	المقدمة	1
2	الفصل الثاني .. استعراض المراجع	4
1-2	الفطريات المرافقة للمواد الغذائية	4
2-2	السموم الفطرية	6
3-2	النباتات الطبية	7
4-2	نبات القرنفل	8
1-4-2	تصنيف القرنفل	8
5-2	استخدام النباتات ومستخلصاتها كمضاد فطري	10
6-2	تطور التحديات والاستراتيجيات لمكافحة الفطريات في المواد الغذائية	11
7-2	تاثير المستخلصات النباتية ومركباتها على السموم الفطرية	13
8-2	منظمات النمو النباتية	15
1-8-2	تاثير منظمات النمو النباتية على نمو الفطريات	16
3	الفصل الثالث ... المواد وطرائق العمل	17
1-3	المواد	19
1-1-3	الأجهزة والمعدات المستخدمة	19
2-1-3	الماد الكيميائية	20
3-1-3	الأوساط الزرعية	20
4-1-3	المواد المستخدمة في استخلاص	21
5-1-3	الكواشف المستخدمة	21
2-3	طرائق العمل	22
1-2-3	جمع العينات	22
2-2-3	تحضير الأوساط الزرعية	24
1-2-2-3	وسط البطاطا والدكستروز اكار الجاهز	24
2-2-2-3	وسط جوز الهند	24
3-2-3	عزل وتنقية الفطريات المرافقة للمواد الغذائية	24
4-2-3	الكشف عن الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين	24
5-2-3	تشخيص الفطريات المنتجة للسموم	25
1-5-2-3	التشخيص المظهري	25
2-2-5-3	التشخيص الجزيئي	25
أولا	طرق استخلاص ال DNA وتنقيته	26
ثانيا	تحديد تركيز الحمض النووي	27

28	تفاعل البلمرة المتسلسل	ثالثا
28	تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية وتحليل المعلوماتية الحيوية	رابعا
29	حساب النسبة المئوية للفطريات المنتجة للسموم	3-2-6
29	النسبة المئوية للظهور	3-2-6-1
29	النسبة المئوية للتردد	3-2-6-2
29	جمع عينات النبات	3-2-7
30	تحضير المستخلص المائي لنبات القرنفل	3-2-7-1
30	تحضير المستخصل الكحولي لنبات القرنفل	3-2-7-2
30	اختبار تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات القرنفل على نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين المعزولة في المواد الغذائية	3-2-7-3
31	التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لنبات القرنفل	3-2-7-4
31	التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لنبات القرنفل	3-2-7-5
31	تاثير بعض منظمات النمو النباتية على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية	3-2-8
31	حامض الجبرلين	3-2-8-1
31	حاض الاندول استك اسد	3-2-8-2
32	التركيز المثبط الأدنى للجبرلين	3-2-8-3
32	التركيز المثبط الأدنى للاندول استك اسد	3-2-8-4
32	تاثير التوليفة بين المستخلصات النباتية ومنظمات النمو على نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوسين	3-2-9
32	تاثير الجبرلين مع المستخلص المائي لنبات القرنفل	3-2-9-1
33	تاثير الجبرلين مع المستخلص الكحولي لنبات القرنفل	3-2-9-2
33	تاثير الاندول استك اسد مع المستخلص المائي لنبات القرنفل	3-2-9-3
33	تاثير الاندول استك اسد مع المستخلص الكحولي لنبات القرنفل	3-2-9-4
33	الكشف عن المركبات الفعالة لنبات القرنقل	3-2-10
34	الكشف عن الكاربوهيدرات	3-2-10-1
34	الكشف عن القلويدات	3-2-10-2
34	الكشف عن التانينات	3-2-10-3
34	الكشف عن الصابونيات	3-2-10-4
34	الكشف عن الرانتجات	3-2-10-5
34	الكشف عن الفلافونات	3-2-10-6
34	الكشف عن الكلايكوسيدات	3-2-10-7
34	الكشف عن الفينولات	3-2-10-8
34	الكشف عن الكومارين	3-2-10-9
35	التحليل الاحصائي	3-2-11
36	الفصل الرابع .... النتائج والمناقشة	4
37	عزل الفطريات من المواد الغذائية	4-1
39	الكشف عن الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين	4-2
41	تشخيص الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين	4-3
41	التشخيص المظهري والمجهري للفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين	4-3-1
57	التشخيص الجزيئي للعزلات الفطرية المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية	4-3-2
60	تحديد تسلسل القواعد اليتروجينية وتحليل المعلوماتية الحيوية	4-3-2-1
76	النسبة المئوية للفطريات المنتجة للسموم	4-4
77	تاثير المستخلصات النباتية المائية والكحولية على الفطريات	4-5

1-5-4	نتائج تاثير المستخلص المائي على نمو الفطريات المنتجة للسموم	77
2-5-4	نتائج تاثير المستخلص الكحولي على نمو الفطريات المنتجة للسموم	84
3-5-4	تحيد قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي	90
4-5-4	تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي	91
6-4	تاثير منظمي النمو الجبرلين والاندول لستك اسد في نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين	93
1-6-4	نتائج تاثير منظم النمو الجبرلين على نمو الفطريات	93
2-6-4	نتائج تاثير منظم النمو الاندول استك اسد على نمو الفطريات	100
3-6-4	تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى لهرمون الجبرلين	107
4-6-4	تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى لهرمون الاندول استك اسد	108
7-4	توليفة بين قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلصات النباتية ومنظمات النمو	111
1-7-4	تاثير التوليفة بين قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي مع قيم التركيز المثبط الأدنى للجبرلين والاندولف استك اسد	111
2-7-4	تاثير التوليفة بين قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي مع قيم التركيز المثبط الأدنى للجبرلين الاندول استك اسد	117
8-4	الكشف عن المركبات الفعالة لنبات القرنفل	122
5	**الاستنتاجات والتوصيات**	
	الاستنتاجات	124
	التوصيات	125
	المصادر	
	المصادر العربية	126
	المصادرالاجنبية	128

قائمة الجداول

رقم التسلسل	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1-3	الأجهزة والمعدات المستخدمة لاجراء التجارب في هذه الدراسة	19
2-3	المواد الكيميائية المستخدمة في هذه الدراسة	20
3-3	الأوساط الزرعية المستخدمة في هذه الدراسة	20
4-3	تسلسل البادئات التي استخدمت في الدراسة	21
5-3	مكونات مجموعة Maxime PCR Premix Kit	21
6-3	مكونات تفاعل الPCR	21
7-3	الكواشف المستخدمة	21
8-3	عينات المواد الغذائية التي تم جمعها لعزل الفطريات منها	22
9-3	الشروط المثلى لاستخلاص الحمض النووي	29
1-4	العدد الكلي لعينات المواد الغذائية (المحلية والمستوردة) مع بيان عدد العينات الملوثة والغير ملوثة	37
2-4	النسبة المئوية للظهور للفطريات الخيطية المعزولة من المواد الغذائية بدرجة حرارة 25 +- 2 درجة مئوية	38
3-4	النسبة المئوية للتردد للفطريات الخيطة المعزلة من المواد الغذائية	39
4-4	الأرقام التسلسلية للعزلات الفطرية في البنك الجيني	57
5-4	أنواع الفطريات القادرة على انتاج السموم	75
6-4	تاثير تراكيز محتلفة من المستخلص المائي على معدل نمو الفطريات المنتجة للافلاتوكسين المزولة من المواد الغذائية	77
7-4	النسب المئوية لتثبيط المستعمرات الفطرية بتاثير المستخلص المائي لنبات القرنفل	78
8-4	تاثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين	84
9-4	النسب المئوية لتثبيط المستعمرات الفطرية بتاثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل	85
10-4	قيم تركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لنبات القرنفل على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين المعزولة من المواد الغذائية	90
11-4	قيم تركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لنبات القرنفل على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين المعزولة من المواد الغذائية	91
12-4	تاثير منظم النمو الجبرلين على معدل نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين	94
13-4	النسب المئوية لتثبيط المستعمرات الفطرية بتاثير الجبرلين	95
14-4	تاثير منظم النمو الاندول استك اسد على معدل نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين	101
15-4	النسب المئوية لتثبيط المستعمرات الفطرية بتاثير الاندول استك اسد	102
16-4	قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظم النمو الجبرلين	108
17-4	اقيم التركيز المثبط الأدنى لنمظم النمو الاندول استك اسد	109
18-4	مقارنة لمعدل التراكيز للمستخلصات النباتية ومنظمات النمو	110
19-4	مقارنة لكفاءة المستخلصات في تثبيط النمو للفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين	111
20-4	نتائج التوليفة بين قيم التركيز المثبط الأدنى لللمستخلص المائي مع قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظمات النمو	112
21-4	نتائج التوليفة بين قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي مع قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظمات النمو	118
22-4	المركبات الكيميائية في المستخلصات المائية والكحولية لنبات القرنفل	123

قائمة الاشكال

رقم الصفحة	عنوان الشكل	رقم التسلسل
8	نبات القرنفل	(1-2)
27	طريقة استخلاص وتنقية ال DNA	(1-3)
40	الصفات المظهرية للفطر *Penicillium oxalicum*	(1-4)
41	الصفات المظهرية للفطر *Penicillium expansum*	(2-4)
42	الصفات المظهرية للفطر *flavus Aspergillus*	(3-4)
43	الصفات المظهرية للفطر *uredinicola Cladosporium*	(4-4)
44	الصفات المظهرية للفطر *Aspergillus sydowii*	(5-4)
45	الصفات المظهرية للفطر *Aspergillus oryzae*	(6-4)
46	الصفات المظهرية للفطر *Aspergillus tamarii*	(7-4)
47	الصفات المظهرية للفطر *Aspergillus nomius*	(8-4)
48	الصفات المظهرية للفطر *Alternaria triticina*	(9-4)
49	الصفات المظهرية للفطر *Penicillium griseofulvum*	(10-4)
50	الصفات المظهرية للفطر *Aspergillus austwickii*	(11-4)
51	الصفات المظهرية للفطر *Cladosporium cladosporioides*	(12-4)
52	الصفات المظهرية للفطر *Penicillium brevicompatum*	(13-4)
53	الصفات المظهرية للفطر *Fusarium prelifera*	(14-4)
54	الصفات المظهرية للفطر *Aspergillus caespitosus*	(15-4)
55	الصفات المظهرية للفطر *Aspergillus versicolor*	(16-4)
58	الشجرة الوراثية للفطر *Penicillium oxalicum*	(17-4)
59	الشجرة الوراثية للفطر *expansum Penicilium*	(18-4)
60	الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus flavus*	(19-4)
61	الشجرة الوراثية للفطر *Cladosporium uredincola*	(20-4)
62	الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus sydowii*	(21-4)
63	الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus oryzae*	(22-4)
64	الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus tamarii*	(23-4)
65	الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus nomius*	(24-4)
66	الشجرة الوراثية للفطر *Alternaria triticina*	(25-4)
67	الشجرة الوراثية للفطر *Penicillium griseofulvum*	(26-4)
68	الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus austwickii*	(27-4)
69	الشجرة الوراثية للفطر *Cladosporium cladospoeioides*	(28-4)
70	الشجرة الوراثية للفطر *Penicillium brevicompatum*	(29-4)
71	الشجرة الوراثية للفطر *Fusarium prelifera*	(30-4)
72	الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus caespitosus*	(31-4)
73	الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus versicolor*	(32-4)
74	الترحيل الكهربائي باستخدام هلام الاكاروز والذي يظهر نتائج فحص الPCR	(33-4)
83	تاثير تراكيز المستخلص المائي لنبات القرنفل على الفطريات السامة	(34-4)
89	تاثير تراكيز المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على الفطريات السامة	(35-4)
99	تاثير تراكيز منظم النمو الجبرلين على الفطريات السامة	(36-4)
107	تاثير تراكيز منظم النمو الاندول استك اسد على الفطريات السامة	(37-4)
116	تاثير تراكيز التوليفة للمستخلص المائي ومنظمات النمو على الفطريات السامة	(38-4)
122	تاثير تراكيز التوليفة للمستخلص الكحولي ومنظمات النمو على الفطريات السامة	(39-4)

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المقدمة Introducatio

السموم الفطرية هي ناتج ايضي ثانوي للفطريات المنتجة لها وهي مركبات نشطة بايولوجيا ذات وزن جزيئي منخفض تسبب عند التناول او الاستنشاق او حتى عند امتصاصها من قبل الجلد الى انخفاض الأداء او المرض واحيانا الموت سواء للإنسان او الحيوان بما في ذلك الطيور . تمتلك تنوع تركيبي وظيفي هائل حيث يمكن ان تؤثر في نظام عضوي كامل او تؤثر في جهاز او عضو محدد من الجسم (Wanda و Voss ، 2013) ، تاثير هذه السموم قد يظهر خلال ثواني او دقائق او خلال ساعات وقد يكون تاثيرها تراكمي على المدى الطويل فتسبب الامراض السرطانية او نقص المناعة (Tola و Kebede ، 2016).

لم يكن نمو الفطريات في المواد الغذائية يمثل مشكلة صحية خطيرة إلا بعد اكتشاف السموم الفطرية في أربعينات القرن الماضي ووجه الانتباه الى ان تواجد الفطريات في الغذاء يمثل خطر كبير يهدد صحة الإنسان ، فتم اعتبار العديد من السموم الفطرية التي تنتجها بعض الانواع الفطرية تهديدا كبيرا لصحة الإنسان كونها مسؤولة عن مختلف الآثار الصحية الضارة . (Sengumواخرون ، 2008 ; Shephard ،2008 ; Khalifa واخرون، 2013) .

يوجد العديد من أنواع السموم الفطرية من اهمها : الافلاتوكسين Aflatoxins ، الزيرالينون Zearalenon ،الفيومانايزين Fumonisins والاوكراتوكسين Ochratoxin يعد الافلاتوكسين اكثرها شهرة وخطورة على الاطلاق فهو يوجد في الكثير من الأطعمة وهي في حال تناولها اما قاتلة او مسرطنة (Zeilinger واخرون ، 2015). تنتج الافلاتوكسينات من قبل انواع عديدة من الرشاشيات *Aspergillus* مثل الفطر *A. flavus* (Balina واخرون، 2018).

سجل التاريخ العديد من الحوادث التي سببتها سموم الافلاتوكسين والتي ذهب ضحيتها الآلاف من الناس في مختلف البلدان ومختلف الأزمان (Patel واخرون ، 2015، السعيدي ، 2002).

سميت الافلاتوكسين (AF) بهذا الاسم لأن أصلها من الفطر *Aspergillus flavus* ويعد اكتشاف السموم الفطرية اهم حدث في علم الفطريات حيث من خلاله ظهر مايسمى العصر الذهبي وهو عصر ظهور واكتشاف العديد من السموم الفطرية مثل Ochratoxin و Pauline التي تنتج من قبل العديد من الفطريات مثل *Penicillium* و *Fusarium* (Angele واخرون ، 2010 ، Nagash ، 2018) .

تلعب المبيدات الفطرية دورا كبيرا في مكافحة الفطريات ولسنوات كثيرة الا ان استخدامها بشكل متكرر أظهر العديد من المشاكل كالتلوث البيئي بالإضافة إلى ظهور سلالات مقاومة من قبل الفطريات لذا اتجهت الدراسات الحديثة نحو استخدام المستخلصات النباتية في مكافحة الفطريات وذلك لأنها تمتاز بفعاليتها وسهولة الحصول عليها وغير مكلفة وغير ملوثة للبيئة ., (Iram واخرون ، 2016 ، Prakash ، 2020)

تمتلك النباتات الطبية العديد من المركبات الفعالة مثل الفينولات والقلويدات والفلافونويدات والبروتينات ومشتقات استبدال الاوكسجين (Powers واخرون ، 2019) . تؤثر المركبات الفعالة المستخلصة من النباتات الطبية والعطرية في نمو الفطريات والبكتريا والميكروبات المسببة للامراض وهذه المركبات الفعالة ناتجة عن عملية التمثيل الضوئي ومنها التربينات والتانينات والجلايكوسيدات وغيرها من المواد الفعالة (Loi واخرون ، 2020 ، Bhattachar ، 2011) .

الهرمونات النباتية هي مواد كيميائية ينتجها النبات لتحفيز نموه وتنظيمه (زيادة او نقصان) التي توجد بتراكيز قليلة و تسيطر على معظم الفعاليات الحيوية كانقسام الخلايا واستطالتها وتمايزها وعلى تكوين الأعضاء والانبات والسبات وسقوط الثمار وغيرها (Davis ، 1995) . من هذه المنظمات الاوكسينات والجبرلينات حيث توجد هذه المنظمات في النباتات الراقية والسرخسيات والحزازيات (Krinshna Murthy،1987) كذلك توجد في البكتريا (Patten، 1996، Mandal واخرون ، 2007) والطحالب والاشنات والفطريات (Ergun واخرون ، 2002 ، السامرائي واخرون ، 2004).

يعد نبات القرنفل *Syzygium aromaticum* واحد من اهم النباتات الطبية والتوابل العالمية لانه يتمتع بصفات خاصة منها رائحته العطرية النفاذة التي تحفز الشهية بالإضافة الى تاثيره الهاضم ومسكن لالام الاسنان (العاني ، 2001).

ونظرا لان المستخلصات النباتية الطبية غير سامة وآمنة وليس لها آثار جانبية ضارة وهي متوفرة بكثرة فقد اتجهت أنظار الباحثين الى استخدام هذه النباتات كمثبطات لنمو الفطريات المرضية المنتجة للسموم ولقلة البحوث التي تناولت نبات القرنفل *Syzygium aromaticum* ودراسة فاعليتها التثبيطية للفطريات المعزولة من المواد الغذائية لذلك ارتأينا دراسة تأثير هذا النبات على نمو بعض الفطريات المنتجة لسم الأفلاتوكسين وخصوصا أنه من النباتات المعمرة والمتوفرة بكثرة في وطننا العربي.

هدف الدراسة :

ونظرا لأهمية السموم الفطرية وخطورتها على صحة الانسان وعلاقتها المباشرة بغذائه سلطنا الضوء في دراستنا هذه على بعض الأغذية المتوفرة في الأسواق المحلية في محافظة كربلاء لمعرفة مدى تلوثها بالفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين وإمكانية تثبيط نموها ببعض منظمات النمو النباتية و مستخلصات نبات القرنفل وقد تمحورت هذه الدراسة حول الاتي :

1- اجراء بحث عن الفطريات المنتشرة في الأغذية على النطاق المحلي واختبار قدرتها على انتاج سم الافلاتوكسين .
2- التشخيص المظهري والجزيئي بتقنية PCR للعزلات المنتجة لسم الافلاتوكسين .
3- اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي والكحولي لنبات القرنفل ضد الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين وتحديد التركيز المثبط الأدنى .
4- اختبار الفعالية التثبيطية لمنظمات النمو الجبرلين والاندول استك اسد ضد الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين وتحديد التركيز المثبط الأدنى .
5- إيجاد توليفة بين المستخلصات النباتية مع منظمات النمو النباتية ان امكن في تثبيط نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

2- استعراض المراجع Literature Review

2-1 الفطريات المرافقة للمواد الغذائية

يعد الأمن الغذائي هو أساس صحة الإنسان اذ أصبحت سلامة الأغذية من القضايا الاستراتيجية الرئيسية في العالم التي نالت اهتمامًا عالميًا كبيرا (elignyA واخرون ، 2020) .

لكي يتحقق الأمن الغذائي بشكل جيد وفعال يجب ان تتوفر الخصائص الغذائية التي تشمل توافر الغذاء ، والوصول إلى الغذاء ، واستخدام الغذاء ، والاستقرار الغذائي عند مستويات تسمح لجميع الناس بالوصول المادي والاقتصادي إلى طعام ميسور التكلفة وآمن وصحي. عندما تنعدم او تضغف إحدى هذه الخصائص الأربع ، فإن المجتمع يصبح غير امن غذائيا ، وضعت اغلب الدول قوانين ولوائح لتزويد الناس بالغذاء الآمن تبعا لهذه القوانين يجب ان يكون الغذاء غير سام وغير ضار ولا يسبب خطرًا على صحة الإنسان (Udomkun واخرون ، 2017) .

ازدادت شكاوى الأمن الغذائي والسلامة على مستوى العالم في العقدين الماضيين. تطرح هذه الزيادات باستمرار أسئلة حول ما إذا كانت هذه الأنظمة التنظيمية والرقابية الحالية فعالة. في الفترة الأخيرة ، وضعت منظمة الصحة العالمية (WHO) وهيئة الدستور الغذائي (CAC) ومنظمات أخرى حدودًا جديدة لسلامة تجارة الأغذية الدولية ، للظروف البيئية والمعيشية في الدول المختلفة تاثير كبير على سلامة الأغذية وجودتها فضلا عن تطور الدول الاقتصادي ، وفقا للتغيرات الاجتماعية والاقتصادية السريعة في العقد الماضي ، في جميع دول العالم ، والتي تتمتع بارتفاع اقتصادي مزدهر ،وقد تم اخضاع معالجة الأغذية وأنماط الاستهلاك لتغييرات كثيرة ، مما أدى إلى زيادة عدد حالات مشاكل الأمن الغذائي. واحدة من هذه المشاكل ، الموجودة في جميع أنحاء العالم ، تنتج عن طريق السموم الفطرية (Liu واخرون ، 2012).

تعد السموم الفطرية من أهم العوامل المساهمة في تلوث الغذاء ، خاصة في البلدان النامية ، والتي أصبحت تمثل تحديًا متكررًا لسلامة الغذاء (Udomkun واخرون ، 2017) . نتيجة لذلك قد حفزت مخاوف جدية من قبل المستهلكين والمتخصصين في الصحة والتغذية حول وجود السموم الفطرية في الطعام . ان تلوث الطعام بالفطريات والسموم الفطرية يؤدي إلى فقدانه الجودة والقيمة الغذائية (Magen واخرون ، 2007)

إضافة الى ذلك فإن التلوث بالسموم الفطرية يقلل من جودة المنتج ويقلل من قيم التصدير ، مما قد يؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة للبلدان المنتجة، يقلل التلوث بالسموم الفطرية بشكل مباشر من توافر الغذاء وله مساهمته الخاصة في الجوع وسوء التغذية (Udomkun واخرون ،2017) . ان الفشل في تنفيذ الممارسات الزراعية الجيدة ، وممارسات ما بعد الحصاد السيئة ، والإصابة بالحشرات هي عوامل تؤثر على تلوث السموم الفطرية (Wagacha واخرون ، 2010) .

يمكن التخفيف من تلوث السموم الفطرية إلى مستويات مقبولة من خلال الممارسات الزراعية الجيدة ، والتحكم البيولوجي ، والفرز ، والمعالجات الإشعاعية الكهرومغناطيسية ، وتبخير الأوزون ، وعوامل المكافحة الكيميائية ، وممارسات التصنيع الجيدة ،وغيرها من الطرق المستخدمة للتقليل من مخاطر التلوث بالسموم الفطرية (Pandey واخرون ، 2019) .

تعد سلامة الأغذية وأمنها من الاحتياجات الأساسية للمستهلكين، الهدف الرئيسي للمنظمات العالمية هو اتخاذ إجراءات لضمان سلامة الأغذية وأمنها بالإضافة إلى الغذاء يمكن ان يتعرض الانسان الى السموم الفطرية من خلال تناول الماء ، وفي البيئة من خلال الاستنشاق وعن طريق الجلد باختراقه أي شيء ملوث بها ، يعد استهلاك الأطعمة الملوثة بالسموم الفطرية ، وخاصة الحبوب والأغذية من أصل حيواني ، أهم طرق التعرض وأكثرها شيوعًا اذ يمكن بالفعل نقل السموم الفطرية الموجودة في علف الحيوانات الى الأنسجة الحيوانية ، وخاصة الكبد والكلى (Wang، 2018) .

تساهم السموم الفطرية بشكل كبير في فقد الغذاء في البلدان النامية وفقًا لمنظمة الأغذية والزراعة (FAO) ، يُفقد حوالي ثلث إجمالي الغذاء ، أي ما مجموعه 1.3 مليارطن سنويًا. كما تشير التقديرات إلى أن ما يقرب من خمسة مليارات شخص في جميع أنحاء العالم يتعرضون للسموم الفطرية ، مثل الأفلاتوكسين، ومع ذلك ، كان من الصعب للغاية تطوير صيغ لتقييم الأثر الاقتصادي العالمي لوجود السموم الفطرية في الغذاء (Pizzolato Montanha واخرون ، 2018) السموم الفطرية هي مشكلة صحية عامة عالمية ، حيث تشكل التوابل والمحاصيل واللحوم ومنتجات الألبان المصادر الرئيسة للسموم الفطرية (Darwish واخرون ،2014) .

2-2 السموم الفطرية Mycotoxins

السموم الفطرية هي نواتج ايض ثانوية سامة تنتجها بعض أنواع الفطريات ، وليست ضرورية للنمو والتكاثر الطبيعي للفطر ، ولكنها قادرة على إحداث تغييرات كيميائية حيوية وفسيولوجية ومرضية في العديد من الأنواع وتشكل تهديدًا عالميًا للصحة العامة . للسموم الفطرية آثار ضارة على كل من الإنسان والحيوان . وتشمل هذه التأثيرات السمية المناعية ، والسرطنة ، والسمية العصبية ، والتأثير المسخي ، والسمية الكلوية ، وعسر الهضم ، والسمية الكبدية ، والسمية التنموية والتناسلية ، وأكثر من ذلك، يمكن العثور على معظم السموم الفطرية في العديد من المنتجات الزراعية ، والأطعمة الأساسية حيث يمكن للعفن ان يتكون اما قبل الحصاد او بعده ، واثناء التخزين كما يمكن ان يتكون على او في الاغذية ويحدث ذلك عادة في ظروف الحرارة والبلل والرطوبة (Pleadin واخرون ، 2019).

معظم السموم الفطرية لها أوزان جزيئية منخفضة نسبيًا وهي مستقرة حرارياً بشكل عام مما يدل على مستويات عالية من التراكم الأحيائي (Turner ، 2015) ، تم تحديد أكثر من 400 نوع من السموم الفطرية ، ومع ذلك ، فقط حوالي 10-15 تعتبر ذات أهمية للصحة العامة مثل الأفلاتوكسين (AF) ، ديوكسينيفالينول (DON) ، الفومونيزين (FB) ، أوكراتوكسين (OTA) ، patulin (PAT) ، zearalenone (ZEN)، trichothecenes (T-2 و HT-2) وهي الأبرز بسبب ارتفاع نسبة حدوثها في الطعام. يمكن إنتاج OTA و AF بواسطة الفطريات السامة المرتبطة بمنتجات اللحوم (Pizzolato واخرون ، 2018 ،Idbal ، 2014).

الأفلاتوكسينات (سموم الفلافوس) تعد السموم الفطرية الأكثر شهرة والأكثر سمية، يتم إنتاجها بواسطة أنواع معينة من العفن من جنس الرشاشيات *Aspergillus*، وبالتالي يكون نموها مفضلًا بشكل خاص في درجات حرارة تتراوح بين 26 درجة مئوية الى 38 درجة مئوية وبمحتوى رطوبة يزيد عن 18٪. تم تحديد ستة أشكال من الأفلاتوكسين - الأفلاتوكسين B1 (AFB1) والأفلاتوكسين B2 (AFB2) والأفلاتوكسين G1 (AFG1) والأفلاتوكسين G2(AFG2) والأفلاتوكسين M1 (AFM1) والأفلاتوكسين M2 (AFM2) يتم الإبلاغ عنها في العديد من المحاصيل ، وخاصة الذرة والفول السوداني والفستق وبذور القطن ، *Aspergillus flavus* هوالمسؤول عن إنتاج الأفلاتوكسين B1 و B2 ، بينما الرشاشيات الطفيلية يمكن أن تنتج الأفلاتوكسينات B1 و B2 و G1 و G2 ، خاصة في وقت التخزين(Martins، 2020 ، Caceres، 2020).

تعد الأفلاتوكسين B1 (AFB1) أكثر المواد المسرطنة الطبيعية فاعلية وتصنفه الوكالة الدولية لأبحاث السرطان (IARC) المجموعة 1على أنها مادة مسرطنة للإنسان ، تشير التقديرات إلى أن

AFB1 يسبب ما يصل إلى 28٪ من جميع سرطانات الكبد ، وقد ارتبط بضعف نمو الجهاز المناعي والخلل الوظيفي. يتم إفراز AFB1 ومستقلباته في البول والبراز وحليب الثدي (Ostry ، 2017) .

تم إثبات التلوث بالأفلاتوكسين في الحبوب والمنتجات القائمة على الحبوب (Pleadin ، 2015 ، Pleadin ، 2013) واللحوم ، ومنتجات لحم الخنزير ، وبيض الدجاج (Hussain ، 2010 ، Richard ،2007) بالإضافة إلى ذلك ، يتم إطلاق الأفلاتوكسين M1 في الحليب من خلال غدد حليب الماشية التي تتغذى على الأفلاتوكسين B1 الأعلاف الملوثة، نظرًا لاستقرار السم أثناء بسترة وتعقيم الحليب ومنتجات الألبان ، يمكن حتى لكمية صغيرة نسبيًا من الأفلاتوكسين M1 أن تؤثر بشكل كبير على صحة الإنسان (Cavaliere ، 2006) .

3-2 النباتات الطبية

استخدمت النباتات على نطاق واسع في الطب الشعبي منذ زمن سحيق من أجل علاج ومنع الأمراض المختلفة من جيل إلى آخر (Horn وVargas، 2008 ، Street وPrinslo ، 2013) على الرغم من التقدم الذي حصل في الطب الحديث ، لا يزال العديد من السكان في البلدان النامية يعتمدون على الطب التقليدي للوقاية من الأمراض المختلفة وعلاجها. ويرجع ذلك إلى المعتقدات الثقافية وانخفاض التكلفة والفعالية (Moura-Costa واخرون ،2012) وفقًا لمنظمة الصحة العالمية ، لا يزال حوالي 80٪ من سكان العالم يعتمدون على الطب التقليدي للرعاية الصحية الأولية (Parkash واخرون ، 2020) أحدثت الدراسات الحديثة أيضًا اهتمامًا متجددًا باستخدام النباتات ومركباتها كمغذيات في هذا الصدد في كل من البلدان المتقدمة والنامية (Galvano واخرون ، 2001 ; Anjorin واخرون ، 2013 ; Dikhobal واخرون ، 2019) . ترجع ميزة استخدام النباتات لاكتشاف الأدوية إلى وفرتها في الطبيعة وتوزيعها الواسع جغرافيًا، اذ تم تصنيع عدد كبير من الأدوية من النباتات بناءً على استخدامها في الطب التقليدي (Van Wykواخرون ، 1997 ، Dias واخرون ، 2012)، على الرغم من وجود النباتات بكثرة في الطبيعة الا انه توجد دراسات قليلة جدا حول استغلال مكوناتها لإزالة السموم الفطرية (Stoev واخرون ،2019) ، وبالتالي تستلزم إجراء دراسات عن مختلف النباتات التي تعرض أنشطة مضادة للفطريات، تنتج النباتات نواتج ثانوية كآلية دفاع ضد الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض والحشرات والظروف البيئية المعاكسة، تُعرف هذه المستقلبات بالمواد الكيميائية النباتية وهي غيرمغذية (Prakash واخرون، 2020).التي يمكنها حماية البشر والحيوانات من بعض الأمراض التي تسببها الكائنات الدقيقة أو السموم المرتبطة بها بسبب الخصائص المضادة للميكروبات التي (Park ، 2018،-Redondo Blanco واخرون ، 2019)

المستقلبات هي أكثر العوامل الوقائية الكيميائية الواعدة لاكتشاف الأدوية وتطويرها في المستقبل (Alabiواخرون، 2011). هناك مجموعات رئيسة مختلفة من المركبات الكيميائية النباتية التي تم اكتشافها حتى الآن وتختلف وفقًا لتركيبها الكيميائي (Das واخرون ، 2020). تشمل هذه المجموعات الرئيسة المركبات الفينولية ، والفلافونويد ، والفيتوستيرول ، والكاروتينات ، والتربينويدات ، والقلويدات ، والصابونيات ، والأحماض العطرية ، والجلوكوزينولات ، والكاروتينات ، والزيوت الأساسية ، والكلوروفيل والأحماض العضوية وكذلك مثبطات البروتياز Proteases inhibitors (Bhattachar ، Adebo; 2011 وMedina-Meza ، 2029 ; Loi واخرون ، 2020)، قد تعمل هذه المركبات بشكل مباشر أو غير مباشر للحماية من الأمراض أو مسببات الأمراض ، لأنها تحتوي على مضادات الجراثيم ، ومضادات الجينات ، ومضادة للسرطان ، ومضادة للتكاثر ، ومضادة للالتهابات وكذلك خصائص مضادة للأكسدة (Makhafola واخرون ، 2017 ، Velu واخرون ، 2018)

2-4- نبات القرنفل

استخدم خلال هذه الدراسة المستخلصات المائية والكحولية لنبات القرنفل ودراسة قدرتها على تثبيط نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية .

الاسم العلمي لنبات القرنفل *yzygiumS aromaticum* ينتمي للعائلة الاسية Myrtaceae موطنه الأصلي منطقة البحر الأبيض المتوسط . الجزء المستخدم من هذا النبات هو براعم الزهور حيث يتم جمعها قبل الازهار وهي واحدة من اثمن التوابل التي استخدمت لقرون كمواد حافظة للأغذية ولعديد من الأغراض الطبية القرنفل نبات طبي مهم جدا لما يحتويه من مجموعة واسعة من المواد الطبية الفعالة حيث يعد من اقدم النباتات التي تستخدم في العلاج التقليدي لعدة قرون لما يتمتع به من صفات منها رائحته العطرية النفاذة ومسكن لالام الاسنان (العاني ، 2001) .

2-4-1 التصنيف العلمي لنبات القرنفل

Domin	Eukayotic
Kingdom	Plantae
Division	Tracheophta
Class	Magnoliopsida
Order	Myrtales
Family	ceaeMyrta
Gennus	*Syzygium*

شكل (2-1) نبات القرنفل

تتميز براعم ازهار القرنفل بفعاليتها ضد الاحياء المجهرية وذلك لما تحتويه على مركبات فعالة وقد أجريت عليها العديد من الدراسات والبحوث لمعرفة مقدار تاثير هذه المركبات في الاحياء المجهرية (بكتريا ، فطريات ، فيروسات ، طفيليات) ودراسة كيفية الاستفادة من هذه المركبات في المجالات الطبية والصناعية والغذائية ، ففي دراسة موسعة قام بها Taguchi واخرون (2005) لمعرفة تاثير القرنفل المجرع بطريقتين مختلفتين على نمو فطر *Candida albicans* اذ وجد عند إعطاء مستخلص القرنفل داخل تجويف الفم للفئران المصابة بالفطر تم تثبيط نمو هذا الفطر . وفي دراسة قام بها مرجان (2010) باستخدام مسحوق القرنفل في تثبيط الفطريات الممرضة المرافقة لبذور الرقي حيث اثبتت النتائج في قدرة مسحوق القرنفل على تثبيط الفطرين *Fusarium oxysporum* , *Alternaria alternat* .

تم تحديد العديد من المركبات المتطايرة من مستخلص Hexane لبراعم *Syzygium aromaticum* وبعد الكشف عنها بواسطة جهاز التحليل الطيفي للكتلة الغازية (GC-MS) بينت النتائج انها الأوجينول % 71.56 والأوجينول أسيتات% 8.99 (Das واخرون ، 2020) .

أنتج مستخلص ثنائي كلورو ميثان من براعم الليمون (مركب Ferulic Aldehyde مع Eugenol) تم عزل مركبات الفلافونويد (tamarixetin 3-ObD-glucopyranoside و ombuin 3-ObD-glu-copyranoside و quercetin) من المستخلص الايثانولي لبراعم الليمونين وأثبتت جميع المستخلصات والفلافونيدات المعزولة نشاط قوي مضاد للاكسدة (Patra ، 1988) .

في دراسة أخرى أظهرت نتائج مستخلص براعم القرنفل الايثانولي نشاطًا عاليا في الاكسدة ، مقارنةً بمضادات الأكسدة الاصطناعية مثل بوتيل هيدروكسيل تولوين (BHT). كما أظهر نفس المستخلص نشاطًا ملحوظًا في حماية الكبد ضد إصابة الكبد التي يسببها الباراسيتامول في إناث الجرذان (Mahmoud واخرون ، 2007) .

اشتهر القرنفل في الطب الصيني التقليدي بقدرته على تقليل الالتهاب وتسكين الألم وذلك لاحتوائه على الاوجينول وتحسين الهضم ومنع نمو الكائنات الحية الدقيقة حيث يحتوي القرنفل على عدد كبير من المكونات الفعالة. لذلك فإن تطبيق القرنفل في صناعة الأغذية كمطهر كما استخدم في علاج القيء والانتفاخ ، الغثيان ،اضطرابات الكبد والامعاء والمعدة وكمنشط للاعصاب يجذب انتباه العديد من الباحثين (Han واخرون ،2017) .

السر الكيميائي وراء رائحة القرنفل الذكية بعد الأبحاث العلمية الطويلة على نبات القرنفل ثبت أنّ المسؤول عن رائحة القرنفل المميزة ، إستر عضوي يُسمى :ميثيل ساليسيلات "methyl salicylate" ومركب كربونيلي ، أي يحتوي علي مجموعة كربونيل كيتونية، يُسمى: بيتا هبتانون " -B heptanone"هذان المركبان الأسترو الكيتون، هما اللذان يُكسبان نبات القرنفل رائحته المعروفة . بالإضافة الى مركب خلات الأوجينول "eugenol acetate"الذي يُشكل نسبة قليلة من الرائحة.اما سبب تأثير القرنفل كمسكن للألم فهو بسبب وجود مركب كيميائي عضوي أروماتي اسمه " الأوجينول Eugenol "هو المسؤال عن تسكين الألم (Martinez واخرون ، 2016) .

5-2 استخدام النباتات ومستخلصاتها كمضاد فطري

من المتوقع أن يرتفع عدد سكان العالم إلى 9.7 مليار نسمة بحلول عام 2050 (United Nations ، 2019). لمواجهة هذا الأمر ، قد يحتاج الإنتاج العالمي من المحاصيل الصالحة للأكل إلى زيادة تصل إلى 119٪ (Berners-Lee واخرون ، 2018). بدلاً من ذلك ، يجب تقليل هدر الأطعمة وفسادها بشكل كبير. لذا تواجه صناعة المواد الغذائية تحديات خطيرة لتلبية الطلب الحالي والمتوقع ، إلى جانب القضايا المتعلقة بنقل الأغذية والبنية التحتية للتخزين ، وتأثيرات تغير المناخ و تعد الفطريات (العفن والخمائر) من المساهمين الرئيسيين في ذلك ، مما يقوض مرونة سلسلة الإمداد الغذائي في المراحل الرئيسية من إصابة البذور وزراعة المحاصيل إلى التلف بعد الحصاد وفي الأطعمة المصنعة ، أثناء المعالجة والنقل والتخزين. الفطريات الممرضة للنبات مسؤولة عن خسارة تصل إلى 20٪ من المحاصيل العالمية ، وهو ما يكفي من الغذاء لإطعام ما يصل إلى 600 مليون شخص سنويًا (Anonymous،2017) تشير التقديرات إلى أن الأمراض الفطرية في خمسة محاصيل غذائية مزروعة في جميع أنحاء العالم تدمر ما لا يقل عن 125 مليون طن من المنتجات (Fisher واخرون ، 2012 ; Savary واخرون ، 2012) .يمكن لبعض الفطريات ، مثل ممرض الأرز *Magnaporthe oryzae* ، أن تسبب خسائر في الإنتاج تصل إلى 100٪ (Musiime واخرون،2005) . بالإضافة إلى ذلك ، يمكن أن يؤدي العلف الحيواني الملوث بالفطريات إلى انخفاض بنسبة 5-10٪ في إنتاج اللبن من الماشية بسبب تكوين السموم الفطرية (Simion، 2018) والمواشي نفسها عرضة للعدوى الفطرية (Ahmad و Gholib،2016). تكلف الفطريات الممرضة للنبات الاقتصاد العالمي عدة مئات من مليارات الدولارات كل عام وبؤس لا يوصف لقطاع الزراعة (Birren واخرون ، 2002). تسبب الفطريات أيضًا مشاكل خطيرة في المراحل اللاحقة من إنتاج الغذاء. تم تدمير 10٪ إضافية من المحاصيل بعد الحصاد (Fisher واخرون ، 2018) علاوة على ذلك ، تعد الفطريات مساهماً رئيساً في إتلاف الأطعمة القابلة للتلف بما في ذلك الجبن والمشروبات الغازية والتوابل . تشكل الفطريات الخيطية مثل *Aspergillus niger* تهديدًا للمنتجات الصلبة والطازجة

مثل الفاكهة ، أن الخمائر قادرة على إفساد المواد المحفوظة والمشروبات السائلة (Pitt and Hocking، 2009). في حين أن استخدام المواد الحافظة ونظافة المصنع تخفف من التلف الذي تسببه العديد من الأنواع الفطرية ، وتتميز بعض الخمائر بمقاومة شديدة للمواد الحافظة ويمكن أن تستمر في بيئات التخزين (Davenport ،1998). بعض فطريات التعفن أيضًا لديها القدرة على تعريض الحياة للخطر من خلال إنتاج السموم الفطرية ، والعدوى الانتهازية للمضيفين الذين يعانون من نقص المناعة (Benedict واخرون ، 2016).

2-6- تطور التحديات والاستراتيجيات لمكافحة الفطريات في المواد الغذائية

وضعت العديد من البلدان قيودًا تنظيمية على السموم الفطرية في السلع الزراعية للحد من مخاطر صحة الإنسان والحيوان المرتبطة بها (Marroquin-Cardona واخرون ، 2014، Haque واخرون،2020). تسبب السموم الفطرية مرضًا يعرف باسم التسمم الفطر Mycotoxicosis (Bennettو Klich ، 2003 ، Liew وMohd-Redzwan ، 2018). تشمل السموم الفطرية الأكثر انتشارًا ذات الأهمية الزراعية الافلاتوكسين (AFs) ، والأوكراتوكسين (OTA) ، والفومونيزينات (FBs) ، و zearalenone (ZEN) لقد حظيت هذه باهتمام كبير بسبب المخاطر الصحية التي تشكلها على البشر والحيوانات (Dikhoba واخرون ، 2019).

تم تطوير طرق مختلفة للسيطرة على السموم الفطرية والوقاية منها في الغذاء والأعلاف. يتم تصنيف هذه الأساليب على أنها طرق كيميائية وبيولوجية دقيقة (Adebo واخرون ، 2017 ، Adebiyi واخرون ، 2019) وقد ثبت أن هذه الطرق فعالة في منع نمو الفطريات المسببة للسموم وإنتاج السموم الفطرية المصاحبة لها ما قبل الحصاد وبعد حصاد الغذاء وأثناء تخزين السلع الغذائية. تتضمن الطرق الكيميائية استخدام مواد كيميائية مثل الأمونيا ، وهيدروكسيد الصوديوم ، وحمض الهيدروكلوريك ، وهيدروكسي تولوين بوتيل ، وهيدروكسي زيانيسول بوتيليت ، وأولتيبراز لتطهير السموم الفطرية (Karlovsky واخرون ، 2016، Čolović واخرون ، 2019) بالإضافة إلى عدم فعاليتها في إزالة التلوث من السموم الفطرية ، فإن استخدامها المفرط على المدى الطويل لا يزال محدودًا بسبب بقايا منتجاتها السامة ، والصحة العامة والمخاوف البيئية (Alberts واخرون ، 2019 ، Meng واخرون ، 2020) إلى جانب التداخل مع العناصر الغذائية والخصائص للأغذية والأعلاف (Celik، 2020).

تشمل الطرق الفيزيائية التنظيف ، وإزالة القشرة ، والفرز ، والطحن ، والضوء فوق البنفسجي ، والبلازما الباردة ، وكذلك التشعيع، تتضمن الطرق الفيزيائية الأخرى استخدام مواد ماصة أو مواد رابطة مثل الفحم المنشط والبنتونيت والزيوليت وطين السيبيولايت. تم تطبيق هذه الأساليب بشكل فعال في تطهير

السموم الفطرية. ومع ذلك ، فإن تكاليف تنفيذ التكنولوجيا ، والتأثيرات السمية المتبقية المحتملة ، والامتصاص الضعيف ، والنوعية المنخفضة ضد بعض السموم الفطرية لا تزال تعيق تطبيقها الروتيني (Mahoto واخرون ، 2019) تستلزم الطرق الميكروبيولوجية استخدام بكتيريا البروبايونك والخمائر وإنزيماتها ، والتي تعتبر فعالة في تقليل السموم الفطرية في الغذاء والأعلاف(Tianواخرون،2016) . ومع ذلك ، فإن هذه الكائنات الدقيقة وإنزيماتها غالبًا ما تتداخل مع إمداد المغذيات مما يؤدي إلى منتجات غير مرغوب فيها بصرف النظر عن هذا ، لا تزال المنتجات الثانوية للتحلل الإنزيمي تحد من استخداماتها (Lyagin وEfremenko، 2019) لذلك ، هناك حاجة لاكتشاف طرق بديلة يمكن أن تمنع الاستعمار الفطري للسلع الزراعية ، أو إزالة السموم أو تحويل بقايا السموم الفطرية بيولوجيًا إلى أشكال أقل أوغيرسامة دون أي قيود(Powers واخرون ، 2019 ، Haque واخرون ، 2020).

تقدم النباتات مثل الزيوت العطرية والتوابل والأعشاب والمستخلصات النباتية بدائل رائعة لاكتشاف مبيدات الفطريات الحيوية للتخفيف من التسمم الفطري. تعد النباتات بشكل عام مصادر بديلة صديقة للبيئة وأكثر أمانًا من االمبيدات الكيميائية لمكافحة الفطريات والسموم الفطرية في الغذاء والأعلاف (Iram واخرون ، 2016 ، Adebo واخرون ، 2020).وذلك لانها ميسورة التكلفة مقارنة بالمواد الأخرى المستخدمة للغرض نفسه فهي تحفز المسارات التي تثير أنظمة الدفاع الطبيعية في أنسجة النبات(Alberts واخرون ، 2019 ، Gacem واخرون، 2020) كما أنها تحتوي على مواد كيميائية نباتية مختلفة مع خصائص دوائية ضد الأمراض المختلفة. تم إجراء دراسات حديثة حول النباتات كمبيدات فطريات حيوية لتخفيف انتشار الفطريات المسببة للسموم والتلوث بالسموم الفطرية في الغذاء والأعلاف (Ponzilacqua واخرون ، 2019 ، Kavitha واخرون ، 2020).

تمتلك النباتات مضادات التخثر ، ومضادات الميكروبات ، ومضادات الأكسدة ، أو مضادات السرطانات القادرة على تثبيط السموم الفطرية (Anjorin واخرون ، 2013) تعمل مضادات الأكسدة على حماية أغشية الخلايا (Wuواخرون ، 2017) بينما تعمل المواد الكيميائية النباتية على تحفيز إزالة السمية الخلوية في الفطريات من خلال تعطيل نفاذية غشاء الخلية ووظائفه تثبيط إنزيمات السيتوبلازم والميتوكوندريا ؛ بالإضافة الى تثبيط الإنزيمات المشاركة في تخليق مكونات جدار الخلية (Loi واخرون ، 2020)، كما تعمل المواد الكيميائية النباتية على تثبيط الإنزيمات التي تنشط المواد المسرطنة وكذلك تحفيز الإنزيمات لإزالة السموم (Galvano واخرون ، 2001) استخدمت المركبات النشطة بيولوجيًا في النباتات كمبيدات لمنع نمو الفطريات وتلوث الغذاء والاعلاف بالأفلاتوكسين (AF) ، وبالتالي الحد من مخاطر الطفرات والسرطانات من السموم الفطرية مثل AFS (Mathuria وVerma ، 2007).

7-2 تأثيرالمستخلصات النباتية ومركباتها على السموم الفطرية.

يعد استعمال المستخلصات النباتية أحد العوامل البديلة للمكافحة الكيميائية وقد أثار اهتمام العديد من الباحثين وذلك لما تميزت به من إيجابية وفعالية مقارنة بطرق المكافحة الأخرى فضلا عن كون هذه المبيدات الحيوية ذات الأصل النباتي غير سامة وسريعة التحلل (Qasem و Abu Blani، 1996).

كما تتميز المنتجات النباتية بقدرتها على خفض كثافة المسببات المرضية التي تصيب الأجزاء النباتية وتثبط تطور المرض علاوة على ذلك فإنها لا تسبب أضرار للبيئة وتكون أمنة للإنسان والحيوان (Bowersو Locks ، 2004).

لذا وجهت منظمة الصحة العالمية البحوث الطبية في العالم للاستفادة من المصادر النباتية الطبيعية ومستخلصاتها في صناعة الأدوية والعقاقير المختلفة حيث أجريت دراسات كثيرة وواسعة على العديد من النباتات الطبية التي أثبتت فعالية عالية في القضاء على المسببات المرضية ومنها الفطريات .

وفي دراسة قامت بها العاني واخرون (2000) لزيت القرنفل الطيار Clove oil المستخلص من نبات القرنفل *Dianthus Caryophyllus* L. يمتلك فعالية تثبيطية لنمو الفطريات مثل بعض أنواع الخميرة *Candida* . قام الوائلي والشطي (2002) بدراسة تاثير المستخلصات المائية لقشر ثمار الرمان وثمار الحنظل واوراق البطنج وثمار البمبر واوراق عرق السوس والنعناع ضد النمو الشعاعي وانبات الابواغ للفطرين *A .solani* و *A,senecioni* .

كما أشار Wszelaki و Miller (2005) في دراسة لمستخلص نبات الثوم حيث ثبط معنويا الفطر *A. solani* الذي يسبب مرض اللفحة المبكرة على الطماطة .كما قام Nashwa and Abo-Elyousr (2012) بدراسة استخدم فيها مستخلصات اوراق نبات الريحان (*sweet*) والنيم (*Neem*) واليوكالبتوس (*Eucalyptus*) والدفلة (*Oleander*) والثوم (*Carlic*) حيث وجد أن جميع معاملات المستخلصات النباتية ثبطت الفطر *A.solani* الذي يسبب مرض اللفحة المبكرة على محصول الطماطة . كما درس (Mokhtar واخرون ، 2014) تاثير المستخلصات المائية لنبات الفلفل الحار (*Capsicum annoom*) واوراق كل من الملفوف (*oleracea Brassica*) واليوكالبتوس (*obliqua Eucalyptus*)على نمو الفطرين *Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani* اذ أظهرت النتائج فعالية المستخلصات النباتية في تثبيط الفطريات المدروسة ، وكان مستخلص نبات الريحان اقلها تثبيطا للمرض في حين كان مستخلص اوراق نبات الثوم أكثرها تثبيطا للمرض ، وفي دراسة قام بها جاسم

(2017) باستخدام مستخلصات نبات الدفلة والخروع والداماص والياسمين الزفر وجد أن جميع معاملات المستخلصات النباتية ثبطت معنويا ثبطت الفطر *Alternaria alternate* الذي يسبب مرض تبقع اوراق نخيل التمر .وقد تفوقت معاملة مستخلص اوراق نبات الداماص على جميع المستخلصات النباتية الأخرى وجاء مستخلص نبات الخروع في المرتبة الثانية .

تم دراسة الأنشطة المضادة للفطريات والسموم الفطرية للنباتات العشبية ذات الخصائص المضادة للأكسدة المحتملة ضد السلالات الفطرية المسببة للأمراض النباتية ، مثل *Fusarium verticillioides* و *A. flavus* و *A. ochraceous* أبلغت النتائج عن إمكانات النباتات الطبية المختارة لاستخدامها في اكتشاف مبيدات الفطريات الحيوية التي قد تمنع تلف الطعام المرتبط بالأكسدة (Dikhoba واخرون ، 2019).

دراسة Abdel -fattah وآخرون (2018) عن إمكانات مضادات الأكسدة ومضادات الفطريات ومضادات السموم الفطرية لمستخلصات ستيفيا البرية ضد *A. flavus* و *A. ochraceus* و *A. niger* و *F. moniliforme*. وجد ان مستخلصات ستيفيا البرية لها فعالية تثبيطية عالية ضد الفطريات المذكورة .
كما أشار كاظم واخرون (2021) في دراسة تاثير مستخلصات جذور الباذنجان في نمو فطور الخزن لحبوب القمح حيث اثبتت النتائج تاثير المستخلصين المائي والكحولي لجذر الباذنجان في تثبيط الفطريات المختبرة وغيرها الكثير من الدراسات .

8-2 منظمات النمو النباتي

يتم التحكم في نمو النبات من خلال عوامل وراثية وعوامل بيئية اذ ان النمو في النبات صفة عادية مثل أي صفة موجودة في النبات مثال على ذلك هناك سلالات من نبات الذرة قزمية صغيرة جدا على خلاف ذلك هناك سلالات أخرى طويلة وذلك بسبب الاختلاف في التركيب الوراثي ونفس هذه الحالة توجد في سلالات الفاصوليا والبسلة وغيرها . اما من حيث العوامل البيئية فهي كثيرة منها درجة الحرارة للتربة والجو والضوء وكمية ماء التربة وخواصها وغيرها من العوامل البيئية الأخرى (وصفي ،1995) .

منظمات النمو هي مركبات طبيعية تنتج بواسطة النبات او مركبات صناعية لا تنتج بالنبات لكن يتم تخليقها وانتاجها صناعيا في المصانع والمعامل حيث ان عند توفرها بكميات ضئيلة في النبات يكون لها

تاثير منظم على العمليات الكيموحيوية في النبات وبالتالي يكون لها تاثير على نمو النبات (Prajapati ، 2015) . منظمات النمو تشمل منشطات growth activators ومثبطات النمو growth inhibitor . ومنظمات النمو تنقسم الى منظمات نمو هرمونية وهي منظمات النمو الطبيعية التي يتم انتاجها من قبل النبات بصورة طبيعية وتسمى بالهرمونات النباتية lant hormonesP او nesoPhytohorm ومنظمات النمو الغير هرمونية وهي التي لاتنتجها النباتات ويتم تصنيعها وتسمى تركيبية Synthetic حيث تم تصنيع هذه المنظمات نظرا لان انتاج الهرمونات النباتية ليس ممكنا اقتصاديا وكذلك صعوبة تحديد الظروف المثلى التي تعمل بتوفرها إضافة الى مشاكل التلوث الصحي والبيئي لذلك لاتسمى بالهرمونات النباتية على الاطلاق ولكن تسمى منظمات النمو ومنظمات النمو تشمل خمسة مجاميع هامة هي الاوكسينات Auxins والجبريللينات Gibberellins و السيتوكنينات Cytokinins وحامض الابسيك Abscisic acid وغاز الاثيلين yleneEth (Malik و Weisner ، 1989) .

يعود الفضل في اكتشاف أول أوكسين في نبات الشوفان للعالم الأمريكي Went عام 1928، إذْ تبين أن قمّة السويقية تفرز الأوكسين الذي يؤدي إلى استطالتها. ويُعتقد أنه ينتقل حيوياً من مراكز تكوينه ذات التركيز المرتفع إلى أماكن أخرى ذات التركيز المنخفض أو الخالية منه تماماً، وذلك ابتداءً من القمة الطرفية للمجموعة الخضرية وانتهاءً في القاعدة السفلية للمجموعة الجذرية في النباتات القائمة، أما في النباتات الأفقية الوضع والموازية لسطح التربة فتنتقل الأوكسينات فيها من الجانب العلوي للساق والجذر إلى جانبها السفلي مما يؤدي إلى انحناء النباتات حين استطالتها ونموها (Ross وSalisbury ، 1978).تطلق تسمية الاوكسينات على أي مركب يسبب استطالة في خلايا الساق المقطوعة وكذلك لها تاثيرات أخرى مثل التاثير على انقسام الخلايا وغيرها من الظواهر الحيوية للنبات ، تنتج الاوكسينات او تخلق في القمم النامية وفي الانسجة المرستيمية وخاصة المناطق التي يحدث فيها استطالة الخلايا أي ان الأجزاء النشطة في الانقسام مثل القمم النامية للساق والأوراق الصغيرة والبراعم الخضرية والزهرية يكون عادة فيها تركيز الاوكسين عال مقارنة بالاجزاء البعيدة عنه اما الجبريلينات هي مركبات استطالة في خلايا الساق السليم يعود الفضل في اكتشاف الجبريلينات الى العلماء اليابانيون منذ أوائل القرن العشرين وحتى عام 1926وهناك تداخل واضح بين تاثير الجبريلينات مع الاوكسينات اذ ان كل منهما يحدث استطالة لخلايا الساق لكن هناك فرق بين هاتين المجموعتين حيث ان تاثير الجبريلينات يكون على النباتات السليمة ويكون تاثيره ضعيف على الأجزاء الساقية المقطوعة او يكون معدوم بينما في الاوكسينات يكون تاثيرها على الساق المقطوعة كبير جدا (Kaur واخرون ، 2018) .هذا قد أدى استعمال منظمات النمو النباتية في العديد من المحاصيل الزراعية فيما يرتبط بالنمو والإنتاج والجودة حيث اصبح استعمالها مكونا مهما

من الاجرءات التقنية الزراعية لاغلب النباتات وخاصة الاوكسين والجبرلين حيث يتم استخدامها على نطاق واسع (Suman واخرون ،2017).

1-8-2 تاثير منظمات النمو النباتية في نمو الفطريات

تعرضت المحاصيل الزراعية في العقود القليلة الماضية إلى مشاكل في انخفاض نوعية المحصول بسبب تفشي أنواع مختلفة من الأمراض التي تحدث بسبب الاحياء المجهرية والفيروسات والفطريات (Lagoke و Emechebe ، 2003) من أجل تعزيز مقاومة النباتات تم اتباع طرق جديدة من أجل استيعاب طرق الدفاع المستخدمة من قبل النباتات للدفاع عن نفسها ضد الممرضات المتمثلة بمجموعة من المركبات الكيميائية ومنظمات النمو (El-Khallal ،2007) .

أوضح عبدول (1987) في دراسة إلى أن استعمال بعض منظمات النمو يزيد من مقاومة النبات لبعض الاضطرابات الفسلجية وأمراض النبات .

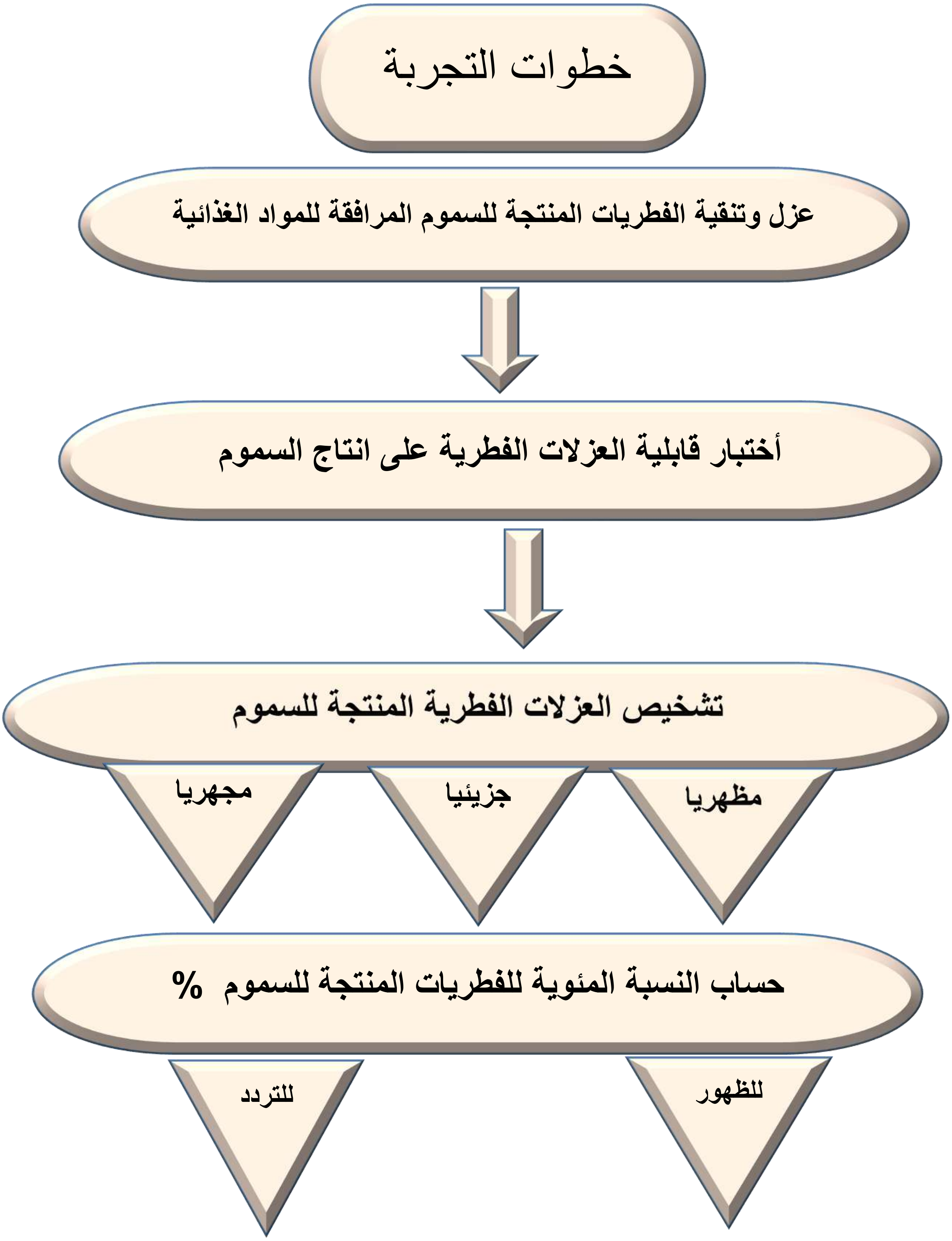
كما أوضح Rozej و Michniewicz (1988) في دراسة إلى أن الأوكسين يثبط نمو الغزل الفطري في الظروف المختبرية .

أشارت دراسة قام بها Ayman و Eman (2004) إلى فعالية منظمات النمو النباتية وخاصة Indol acetic acid (IAA) و (Gibberellic acid (GA3 وما تلعبه من دور مهم في تعزيز الاستجابة المناعية للنباتات ومقاومتها ضد الأمراض المختلفة وذلك بعد اضافتها بتراكيز معينة.

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials & Methods


خطوات التجربة
عزل وتنقية الفطريات المنتجة للسموم المرافقة للمواد الغذائية
أختبار قابلية العزلات الفطرية على انتاج السموم
تشخيص العزلات الفطرية المنتجة للسموم
مظهريا
جزيئيا
مجهريا
حساب النسبة المئوية للفطريات المنتجة للسموم %
للظهور
للتردد

تأثير مستخلصات نبات القرنفل على العزلات الفطرية المنتجة للسموم

مائي

كحولي

تأثير بعض منظمات النمو النباتية على العزلات الفطرية المنتجة للسموم

جبرلين

الاندول استك اسد

تأثير التوليفة من منظمات النمو مع المستخلصات النباتية على العزلات الفطرية المنتجة للسموم

المستخلص المائي + جبرلين

المستخلص الكحولي + اندول استك اسد

المستخلص الكحولي + جبرلين

المستخلص المائي + اندول استك اسد

3- المواد وطرق العمل Materials &Methods

3-1-المواد Materials

3-1-1 الأجهزة والمعدات المستخدمة Equipments and Instruments

الجدول (3-1) الأجهزة والمعدات المستخدمة لاجراء التجارب في هذه الدراسة

ت	الأجهزة والأدوات	الاسم بالانكليزية	المنشا والشركة المصنعة
1	مجهر ضوئي	Light Microscope	Malaysia- Motic
2	حاضنة	Incubator	Chicaco-QL
3	مؤصدة	Autoclave	USA-All-American
4	ميزان حساس	Balance Sensitive	Germany
5	جهاز تقطير	Distillar system	Korea-Labtech
6	صفيحة ساخنة	Hot plat	India - Jlassco
7	خلاط كهربائي	Blendar	Nathinal-Japan
8	جهاز سحب الابخرة والغازات	Hood	Korae-Lab tech
9	ثلاجة	Refrigerator	Al Balsan \ Turkey
10	اطباق بتري	Petri dish	China
11	ثاقب فليني	cork poring	India
12	أوراق ترشيح	Filter paper (different size)	USA-Ahlstorm
13	أدوات زجاجية مختلفة الاحجام	Laboratory glasswar	Germany
14	ابرة تلقيح	Needl	
15	انابيب اختبار	Test tube	China
16	شرائح زجاجية	Glass slides	China
17	كفوف طبية	Medical gloves	
18	مشعل	Burner	
19	جهاز المازج	Vortex	SA-MAXI-MEX Plus
20	شريط بارفام	Faram	
21	جهاز الطرد المركزي	Centrifuge	Chain-DLAB
22	حوامل كهربائية	Electrophoreses	UK-Clarivate
23	الماصات الدقيقة (احجام مختلفة)	Micropipettes(Different size)	Germany-Eppendroff
24	الاشعة فوق البنفسجية	UV.Transmission	ance-Vilber Lourmat Ste
25	دوامة	Vortex	SA\Fisher Scientific
26	مزود الطاقة	Power Supply	USA-Biorad
27	1.5 مل انابيب ايبندورف	1.5ml Eppendorf tubes	USA-Sigma-Aldrich
28	صفائح (احجام مختلفة)	Tips(Different Size)	Japan-Jippo

ت			
29	حاضنة ثرموستات	Thermostatic Incubator	Chain-Zxinstrument

3-1-2 المواد الكيميائية

الجدول (3-2) المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة

ت	المادة	الاسم بالانكليزي	الشركة المصنعة والمنشا
1	ايثانول	Ethanol	England-BDH
2	هايبدوكلوريدات الصوديوم	Naclo	Iraq- تجاري
3	ازرق المثيلين	Methyleno blue	Germany-Hoechst
4	المضاد الحيوي الاموكسلين	Amoxicillin	Iraq-سامراء
5	امونيا	NH3	England-BDH
6	ميثانول	Methanol	England-BDH
7	حامض الجبرلين	Gibberellic acid	India
8	اندول استك اسد	Indol-3-Acetic Acid	India-CDH
9	صبغة حمراء امنة	Red safe staining soulution	Korea-Intron
10	مجموعة صغيرة لاستخراج الحمض النووي الجيني للنباتات Favorprep	FavorPrep Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit	Koria
11	صبغ التحميل 6X	6X Loading	Koria Intron
12	سلم 100	Ladder 100	USA - Kapa

3-1-3 الأوساط الزرعية Cultur media

الجدول (3-3) الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة

ت	اسم الوسط الزرعي	المنشا	الغرض من استخدام الوسط
1	وسط البطاطا والدكستروز اكار	Italy	لعزل وتنقية وتشخيص الفطريات
2	وسط جوز الهند	تحضير	لاختبار قدرة الفطريات على انتاج السم

4-1-3 المواد المستخدمة في استخلاص DNA

(Material and Kits used in Polymerase Chain Reaction)

الجدول(4-3) تسلسل البادئات التي استخدمت في الدراسة

Primer	Sequence	Primer Sequence	Tm (C)	GC %	Size of Product (bp)
ITS	F	5-TCCGTAGGTAACCTGCGG-3	60.3.	50 %	550-600
	R	5-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3	57.8	41 %	

الجدول (5-3) مكونات مجموعة (Maxime PCR PreMi -Taq x Kiti)

Component	Reaction size 20
i-Taq TM DNA Polymerase (5U/)	2.5 U
dNtpS	2.5mM each
Reaction Buffer(10X)	1X
Gel Loding buffer	1X

الجدول (6-3) مكونات تفاعل الPCR

Component	25 (Final volume)
Taq PCR PreMix	5
Forward prymer	10 picomoic
Reverse primer	10 picomoic
DNA	1.5
Distill water	16.5

3-1-5- الكواشف المستخدمة

الجدول (3-7) الكواشف المستخدمة

ت	الكواشف	مصدر طريقة التحضير
1	كشف الفينول مع حامض الكبريتيك المركز	Meyer and Walther 1988
2	كشف واكنر	Harborne , 1984
3	كاشف خلات الرصاص	Ahmed *et al* , 1998
4	حامض الهيدروكلوريك	Shihata ,1951
5	حامض الكبريتيك المركز	Al-Khazragi , 1991
6	كشف فهلنك	Adedayo *et al* ,. 2001
7	كاشف كلوريد الحديديك	Harbone , 1973
8	كاشف هيدروكسيد الصوديوم	Geisman , 1962

3-2- طرائق العمل Methods

3-2-1- جمع العينات Collection of sample

جمعت 46 عينة جدول (3-8) من مصادر غذائية مختلفة هي المكسرات والفواكه والخضروات واللحوم والالبان والاجباس ومعجون الطماطم والمعكرونة والشعرية والرز والدخن والاندومي بشكل عشوائي من الأسواق المحلية في محافظة كربلاء المقدسة بواقع ثلاث عينات لكل مادة غذائية وبوزن 3 غم لكل عينة لغرض الحصول على عزلات من الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين خلال تشرين الثاني 2021 ثم وضعت هذه العينات في اكياس نايلون حاوية على بطاقات سجل عليها تاريخ أخذ العينات ورقمها ومكان اخذ العينة ثم نقلت إلى مختبر الدراسات العليا/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء.

الجدول(3-8) عينات المواد الغذائية التي تم جمعها من الأسواق المحلية لعزل الفطريات منها

ت	عينات المواد	المنشأ
1	جوز	العراق – الشمال
2	لوز	العراق – الشمال
3	بندق	العراق – الشمال
4	كاجو	العراق – الشمال
5	فستق	العراق – الشمال
6	لوبيا خضراء	العراق
7	حمص يابس	العراق
8	فاصوليا يابسة	مصر
9	حنطة	العراق

10	دخن	العراق
11	عدس	تركيا
12	ذرة (بذرة)	تركيا
13	رز	أمريكا
14	جبن مثلثات أبو الولد	سعودية
15	قشطة كالة	ايران
16	روبة كالة	ايران
17	جبن كالة	ايران
18	سمك	العراق
19	دجاج مجمد	العراق
20	لحم كفيل	العراق
21	صوصج	العراق
22	برتقال	مصر
23	تفاح	لبنان
24	عنب	العراق
25	رمان	مصر
26	فلفل	العراق
27	شجر	العراق
28	باذنجان	العراق
29	خيار	العراق
30	بصل	العراق
31	طماطم	تركيا
32	معجون طماطم التونسا	سعودية
33	جبس ديريتوس	سعودية
34	اندومي	سعودية
35	جبس ليز	سعودية
36	بسكت مينو	ايران
37	بسكت beurre ETi Petit [	رومانيا
38	سمسم	العراق
39	معكرونه	العراق
40	شعرية	العراق
41	بطيخ	ايران
42	موز	صومال

43	لوبيا معلبة	تركيا
44	جبس مزمز	ايران
45	خبز	العراق
46	بسكت Popel	ايران

2-2-3 تحضير الاوساط الزرعية Preparing the media culture

1-2-2-3 وسط البطاطا والدكستروز اكار الجاهز Potata Dextra Agar (PDA)

حضر الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة وذلك بإذابة 42 غم من المسحوق الجاهز في لتر من الماء المقطر لغرض استخدامه في تنمية وعزل وتشخيص الفطريات المعزولة.

2-2-2-3 .وسط جوز الهند Coconut Agar media (CA)

حضر الوسط حسب طريقة Lin وDianese (1976) وذلك باضافة 100 غم من مبروش جوز الهند المتوافر تجاريا في الأسواق المحلية إلى 300مل من الماء المقطر وسخن المزيج لمدة 20 دقيقة ثم رشح بقطعة من الشاش النظيف واضيف 2% اكار واكمل الحجم إلى 300 مل بإضافة الماء المقطر . وقد حضر للكشف عن الفطريات القادرة على إنتاج سم الافلاتوكسين.

ملاحظة / عقمت جميع الأوساط الزرعية بجهاز المؤصدة بدرجة حرارة 121 درجة مئوية وضغط 15باوند / انج ولمدة 20 دقيقة ثم برد إلى ماقبل 45 درجة مئوية ثم اضيف المضاد الحيوي Amoxicillinبتركيز 250 ملغم /لتر قبل تصلب الوسط .

3-2-3: عزل وتنقية الفطريات المرافقة للمواد الغذائية

نقلت عينات المواد الغذائية إلى مختبرالدراسات العليا في قسم علوم الحياة - كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء وقطعت إلى قطع صغيرة (العينات الصلبة) وعقمت سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصديوم بتركيز 2 % لمدة دقيقتين بعدها تم غسلها بالماء المقطر المعقم ثم وضعت على اوراق ترشيح للتخلص من الماء اما العينات الصلبة الصغيرة فلم تقطع وزرعت كاملة ، اما العينات السائلة فاخذ منها عينة صغيرة بواسطة Needle ، بعدها تم زرعها في أطباق بلاستيكية (قطرها 8 سم) تحوي على وسط PDA بمعدل ثلاث مكررات لكل عينة في مركز كل طبق في ظروف التعقيم ثم حضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 25± 2 درجة مئوية لمدة سبعة أيام مع المتابعة . بعد ظهور النمو الفطري تم تنقية المزارع بأخذ مسحة من حافة المستعمرة بواسطة Needle معقم واعيد تنميتها على نفس الوسط وحضنت سبعة أيام أخرى في نفس درجة الحرارة وهكذا تم الحصول على مزارع نقية

حفظت العينات في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمة حاوية على وسط PDA بصورة مائلة Slant زرعت اقراص منها على الوسط الزرعي لمدة سبعة أيام ، وقد حضرت هذه الأوساط لغرض حفظ الفطريات مدة أطول والمحافظة عليها دون تلوث لحين اكتمال الدراسة وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة +4 درجة مئوية مع مراعاة تجديدها كل شهر.

3-2-4 : الكشف عن الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين

تم الكشف عن الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين وذلك بتنميتها على وسط جوز الهند المحضر حسب الفقرة (3-2-2-2) لمدة سبعة أيام في الحاضنة بدرجة حرارة (25±2) درجة مئوية وبعد ظهور الغزل الفطري تم وضع اوراق ترشيح مبللة بقطرات من محلول الامونيا تركيزه 20 % على غطاء الاطباق التي نمت عليها الفطريات واعيد حضنها لمدة أربعة أيام بصورة مقلوبة بدرجة الحرارة السابقة وتم تمييز الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين من غيرها وذلك بتلون قواعد المستعمرات باللون الاحمر أو البرتقالي بدلا من اللون الشفافSaito و Machid (1999) .

3-2-5 : تشخيص الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين

3-2-5-1 : التشخيص المظهري Morphological Identification

تم تشخيص العزلات الفطرية المنتجة للسموم التي تم الحصول عليها بالاعتماد على المظهر الخارجي للمستعمرات والفحص المجهري الدقيق بعد تنقيتها على وسط (PDA), تم التشخيص من قبل الدكتورة بان موسى بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية المعتمدة لكل من Moubasher (1993) و Robert و اخرون (2011) .

3-2-5-2 : التشخيص الجزيئي Molecular Identification

تم تأكيد التشخيص المظهري للفطريات المنتجة للسموم المعزولة من المواد الغذائية من خلال اجراء التشخيص الجزيئي بتقنية (PCR Polymerase Chain Reaction) وذلك من اجل تشخيصها على مستوى النوع . التشخيص الجزيئي يتضمن ثلاث خطوات رئيسية.

الخطوة الأولى : استخلاص المادة الوراثية والخطوة الثانية اجراء فحص ال PCR والخطوة الثالثة هو تحليل المعلومات وذلك باستخدام برنامج تحليل التشابه BLASTE ومعرفة درجة التشابه بين عزلاتنا والعزلات العالمية ثم تسجيل تلك العزلات في البنك الجيني GenBank ومن ثم رسم الشجرة الوراثية لكل عزلة بواسطة برنامج MEGA .

أولا : طرق استخلاص وتنقية DNA extraction and purification DNA

لغرض عملية استخلاص وتنقية DNA من المستعمرات الفطرية المنتجة للسموم التي تم عزلها وتنقيتها بالاعتماد على ماذكره Narayanasam (2011) وحسب الخطوات التالية :

1-جمعت العزلات الفطرية المنتجة للسموم بعمر 7 ايام ونقلها كلا على حده الى انبوبة اختبار(Eppendrof tube) معقمة سعة 1.5 مل مضافا اليها 400 مايكروليتر من المحلول الدارئ FAPG1 سحقت العينة باستخدام المدقة البلاستيكية الصغيرة (Micropestle) لتحطيم جدر الخلايا الفطرية مع رج العينة عدة مرات باستخدام جهاز الهزاز(vortex) .

2- حضنت الأنابيب الحاوية على الخليط لمدة 10 دقائق في حمام مائي بدرجة حرارة 65 م مع الحرص على رج الانبوبة يدويا 2-3 مرات أثناء فترة الحضن.

3- اضيف 130 مايكروليتر من المحلول الداري FAPG2 إلى الأنابيب الحاوية على الخليط ثم مزجت المحتويات بشكل جيد باستخدام جهاز الهزار بعدها حضنت على الثلج لمدة 5 دقائق في هذه الخطوة تترسب البروتينات والسكريات المتعددة الخاصة بالفطر والمنظفات الخاصة بالمحلول الداريء.

4- اجريت عملية الطرد المركزي لمدة 5 دقائق بسرعة 14000 دورة\ دقيقة ثم نقل المحلول الطافي إلى الأنابيب ذات اللون الأرجواني نوع QIAshredder Mini spin column تحتوي على مرشح خاص وأيضا أجريت لها عملية الطرد المركزي ولكن لمدة 3 دقائق بالسرعة نفسها أعلاه يعمل مرشح هذه الأنابيب على إزالة حطام الخلايا الفطرية ومعظم الرواسب.

5- نقل الراشح إلى أنابيب اختبار جديدة معقمة سعة 2 مل و اضيف اليه 700 مايكرو لتر من المحلول الداري FAPG وتم مزج المحتويات بواسطة ماصة صغيرة .

6- اضيف الايثانول بتركيز (96 – 100 %) الى المحلول الداريء FAPG3 وتخلط جيدا .

7- نقل 750 ميكرولتر من الخليط باستخدام ماصة صغيرة إلى أنابيب ذات اللون الأبيض نوع DNeasy Mini spin column والتي أيضا تحتوي على مرشح خاص لغرض تنقية الDNA وجرت عملية طرد مركزي للأنابيب لمدة دقيقة واحدة بسرعة 14000 دورة \الدقيقة وبعدها تم التخلص من الراشح ونقل المتبقي من الخليط إلى نفس الأنابيب وجرت عملية الطرد المركزي بنفس الفترة الزمنية وبالسرعة نفسها مع التخلص من الراشح ايضا.

8- اضيف 400 ميكرولتر من المحلول الداريء W1 إلى نفس الأنابيب اعلاه مع اجراء عملية طرد مركزي لها لمدة دقيقة واحدة بسرعة 14000 دورة\ دقيقة بعدها تم التخلص من الراشح ثم أضيف مرة أخرى لنفس الأنابيب 500 ميكرو لتر من المحلول الدارى W1 وأجريت لها عملية طرد مركزي لمدة

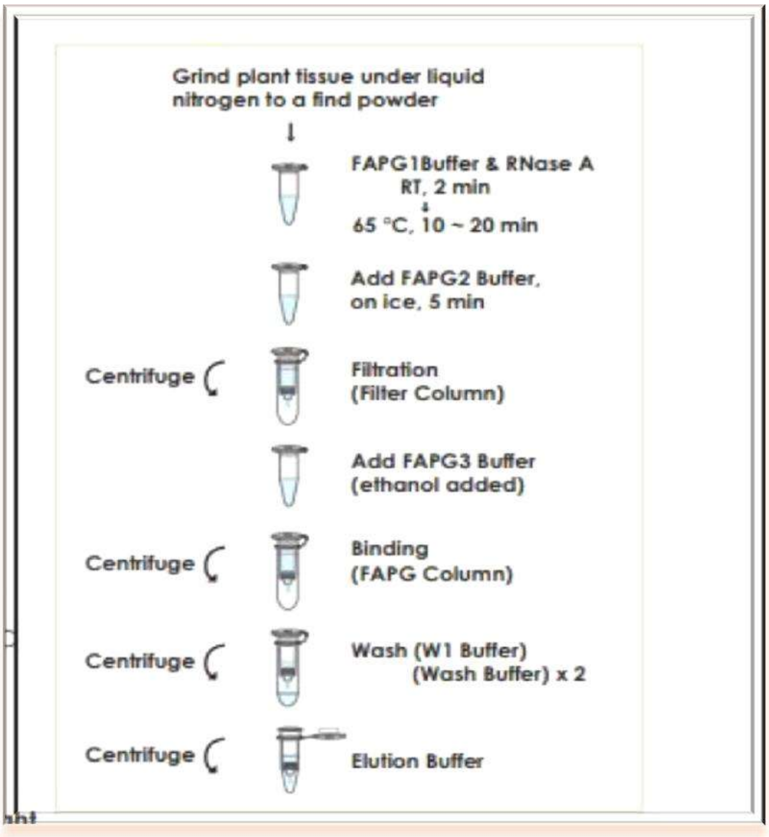
دقيقتين بسرعة 14000 دورة\ دقيقة بعدها تم التخلص من الراشح . الغرض من هذه الخطوة هو لتنقية ال DNA العالق بالمرشح.

9- وضعت الأنابيب DNeasy Mini spin column بداخل انابيب اختبار معقمة سعة 2 مل وأضيف الى غشاء مرشح الأنابيب 100 ميكرو لتر من المحلول الدارئ FAPG مباشرة وحضنت بعدها الأنابيب بدرجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق ثم جرت عملية الطرد المركزي لمدة دقيقة واحدة بسرعة 14000 دورة / دقيقة للحصول على الراشح الذي يحتوي على الDNA الكلي الغرض من هذه الخطوة هو إزالة الDNA العالق بغشاء مرشح الأنابيب ليكون مع الراشح.

10- حفظت الأنابيب الحاوية على الDNA الكلي تحت درجة حرارة 20 م لحين الاستعمال .

وهذه الخطوات موضحة في الشكل (3-1) .

الشكل (3-1) يوضح خطوات استخلاص ال DNA



ثانيا : تحديد تركيز الحمض النووي:

استخدم الترحيل الكهربائي الهلامي لتحليل تركيز وجودة الحمض النووي حسب الخطوات التالية :

1- حضر محلول الاكاروز بإذابة 1 غم من مسحوق الاكاروز في 100 مل من (x1) TBE في دورق سعة (100) مل ، الاكاروز. صهر الاكاروز في قالب ساخن حتى يصبح المحلول صافيا .

2- برد محلول الاكاروز إلى حوالي (50- 55 درجة مئوية) ، وتحريك القارورة من حين لآخر ليبرد بالتساوي.

3- تمت إضافة صبغة حمراء (3 ميكرولتر) إلى الجل الدافئ ثم ختم أطراف قالب الصب بطبقتين من الشريط اللاصق.

4. وضعت الأمشاط في قالب الصب الهلامي.

5- صب محلول الاكاروز المذاب في قالب الصب.

6- تم ترك الاكاروز يتجمد في درجة حرارة الغرفة وسحب المشط بعناية وإزيل الشريط. تم وضع الجل على حجرة الترحيل الكهربائي التي كانت مملوءة بعازل (1x) TBE .

7- تم خلط عينات الحمض النووي (5 مايكرولتر) مع محلول تحميل DNA(3 مايكرولتر) وتحميلها في آبار هلام الاكاروز.

8- اكتمل الفصل الكهربائي لجل الاكاروز عند 70 فولت و 65 امبير لمدة ساعة واحدة. تم ملاحظة الحمض النووي من خلال المشاهدة تحت ضوء الاشعة فوق البنفسجية .

ثالثا : تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chine Reaction ((PCR)

استخدمت المادة الوراثية المستخلصة من الفطريات المنتجة للسموم المعزولة من المواد الغذائية كقالب في التفاعل القياسي الخاص بالكشف عن الفطريات باستخدام العدة المجهزة من الشركة البريطانية اذ كان الحجم النهائي للتفاعل 25 مايكروليتر الذي يحتوي على المكونات الأساسية التي تتمثل ب 1 مايكروليتر من البادئات *ITS* الموضحة بالجدول (3-4) والتي تستعمل في مضاعفة منطقة (-rRNA- SSu) التي تقع ضمن جينات الوحدة الصغيرة للرايبوسومة في الكروموسومات الفطرية(White واخرون ،1990).

اما تحضير البادئات فقد تم من خلال تجفيف البادئات بالتجميد ، وتم إذابتها في ddH20 الحر لإعطاء تركيز نهائي قدره 100 pmol \ µl كمحلول مخزون والاحتفاظ بالمخزون عند -20 لتحضير تركيز

10 pmol \ µl كما تم تعليق العمل التمهيدي ، 10 µ من محلول المخزون في 90 µ من الماء الحر 20 ddH2O للوصول إلى الحجم النهائي 100 µ . الجدول (3-9) يوضح ظروف التضخيم للجين.

الجدول (3-9) ظروف التضخيم للجين

.No	phase	TC (C)	Time	No.of cycle
1	Initial Denaturation	95 C	5 min	1 cycle
2	Denaturation	95 C	45 sec	3 cycle
3	Annealing	52 C	1 min	
4	Extension-1	72 C	1 min	
5	Extension-2	72 C	5 min	1 cycle

رابعا :تحديد تسلسل القواعد النتروجينية وتحليل المعلوماتية الحيوية

بعد إجراء عملية التضاعف للمادة الوراثية للفطريات المدروسة تم ارسال العينات الفطرية المنتجة للسموم إلى شركة Magroen في كوريا الجنوبية من اجل التشخيص الجزيئي وتحديد القواعد النايتروجينية وقد تم الاستعانة ببرنامج Chromse ومن أجل معرفة التشابه بين الفطريات المدروسة والفطريات المسجلة عالميا تم الاستعانة ببرنامج Basic Local Alignment Search (BLAST) Toolالتابع لموقع المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية لنتائج البحث National Center for Biotechnology Informationوتم رسم الشجرة الوراثيه لكل فطر باستخدام برنامج MEGA كما وقد تم تسجيل الفطريات المشخصة في البنك الجيني العالمي.

3-2-6: حساب النسبة المئوية للفطريات المنتجة للسموم %

3-2-6- 1: النسبة المئوية للظهور

تم حساب النسبة المئوية لظهور الانواع الفطرية في العينات التي تمت دراستها باستخدام المعادلة التالية Booth وآخرون (1988)

النسبة المئوية للظهور= عدد العينات التي ظهر فيها الجنس أو النوع / عدد العينات الكلية ×100

3-2-6-2:النسبة المئوية للتردد

تم حساب النسبة المئوية لتردد كل نوع من الأنواع الفطرية في العينات التي تمت دراستها باستخدام المعادلة التالية

النسبة المئوية للتردد = عدد عزلات النوع الواحد / العدد الكلي لعزلات جميع الفطريات × 100

3-2-7 : جمع عينات النبات Collecting plants

تم شراء نبات القرنفل كأعشاب من محلات العشابيين غير مطحونة وكانت الاعشاب تشمل براعم زهرة نبات القرنفل وقد تم تشخيصها في معشب كلية التربية للعلوم الصرفة ثم بعد ذلك طحنت بطاحونة كهربائية وحفظت في اكياس لحين استخدامها

3-2-7-1: تحضير المستخلص المائي لنبات القرنفل

حضر المستخلص المائي بوزن 50 غم من المسحوق الجاف لنبات القرنفل واضيف إليه 1000 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي وترك لمدة يوم كامل بدرجة حرارة الغرفة ثم رشح الخليط باستخدام عدة طبقات من الشاش النظيف للتخلص من العوالق ، بعدها رشح المستخلص بواسطة اوراق ترشيح من نوع . Whatman No 1 جفف المستخلص في أطباق زجاجية نظيفة بدرجة حرارة المختبر لعدة أيام لحين ثبوت الوزن وكررت العملية للحصول على الكمية الكافية من المستخلص ثم جمع وحفظ في قناني معتمة ومعقمة وضعت في الثلاجة على درجة +4 م لحين الاستعمال (Ahmed واخرون ، 1998) كما وردت في خضير (2021) .

3-2-7-2: تحضير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل

تم تحضير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل بنفس الطريقة التي حضر بها المستخلص المائي ولكن تم استخدام الكحول الاثيلي بتركيز 96% بدلا من الماء المقطر (Khanzada واخرون، 2006) كما وردت في حضير (2021) .

عقمت المستخلصات النباتية بمرشحات Milipor Filter بقطر (0.22) .

طريقه تحضير تراكيز المستخلصات النباتية المائية والكحولي

1-تم إذابة 2 غم من المستخلص في 100 مل وسط زرعي للحصول على التركيز 20 ملغم \ مل

2 -تم إذابة 1.50 غم من المستخلص في 100 مل وسط زرعي للحصول على تركيز 15 ملغم / مل

3- تم إذابة 1 غم من المستخلص في 100 مل وسط زرعي للحصول على تركيز 10 ملغم /مل

4 -تم اذابة 0.5 غم من المستخلص في 100 مل وسط زرعي للحصول على تركيز 5 ملغم / مل

5- تم إذابة 0.25 غم من المستخلص في 100 مل وسط زرعي للحصول على تركيز.2.5 ملغم /مل

3-7-2-3 : اختبار تأثير المستخلص الكحولي والمائي لنبات القرنفل على نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين المعزولة من المواد الغذائية

حضر الوسط الزرعي PDA وعقم بجهاز المؤصدة وبرد إلى درجة حرارة 45 م واضيف إليه المضاد الحيوي Amoxicillin بمعدل 250 ملغم /لترلتثبيط النمو البكتيري ثم تم مزج المستخلصات النباتية المجففة مع الوسط بحسب طريقة Sundhakar واخرون (2009) لتحضير التراكيز 5 , 10 ,15, 20,2.5 ملغم / مل وسط زرعي بمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز وبعد تصلبه في الأطباق وضع قرص الفطريات النامية بقطر 5 ملم على وسط PDA بعمر 7 ايام في مركز الطبق تم استخدام سيطرة سالبة تضمنت طبق يحتوي على وسط زرعي يحتوي على Amoxicillin فقط (الجنابي ، 2004) وحضنت الاطباق بدرجة حرارة (25 ± 2 م) لمدة 7- 10ايام ، ثم قيس قطر المستعمرة الفطرية النامية معدل قطرين متعامدين وسجلت النتائج وحسبت نسبة التثبيط المئوية حسب معادلة Abbot الواردة في (Umaواخرون، 1992 ، Wanchaitanawong واخرون ،2005)

النسبة المئوية للتثبيط = (معدل قطر المستعمرة في أطباق السيطرة - معدل قطر المستعمرة في أطباق المعاملة \ معدل المستعمرة في أطباق السيطرة) ×100

4-7-2-3. : التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory concentration MIC للمستخلص المائي والكحولي لنبات القرنفل

تم تحضير التركيز الأدنى للمستخلص المائي والكحولي كلا على انفراد وذلك بمزج المستخلص المائي مع الوسط الزرعي لكي نحصل على التراكيز 16 , 17 , 18 , 19 , 20 ملغم / مل من المتخلص المائي والتركيز المثبط الادنى 0.25 , 0.5 , 1 , 1.5 , 2 ملغم \مل وبمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز Sundhakar واخرون (2009) وقد تم تسجيل النتائج على اساس وجود نمو (+) وعدم وجود نمو (-) و بعد أقل تركيز من المستخلص لم يظهر فيه النمو الفطري هو التركيز المثبط الأدنى (الغزالي والظويهري ، 2012) .

8-2-3 : تأثير بعض منظمات النمو النباتية على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية

1-8-2-3: حامض الجبرلين Gibberellic acid (GA3)

حضرت عدة تراكيز من حامض الجبرلين تمثلت 2.5 , 5, 15,10 ,20 ملغم /مل اذ تم اذابة منظم النمو الجبرلين حسب التركيز المطلوب في 100 مل كحول اثيلي بتركيز 20 % ثم اضيف الى وسط

PDAبعد التعقيم والمحضر مسبقا حسب الطريقة 3-2-2-1 وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز لقحت الاطباق بالفطريات المعزولة والنامية مسبقا على وسط PDA ولمدة سبعة أيام بقرص قطره 5 ملم باستخدام الثاقب الفليني ثم حضنت بدرجة حرارة 25±2 درجة مئوية بعد ذلك قياس قطر المستعمرة النامية لكل معاملة ولكل تركيز حسب المعادلةالمعادلة الواردة في الفقرة 3-2-7-3 .

3-2-8-2 : الاندول استك اسد (IAA)

كررت نفس الخطوات المستخدمة في الفقرة 3-2-8-1 وبنفس التراكيز(Mukhtar ،2004) .

ملاحظة \ حضرت نفس التراكيز المشار في الفقرة 3-2-7-2 .

3-2-8-3 : التركيز المثبط الأدنى MIC للجبرلين والاندول استك اسد

حضر التركيز الأدنى لمنظمي النمو الجبرلين والاندول استك اسد وذلك باذابة الجبرلين والاندول استك اسد كل منها على حده بالكحول الاثيلي بتركيز 20% لكي نحصل على التركيز المثبط الادنى للجبرلين 16 , 17 , 18, 19 ملغم / مل والتركيز المثبط الادنى للاندول استك اسد ,11 ,12 , 13 , 14 10 ملغم / مل وبمعدل ثلاث مكررات لكل تركيز وقد تم تسجيل النتائج على اساس وجود نمو (+) وعدم وجود نمو (-) إذ يعد أقل تركيز من المستخلص لم يظهر فيه النمو الفطري هو التركيز المثبط الأدنى .

3-2-9: تاثير التوليفة بين المستخلصات النباتية ومنظمات النمو على نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية

لاختبار تاثير بعض التوليفات من مستخلصات النباتية ومنظمات النمو في تثبيط الفطريات المنتجة للسموم المعزولة من المواد الغذائية اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل Revathi واخرون (2011) ، اذ حضرت التوليفة باستخدام قيم تركيز المثبط الأدنى للمستخلصات النباتية و منظمات النمو النباتية .

3-2-9-1: تاثير الجبرلين والاندول استك اسد مع المستخلص المائي لنبات القرنفل

حضرت التوليفة من قيم التركيز المثبط الأدنى لحامض الجبرلين والاندول استك اسد كل على انفراد مع قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لنبات القرنفل وذلك باذابة المستخلص المائي في 50 مل من الماء المقطر واذابة الجبرلين والاندول استك اسد في 50 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 20 % كل على انفراد ثم اضيف الى وسط ال PDA المحضر والمعقم مسبقا وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز لقحت الاطباق بالفطريات المعزولة والنامية مسبقا على وسط PDA ولمدة سبعة أيام بقرص قطره 5 ملم باستخدام الثاقب الفليني ثم حضنت بدرجة 25±2 درجة مئوية.

3-2-9- 2: تاثير الجبرلين والاندول استك اسد مع المستخلص الكحولي لنبات القرنفل

حضرت التوليفة من قيم التركيز المثبط الأدنى لحامض الجبرلين مع قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لنبات القرنفل وذلك باذابة المستخلص الكحولي في 50 مل من الماء المقطر واذابة الجبرلين والاندول استك في 50 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 20 % كل على انفراد ثم اضيف الى وسط ال PDA المحضر والمعقم مسبقا وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز لقحت الاطباق بالفطريات المعزولة والنامية مسبقا على وسط PDA ولمدة سبعة أيام بقرص قطره 5 ملم باستخدام الثاقب الفليني ثم حضنت بدرجة 2 _+25 درجة مئوية .

3-2-10 -الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة لنبات القرنفل

3-2-10-1 الكشف عن الكاربوهيدرات Carbohydrates Test

استخدم كشف الفينول مع حامض الكبريتك المركز في الكشف عن الكاربوهيدرات اذ تم اذابة 25 غم من بلورات الفينول في 500 مل من الماء المقطر وأضيف اليها 2.5 مل من حامض الكبريتيك المركز لتحضير كاشف الفينول ، أضيف 1مل من الكاشف الى 5 مل من المستخلص ، ظهور اللون الأحمر البني هذا يدل على وجود الكربوهيدرات (Meyer و Walther ،1988) .

3-2-10-2- الكشف عن القلويدات Alkaloids Test

حضر كاشف واكثر Wagner reagent تم تحضيره من إذابة 1.3 غم من اليود مع 2 غرام من يوديد البوتاسيوم في 100 مل من الماء المقطر ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات (Harbone ، 1984) .

3-2-10-3 - الكشف عن التانينات Tannins Test

كشف خلات الرصاص Lead acetate Test بعد تحضير محلول من خلات الرصاص بتركيز 1%، أضيفت عدة قطرات منه إلى 0.5 مل من المستخلص النباتي ، فظهور راسب ابيض هلامي القوام دليل على وجود الثانينات (Ahmed واخرون ، 1998) .

3-2-10-4- الكشف عن الصابونينات Saponins Test

وضع المستخلص المائي والكحولي كل على انفراد في أنبوبة اختبار ورجت بشدة فظهور رغوة كثيفة تبقى لفترة طويلة دليلا على وجود الصابونينات (Sowfowora ، 1993).

3-2-10-5 -الكشف عن الراتنجات Resins Test

تم مزج 1 غم من المسحوق النباتي مع 10 مل من الكحول الاثيلي تركيزه 95% ، بعد ذلك وضع المحلول لمدة دقيقة واحدة في حمام مائي بدرجة حرارة 100 م ، وبعد ترشيح العالق أضيف إليه 10 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.4 ، فكان ظهور العكورة دليلا على الكشف الموجبة (Shihata ،1951) .

3-2-10-6- الكشف عن الفلافونات Flavonoids Test

بعد تحضير المستخلص المائي والكحولي للنبات تم مزج 1 مل منه مع 1 مل من حامض الكبريتيك المركز H2SO4، فتغير لون المحلول إلى الأصفر الداكن يدل على وجود الفلافونيدات (Al Khazragi ، 1991) .

3-2-10-7- الكشف عن الكلايكوسيدات Glycosides Test

حضر كاشف فهلنك من اذابة 2.9 غرام كبريتات النحاس الزرقاء في 40 مل من الماءالمقطر وبعدها أضيف الى 3 مل من المستخلصات النباتية ، فظهور اللون الأحمر الداكن يدل على وجود الكلايكوسيدات (Adedayo واخرون ، 2001).

3-2-10-8- الكشف عن الفينولات Phenols Test

استخدم كاشف كلوريد الحديديك Ferric chloride في الكشف عن الفينولات وقد حضر هذا الكاشف بإذابة 1غرام من كلوريد الحديديك FeCl3 في 100 مل من الماء المقطر ثم أضيف 3 مل من المستخلص المائي والكحولي الى 2 مل من الكاشف فعند ظهور اللون الأخضر المزرق يدل على وجود الفينولات (Harbon ، 1973) .

3-2-10-9-الكشف عن الكومارين Caumarines Test

اتبعت طريقة (Geisman ، 1962) في الكشف عن الكومارين وذلك بوضع القليل من المستخلصات في أنابيب اختبار وغطيت باوراق ترشيح مبللة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) تركيزه 0.5 % وضعت الأنابيب في حمام مائي لعدة دقائق ثم عرضت اوراق الترشيح الى مصدر للأشعة فوق البنفسجية فظهور لون اصفر مخضر براق يدل على وجود الكومارين .

3-2-10: التحليل الاحصائي lysisStatistical ana

تم تحليل نتائج التجارب تبعا لنموذج التجارب العاملية بالتصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design وقد تم استخدام اختبار اقل فرق معنوي (LSD) تحت مستوى احتمالية 0.05 (الامام ، 2007).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Result and Discussion

4-النتائج والمناقشة

1-4 عزل الفطريات من المواد الغذائية

أوضحت نتائج عزل الفطريات من عينات المواد الغذائية الموضحة في الجدول (3-1) التي جمعت عشوائيا من الأسواق المحلية لمحافظة كربلاء المقدسة حيث بين الجدول (4-1) ان اكثر العينات تاثرا بالفطريات هي عينات الخضروات والفواكه اذ كان العدد الكلي للعينات الملوثة مساوي الى 12 عينة تليها عينات البقوليات التي بلغت 7 عينات ثم عينات المكسرات اذ بلغت 5 عينات ثم بعدها تاتي عينة اللحوم اذ بلغت 4 عينات ثم تليها الالبان والاجباس والبسكت اذ بلغت 3 عينات لكل منهم ثم بعد ذلك عينات الدخن والمعكرونة والشعرية والخبز اذ بلغت عينة واحدة لكل منهم .اذ كانت النسبة المئوية للعينات الملوثة 93% في حين كانت النسبة المئوية للعينات غير الملوثة 7% .

الجدول (4-1) العدد الكلي لعينات المواد الغذائية (المحلية والمستوردة) وعدد العينات الملوثة والغيرملوثة

ت	المواد الغذائية	العدد الكلي للعينات	عدد العينات التي ظهر فيها النمو الفطري	عدد العينات التي لم يظهر فيها النمو الفطري
1	الخضروات والفواكه	12	12	-
2	المكسرات	5	5	-
3	البقوليات	7	7	-
4	الالبان	4	3	1
5	اللحوم	4	4	-
6	الرز	1	1	-
7	الشعرية	1	1	-
8	المعكرونة	1	1	-
9	الدخن	1	1	-
10	الاجباس	3	3	-
11	البسكت	3	3	-
12	اندومي	1	-	1
13	سمسم	1	-	1
14	خبز	1	1	-
15	معجون طماطم	1	1	-
	المجموع	**46**	**43**	**3**
	النسبة المئوية	**%100**	**%93**	**%7**

تستعمر الفطريات العديد من المحاصيل ويتم تكييفها مع مجموعة واسعة من الظروف البيئية (Perrone واخرون ، 2020) يعتمد مدى نمو الفطريات وإنتاج الأفلاتوكسين في الحبوب والمواد الغذائية على درجة الحرارة والرطوبة ونوع التربة وظروف التخزين (Achaglinkame واخرون ، 2017) تؤثر درجات الحرارة المرتفعة ، وتركيزات ثاني أوكسيد الكربون (CO_2) ، وإجهاد الجفاف ، وهطول الأمطار بشكل مباشر على الذرة وانتشار *Aspergillus flavus* ، مما يعزز نمو الفطريات ، والكونيدات ، بالاضافة الى ذلك تعد طريقة الحصاد المختارة احد اهم الاسباب في تلوث المنتجات الغذائية بالفطريات وكذلك يمكن ان تسبب التخزين والنقل والتسويق غير السليم ايضا في نمو الفطريات (Ojiambواخرون ، 2018 ،Nilya و اخرون ، 2018) كذلك تحفز فترات الجفاف المتكررة إنتاج السموم الفطرية في ظروف ما قبل الحصاد وبعد (Dovenyi-Nagy واخرون، 2020 ، Kachapulula ، 2017) بشكل عام ، يتأثر بتغير المناخ ،على سبيل المثال يتاثر إنتاج الذرة بعوامل مثل هطول الأمطار والآفات والأمراض ودرجة الحرارة (Chagwiza واخرون ، 2020) .

اشارت العديد من الدراسات في مجال تلوث الأغذية بالافلاتوكسينات مثل Medina واخرون(2017) و Siame واخرون (1998) و Agbetiameh واخرون (2018) وغيرها العديد من الدراسات.

2-4 الكشف عن الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين

بينت نتائج الكشف أن جميع الفطريات التي تم عزلها من بعض المواد الغذائية منتجة لسموم الافلاتوكسين وبتراكيز عالية جدا وقد تم الاستدلال على ذلك عن طريق تغير لون قاعدة المستعمرات من اللون الشفاف الى اللون الاحمر أو البرتقالي كما في الجدول (4-2) (Machida و saito ،1999)

تسمى منتجات الايض الثانوي التي تنتج من قبل الفطريات بالسموم الفطرية Mycotoxin حيث أن السموم الفطرية هو اي مركب ثانوي سام ناتج عن عمليات الايض الثانوي للفطريات قادر على إحداث أضرار للكائنات الحية (انسان ، نبات ، حيوان) من خلال الاستنشاق أو الابتلاع أو التعرض (الملامسة) لهذة المركبات . حيث أن الفطريات تقوم بإنتاج هذه السموم عندما يتعرض الفطر إلى ظروف غير ملائمة أو المنافسة على الغذاء والمكان اغلب السموم الفطرية هي مركبات هيدروكاربونية حلقية (Aromatic hydrocarbons) ذات وزن جزئي يتراوح بين 97- 710 دالتون ونظرا لوزنها الجزيئي المنخفض تكون قادرة على تحمل الظروف البيئة القاسية اي تكون مستقرة بالاضافة الى ذلك فان هذه السموم الفطرية تكون غير قادرة على تحفيز الجهاز المناعي للإنسان والحيوان لإنتاج الاجسام المضادة ضد هذه السموم (مطني ،2017) .

الجدول (4-2) أنواع الفطريات القادرة على انتاج السموم

ت	نوع الفطر	عدد العزلات	النسبة المئوية للتردد
1	***Penicillium oxalicum***	1	% 5.56
2	***Penicillium expasum***	1	% 5.56
3	***Aspergillus flavus***	3	% 16.67
4	***Cladosporium Uredinicola***	1	% 5.56
5	***Aspergillus sydowii***	1	% 5.56
6	***Aspergillus oryzae***	1	% 5.56
7	***Aspergillus tamarii***	1	% 5.56
8	***Aspergillus nomius***	1	% 5.56
9	***Alternaria triticina***	1	% 5.56
10	***Penicillium griseofulvum***	1	% 5.56
11	***Aspergillus austwicki***	1	% 5.56
12	***Cladosporium cladosporioides***	1	% 5.56
13	***Penicillium brevicompatum***	1	% 5.56
14	***Fusarium proleferatum***	1	% 5.56
15	***Aspergillus caespitosus***	1	% 5.56
16	***Aspergillus versicolor***	1	% 5.56
	المجموع	18	100 %

3-4 : تشخيص الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين

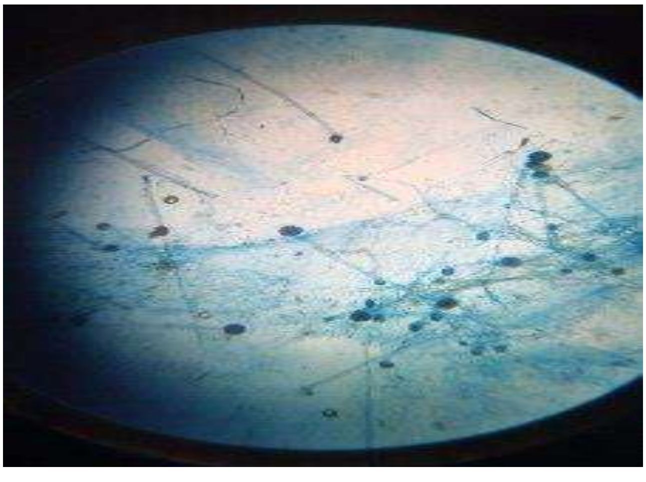
1-3-4 التشخيص المظهري والمجهري

أولا : الفطر*Penicillium oxalicum*

شخصت العزلة *Penicillium oxalicum* حسب مواصفاتها المظهرية Morphology characteristicعند زراعتها على وسط زرعي (Potato Dextro Agar (PDA اذ أعطت العزلة على الوسط شكلا مخمليا ذات حواف بيضاء ومناطق كونيدية في ضلال خضراء باهتة كما موضح بالشكل (4-1) اما السطح السفلي للمستعمرة فكان ذو لون اصفرمائل الى الاخضر ، اما لون المستعمرة فكانت ذات لون اخضر مزرق ، الحامل الكونيدي طويل وشفاف ذو جدران ناعمة ، الرؤوس الكونيدية سوداء كروية الشكل .المواصفات الواردة أعلاه تنطبق على نوع الفطر *Penicillium oxalicum*بحسب المفاتيح التصنيفية ل Moubasher (1993) .

A– وجه المستعمرة

B - ظهر المستعمرة

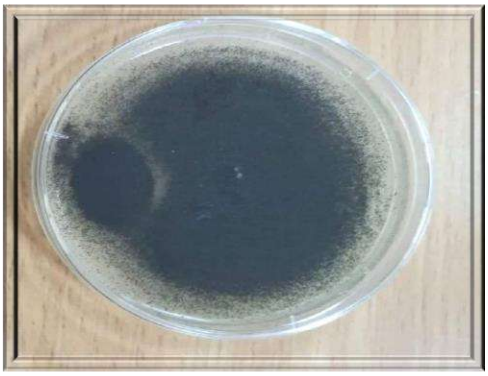


C - المستعمرة تحت المجهر الضوئي

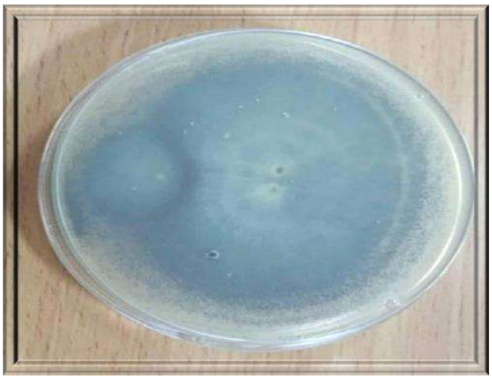
الشكل (1-4) الصفات المظهرية للفطر *Penicillium oxalicum* على وسط PDA وبدرجة الحرارة 25±ولمدة سبعة أيام

ثانيا : الفطر *Penicillium expansum*

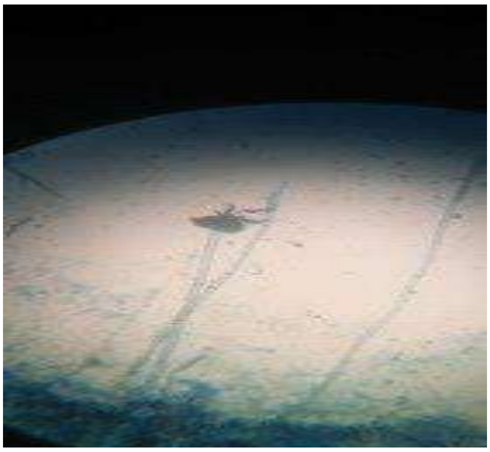
شخصت عزلة الفطر *Penicillium expansum* حسب مواصفاتها المظهرية Morphologica characteristics النامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar (PDA) إذ أعطت العزلة على الوسط شكلا حبيبيا ذات حواف بيضاء أو خضراء او صفراء ومناطق كونيدية في ضلال خضراء باهتة .كما تنمو المستعمرات بسرعة ويبلغ قطرها من 4.5 سم بعد 7 ايام عند درجة حرارة 25 درجة مئوية. اما السطح السفلي للمستمرة فكان ذو لون رمادي مائل الى السواد ،اما لون المستعمرة فكانت ذات لون اسود بعد 7 أيام من زراعتها كما موضح في الشكل (4-2) اما الحامل الكونيدي طويل ذو جدران ملساء وقد تكون خشنة .الصفات الواردة أعلاه تنطبق على نوع الفطر *Pencillium expansum* بحسب المفاتيح التصنيفية Moubasher (1993) .



A– وجه المستعمرة



B– ظهر المستعمرة

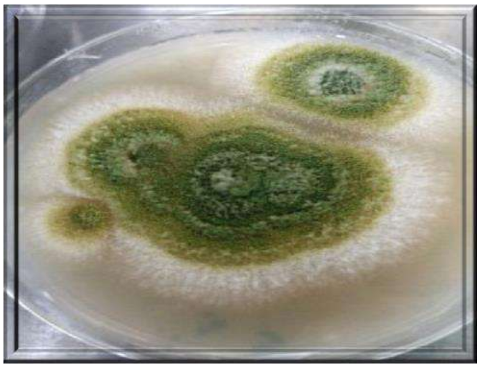


C -المستعمرة تحت المجهر الالكتروني

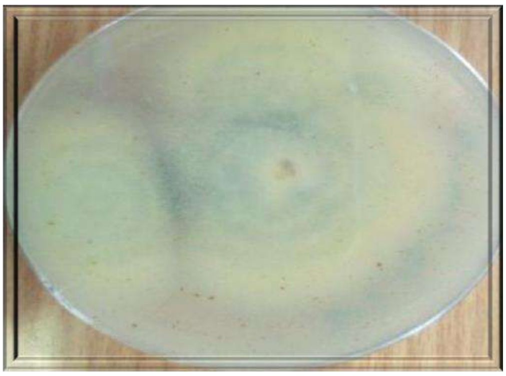
الشكل (2-4) الصفات المظهرية للفطر *expansum penicillium* على وسط PDA وبدرجة الحرارة 25 ± ولمدة سبعة أيام

ثالثا : الفطر ***Aspergillus flavus***

شخصت عزلة الفطر *Aspergillus flavus* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristics النامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط لونا اخضرا رقيقا ذات حواف صفراء او بيضاء ومناطق كونيدية في ضلال خضراء باهتة .كما تنمو المستعمرات بسرعة ويبلغ قطرها من 5.5 سم بعد 7 ايام عند درجة حرارة 25 درجة مئوية، اما السطح السفلي فظهر باللون الأبيض الشفاف الحامل الكونيدي عديم اللون ذات جدران رقيقة واقل خشونة والكونيديا كروية الشكل ، المواصفات الواردة أعلاه تنطق على نوع الفطر بحسب المفاتيح التشخيصية ل Robert واخرون (2011).



A ظهر المستعمرة



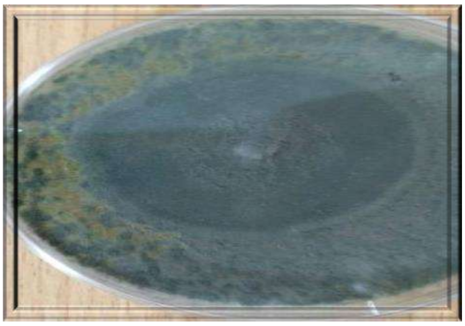
B -قاعدة المستعمرة

C- المستعمرة تحت المجهرالضوئي

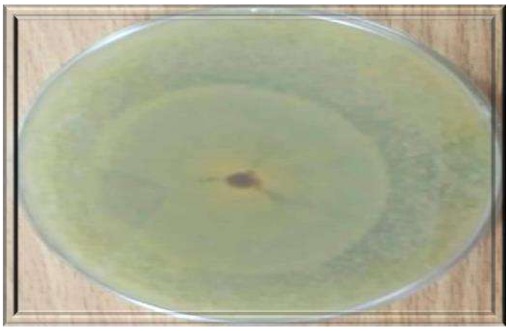
الشكل (4-3) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Aspergillus flavus* على وسط PDA وبدرجة الحرارة 25 ± ولمدة سبعة ايام

رابعا : الفطر *Cladosporium uredinicola*

شخصت عزلة الفطر *Cladosporium uredinicola* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristicsالنامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط لونا رمادي إلى اخضرا زيتوني ذات قاعدة سوداء لاتنمو المستعمرات عند درجة حرارة أعلى من 35 درجة مئوية، الحامل الكونيدي طويل وكثيف مقسم ومتفرع والكونيديا بيضوية الى كروية الشكل كما في الشكل (4-4) وهذا ينطبق مع سرحان (2012).



A -وجه المستعمرة



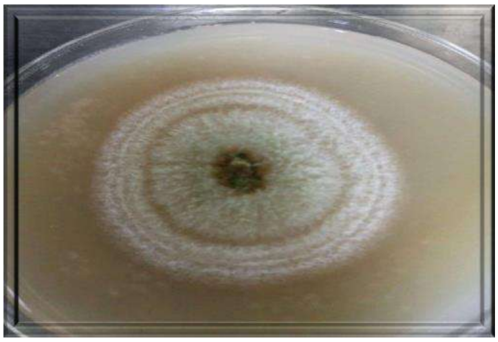
B -قاعدة المستعمرة

C - المستعمرة تحت المجهر الضوئي

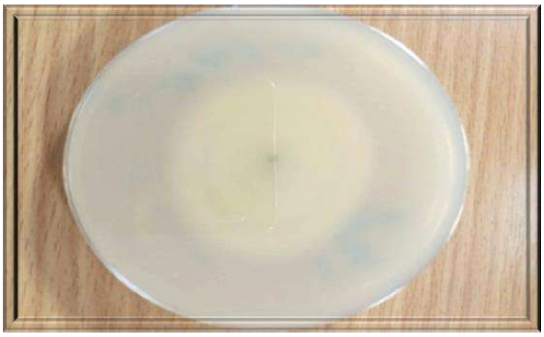
الشكل (4-4) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Cladosporium urendinicola* على وسط PDA وبدرجة حرارة 25 ولمدة سبعة أيام

خامسا : الفطر ***Aspergillus sydowii***

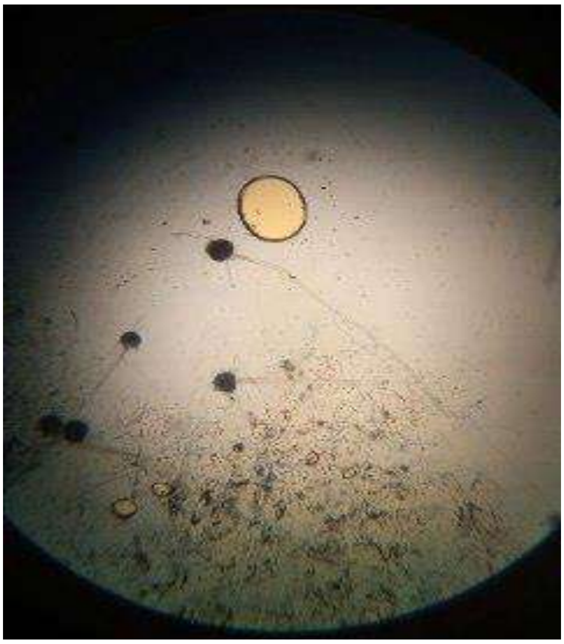
شخصت عزلة الفطر *Aspergillus sydowii* حسب مواصفاتها المظهرية Morphologica characteristicsالنامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط لونا اخضرا إلى رمادي رقيقة ذات هامش ابيض رقيق .كما تنمو المستعمرات ويبلغ قطرها من 1.7 -2سم بعد 7 ايام عند درجة حرارة 25 درجة مئوية. اما السطح السفلي فظهر باللون الأصفر الفاتح . الحامل الكونيدي طويل عديم اللون و، املس ، سميك نسبيا والكونيدات مخروطية الشكل غالبا . الصفات الواردة أعلاه تنطبق على نو الفطر بحسب المفاتيح التصنيفية Robert واخرون (2011).



A–وجه المستعمرة



B– ظهر المستعمرة

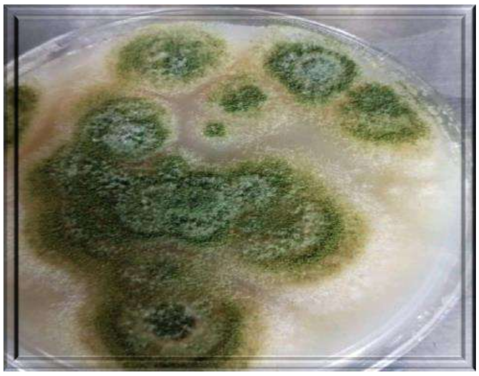


C - المستعمرة تحت المجهر الضوئي

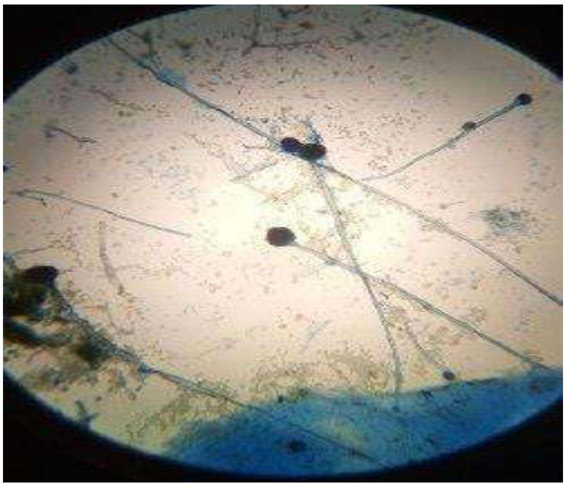
الشكل (4-5) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Aspergillus sydowi*i على وسط PDA وبدرجة حرارة 25 ± 2 ولمدة سبعة أيام

سادسا : الفطر *Aspergillus oryzae*

شخصت عزلة الفطر *Aspergillus Oryzae* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristicsالنامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط لونا اخضرا . يصعب تمييزه عن *A.flavus* ذات حواف بيضاء الحامل الكونيدي طويل وشفاف ذات جدران خشنة الرؤوس الكونيدية خضراء مصفرة تصبح فيما بعد رمادي الحوصلة كروية الشكل .كما تنمو المستعمرات ويبلغ قطرها من 1.7- 2 سم بعد 7 ايام عند درجة حرارة 25 درجة مئوية،اما السطح السفلي فيظهر باللون الأخضر المائل الى الأصفر كما في الشكل (4-6) . وهذه المواصفات مطابقة لما ذكره Samson واخرون (2011) .



A - ظهر المستعمرة B - قاعدة المستعمرة

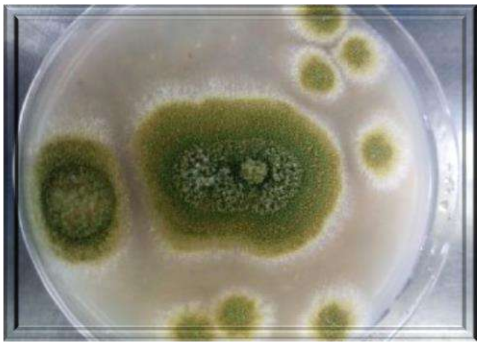


C - المستعمرة تحت المجهر الضوئي

الشكل (4-6) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Aspergillus oryzae* على وسط PDA وبدرجة حرارة 25 ± 2 ولمدة سبعة أيام

سابعا : الفطر *Aspergillus tamarii*

شخصت عزلة الفطر *Aspergillus tamarii* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristicsالنامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة مستعمرات يبلغ قطرها 5-6 سم بعد 7 ايام عند 25 درجة مئوية الهامش ابيض المناطق المخروطية صفراء باهتة وخضراء تظهر الكونيدات تحت المجهر الإلكتروني ناشئة من خيوط الركيزة عديمة اللون مع ترقق فجائي في قاعدة الحويصلة خشنة تشع الرؤوس المخروطية بشكل فضفاض شكل الكونيديا اسطوانية إلى الكمثري .كما في الشكل (4-7) .(Moubasher ، 1993) .



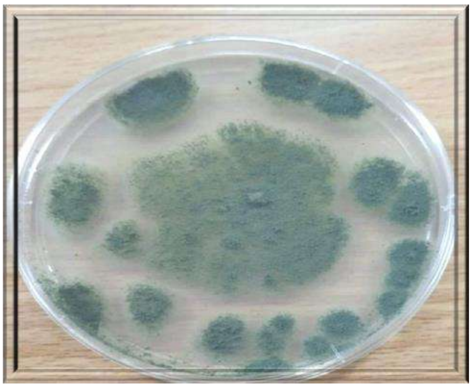
A - ظهر المستعمرة B - قاعدة المستعمرة

C - المستعمرة تحت المجهرالضوئي

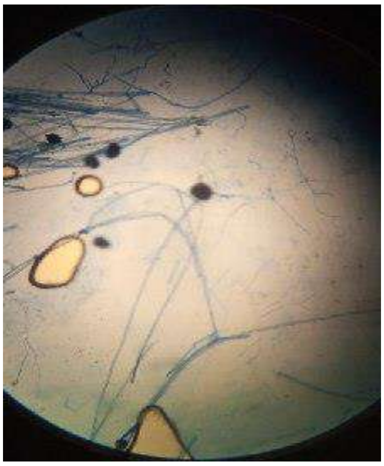
الشكل (4-7) المواصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Aspergillus tamarii* على وسط PDA وبدرجة حرارة 25± 2 ولمدة سبعة الأيام

ثامنا : الفطر *Aspergillus nomius*

تم تشخيص عزلة الفطر *Aspergillus nomius* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristicsالنامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط لونا اخضرا بني . اما السطح السفلي فظهر باللوناالاخضرالمائل الى الرمادي . الحامل الكونيدي طويل عديم اللون واملس ، سميك نسبيا والكونيدات كروية ذات شكل املس واكبر من تلك التي تنتجها بالاصناف الأخرى الشكل غالبا كما في الشكل (4-8) . الصفات الواردة أعلاه تنطبق على نوع الفطر بحسب المفاتيح التصنيفية Robert واخرون (2011) .



A– وجه المستعمرة B– ظهر المستعمرة



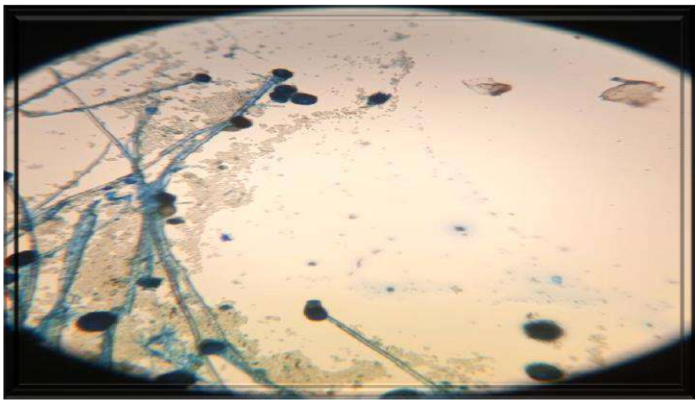
C- المستعمرة تحت المجهر الضوئي

الشكل (4-8) المواصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Aspergillus nomius* على سط PDA وبدرجة حرارة 25 ± 2 ولمدة سبعة أيام

تاسعا : الفطر *Alternaria triticina*

تنمو المستعمرة على وسط PDA بدرجة حرارة 30 م ويبلغ قطرها خلال أسبوع 75 ملم تنمو في البداية بلون أبيض ثم تتحول الى الرمادي المخضر ، قاعدة المستعمرة كريمي ثم تتحول الى الأسود أو الرمادي ، تظهر الكونيدات تحت المجهر على شكل سلاسل والكونيدة شكل مضرب التنس (صولجاني) تحتوي على أخاديد عرضية وطولية كما في الشكل (4-9) (Campbell واخرون ،2013) .

A– وجه المستعمرة B - قاعدة المستعمرة

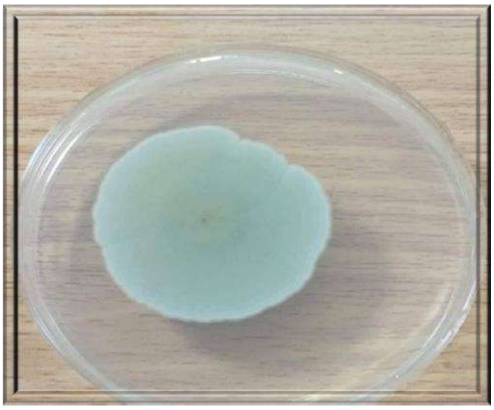


C- المستعمرة تحت المجهر الضوئي

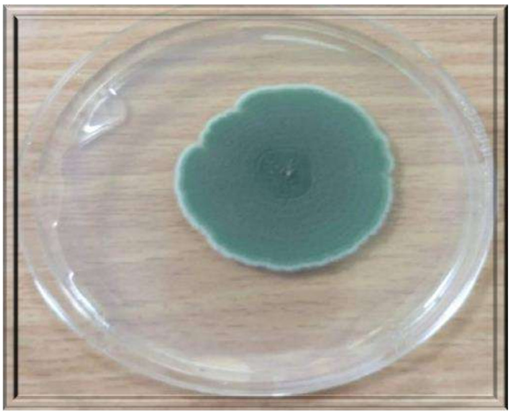
الشكل (4-9) المواصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Alternaria triticina* على وسط PDA وبدرجة حرارة 25 ± 2 ولمدة سبعة أيام

عاشرا : الفطر *Penicillium griseofulvum*

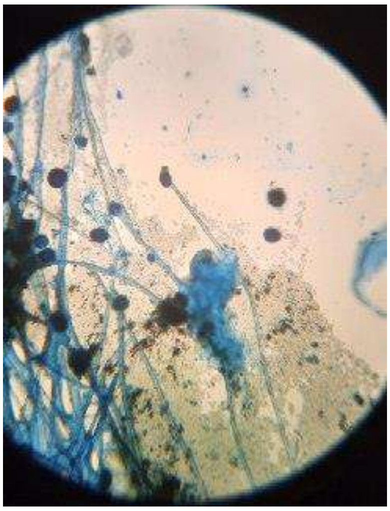
شخصت عزلة الفطر *Pencillium griseofulvum* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristics النامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط مستعمرة تميل الى اللون الزيتوني ذو هامش ابيض رقيق .كما تنمو المستعمرات ويبلغ قطرها من 1.6 سم بعد 7 ايام عند درجة حرارة 25 درجة مئوية، اما السطح السفلي فظهر باللون الاخضر الفاتح . الحامل الكونيدي طويل املس ، سميك نسبيا والكونيدات كروية الشكل صغيرة كما في الشكل (4-10) . الصفات الواردة أعلاه تنطبق على نوع الفطر بحسب المفاتيح التصنيفية Dierckx (1901).



B-قاعدة المستعمرة



A-ظهر المستعمرة



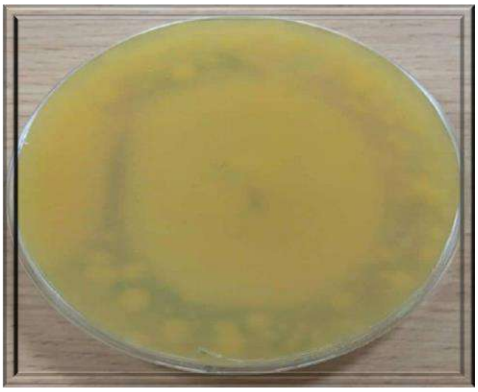
C-المستعمرة تحت المجهرالضوئي

الشكل (4-10) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Penicillium griseofulvum* *على وسط* PDA وبدرجة حرارة 25 ± 2 ولمدة سبعة أيام

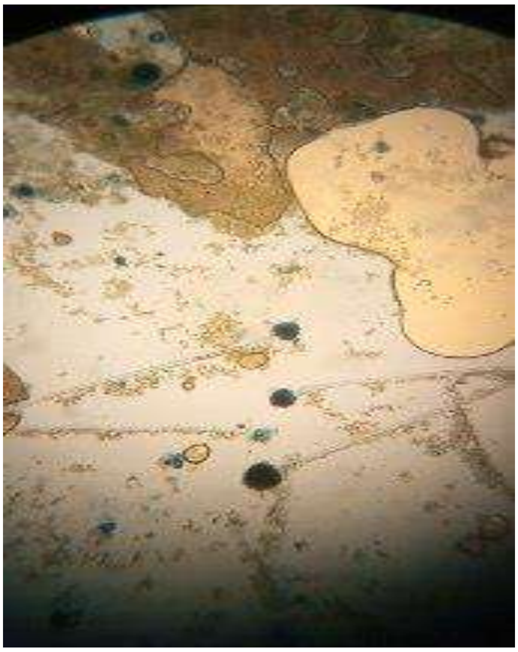
الحادي عشر : الفطر *Aspergillus austwickii*

شخصت عزلة *austwickii Aspergillus* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristicsالنامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط مستعمرة تميل الى اللون الاخضر محاطة بهالة صفراء ، اما السطح السفلي فظهر باللون البني الفاتح . الحامل الكونيدي طويل شفاف املس سميك نسبيا والكونيدات كروية الشكل صغيرة كما في الشكل (11-4) الصفات الواردة أعلاه تنطبق على نوع الفطربحسب المفاتيح التصنيفية Houbraken (2019) .

A– وجه المستعمرة



B - قاعدة المستعمرة



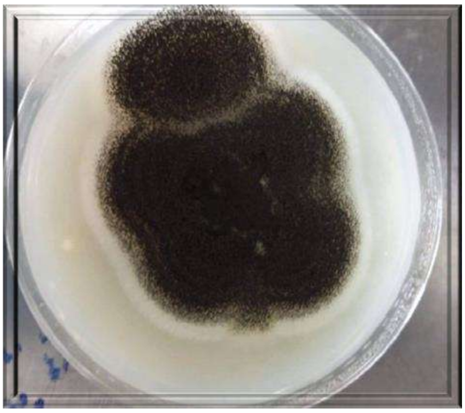
C - المستعمرة تحت المجهر الضوئي

الشكل (4-11) الصفات المظرية والمجهرية للفطر *Aspergillus austwickii* على وسط PDA بدرجة حرارة 25 ± 2 درجة مئوية ولمدة سبعة أيام

الثاني عشر : الفطر *Cladosporium cladosporioides*

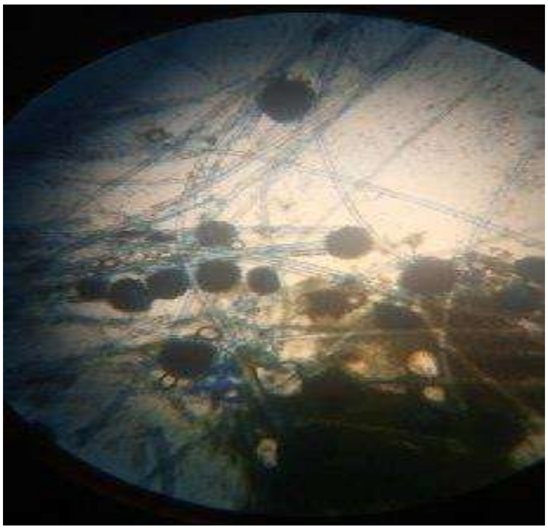
شخصت عزلة الفطر *Cladosporium cladosporioides* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristicالنامية على وسط الزرعي Potate Dextro Agar اذ تنمو المستعمرات التي يصل حجمها إلى 2.2 سم بعد 7 ايام عند درجة 25 درجة مئوية ، اسود داكن ، رقيق الهامش سطح مخملي ، اما السطح السفلي يظهر باللون الرمادي ،اما تحت المجهر االضوئي بقوة 10

فتظهر االكونيديا في سلاسل طويلة متفرعة معظمها من خلية واحدة ، بيضاوي الشكل إلى ليموني إلى بني زيتوني شاحب أملس كما في الشكل (4-12) وهذا ينطق مع المفاتيح التصنيفية Moubasher (1993).



A - ظهر المستعمرة

B - قاعدة المستعمرة



C - المستعمرة تحت المجهر الضوئي

الشكل (4-12) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Cladosporium cladosporioides* على وسط PDA وبدرجة حرارة 25 ولمدة سبعة ايام

الثالث عشر : الفطر *Penicillium brevicompatum*

شخصت عزلة الفطر *Penicillium brevicompatum* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristics النامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar اذ تنمو المستعمرات بشكل مقيد يصل حجمها 2.5-3 سم بعد 7 ايام عند درجة 25 درجة مئوية ، وعادة ما تكون

مخملية ، مجعدة شعاعيًا ، خضراء داكنة ، السطح السفلي اخضر مائل الى الاسود ،اما تحت المجهر الضوئي بقوة 10 فتظهر مناطق كونيديّة تنضح في شكل قطرات واضحة صفراء باهتة كما في الشكل (4-13) وهذا ينطق مع المفاتيح التصنيفية Moubasher (1993) .

A– وجه المستعمرة

B - قاعدة المستعمرة

C - المستعمرة تحت المجهر االضوئي

الشكل (4-13) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Penicillium brevicompatum* *على وسط* PDA بدرجة حرارة 25 ولمدة سبعة أيام

الرابع عشر : الفطر *Fusarium proliferatum*

شخصت عزلة الفطر *Fusarium proliferatum* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristicsالنامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط مستعمرة ، زغبية ذو هامش ابيض رقيق .كما تنمو المستعمرات عند درجة حرارة 25

درجة مئوية. اما السطح السفلي فظهر باللون الرمادي الفاتح مائل الى الأصفر . الحامل الكونيدي طويل املس ، والكونيدات كروية الشكل (4-14). وهذا ينطبق مع المفاتيح التصنيفية لكل من Leslie و Summerell (2006) و Gerlach و Nirenberg (1982)

A - ظهر المستعمرة

B - قاعدة المستعمرة

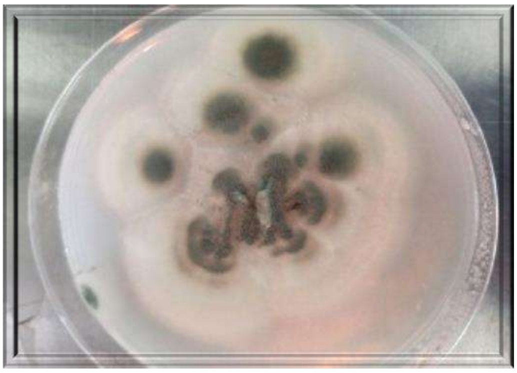
C - المستعمرة تحت المجهر الضوئي

الشكل (4-14) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Fusarium venenatum* على وسط PDA بدرجة حرارة 25 ولمدة سبعة أيام

الخامس عشر : الفطر -*Aspergillus caespitosus*

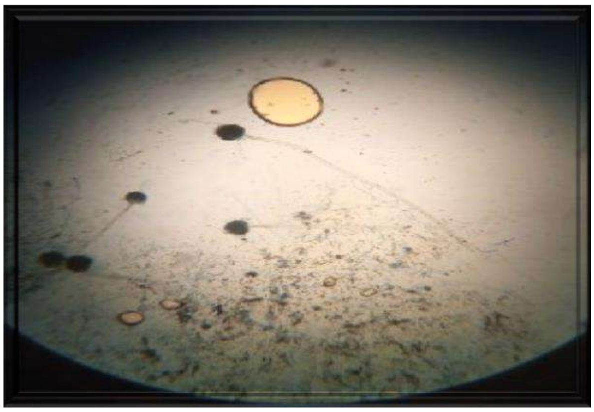
شخصت عزلة الفطر *Aspergillus caespitosus* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristicsالنامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط مستعمرة تميل الى اللون الأخضر ذو هامش ابيض رقيق ،كما تنمو المستعمرات عند

درجة حرارة 25 درجة مئوية، اما السطح السفلي فظهر باللون الرمادي الفاتح ، الحامل الكونيدي طويل املس ، والكونيدات كروية الشكل . الصفات الواردة أعلاه تنطبق على نوع الفطر بحسب المفاتيح التصنيفية Robert واخرون (2011).



A–وجه المستعمرة

B- قاعدة المستعمرة



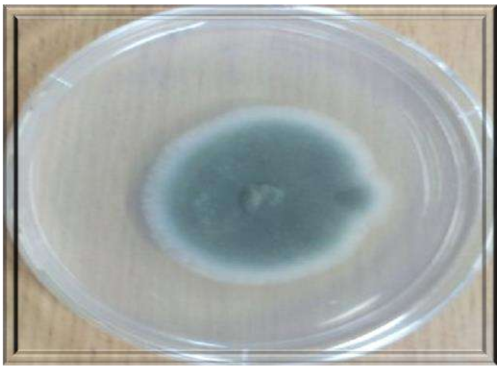
المستعمرة تحت المجهر الضوئي

الشكل (4-15) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Aspergillus caespitosus* على وسط PDA وبدرجة حرارة 25 ولمدة سبعة أيام

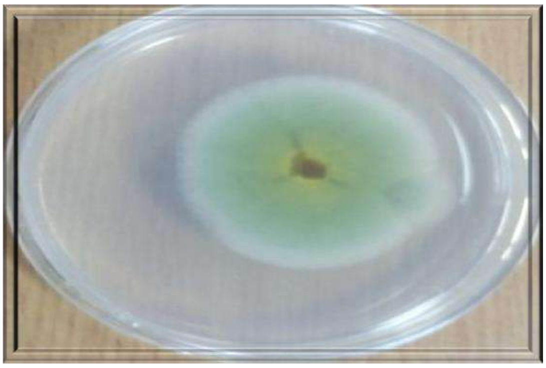
السادس عشر: الفطر *Aspergillus versicolor*

شخصت عزلة الفطر *Aspergillus versicolor* حسب مواصفاتها المظهرية Morphological characteristicsالنامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ تنمو المستعمرات التي يبلغ قطرها 1.5 سم بعد 7 أيام عند 25 درجة مئوية ، مخملية ، أبيض الهامش مناطق كونيدية مخضرة

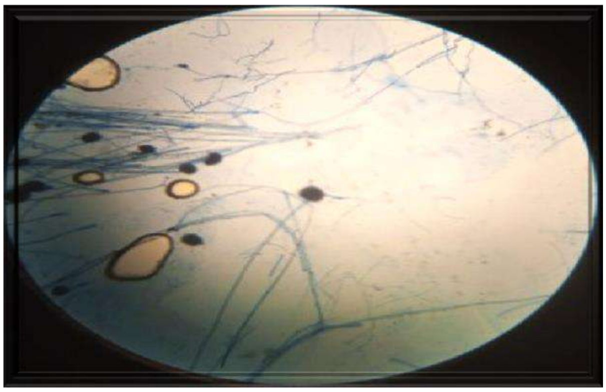
مختلطة مع خيوط صفراء ، اما السطح السفلي فيظهر باللون الأخضر مائل الى الرمادي . الحامل الكونيدي طويل كما في الشكل (4-16) وهذا يتطابق مع وصف Robert واخرون (2011) .



A– وجه المستعمرة



B– ظهر المستعمرة



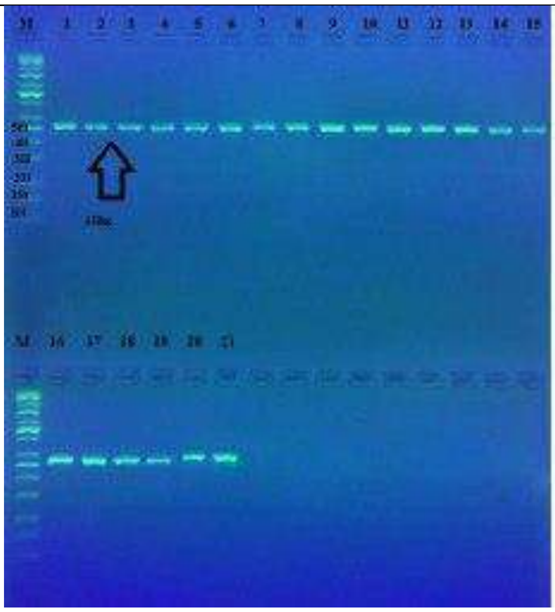
المستعمرة تحت المجهر االضوئي

الشكل (4-16) الصفات المظهرية والمجهرية للفطر *Aspergillus versicolor* على وسط PDA وبدرجة حرارة 25 ولمدة سبعة أيام

4-3-2 التشخيص الجزيئي للعزلات الفطرية المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية

تضمنت الدراسة تشخيص 18 فطر معزول من المواد الغذائية منتج لسم الافلاتوكسين وقد سجلت في البنك الجيني العالمي اذ ان استخدام الطرائق التقليدية لاتعطي نتائج كافية في معظم الحالات وذلك بسبب اختلاف النمط الظاهري وتعدد الاشكال فضلا عن اختلاف الظروف البيئية ، فقد تم تشخيص العزلات

جزيئيا باستخدام تقنية سلسلة البلمرة (PCR) اعتمادا على بواديء (Primers) خاصة بالتشخيص الجزيئي .أوضحت نتائج التشخيص الجزيئي مدى التقارب والتشابه بين الفطريات المسجلة وقد استخدمت الشجرة الوراثيه لمعرفة ارتباط الأنواع الخاصة لكل جنس مع النوع المطلوب تحديده فضلا عن الخصائص المظهرية كطريقة للتوصل إلى التشخيص الدقيق إضافة إلى التشخيص بالطريقة التقليدية . كما أن تحديد النمط الجيني مهم جدا في تصنيف الفطريات وقد استعملت منطقة SSU بصورة كبيرة في التشخيص الجزيئي والتصنيف وذلك لسهولة تضخيمها مدى كبير من التباين حتى في الأنواع ذات الصلة العالية وقد تم استخدام تضخيم منطقة SSU الخاصة ب rRNA لغرض تحديد الأنواع حيث تم فحص تسلسل الحمض النووي وذلك للتأكد من تسلسل النيوكليدات ثم بعد ذلك مقارنتها بالسلالات العالمية الأخرى .وتم استخدام برنامج NCBI - BLAST- Query , nucleotide- online وقد أعطى نتائج دقيقة بمقارنتها مع السلالات العالمية كما تم استخدام برنامج التحليل الوراثي التطوري الجزيئي) BLAST (الذي يعد من التطبيقات التي تم تصميمها بصورة خاصة للتحليل المقارن لتسلسل الجينات المتماثلة والعلاقات التطورية والنمط الذي يحدث في تطور الحمض النووي والبروتين وكذلك يعطي برنامج MEGA الكثير من التسهيلات عبر بيانات تسلسلية من مستويات بيانات شبكة الإنترنت التي يمكن عرضها على شكل اشجار (Kumar واخرون، 2008).



شكل (4-33) الترحيل الكهربائي باستخدام هلام الاكاروز والذي يظهر نتائج فحص PCR وذلك بتضخيم جين ITS الذي يتضمن كل من البرايمر ITSF ,ITSR

لغرض تأكيد التشخيص المظهري للفطريات ال 18 المنتجة لسم الافلاتوكسين اختبرت عزلة لكل فطر لغرض تشخيصها جزئيا اذ ان جميع الفطريات المعزولة في هذه الدراسة قد احتوت على حزمة مفردة من الحامض النووي المستخلص وقد تم قياس نقاوته بواسطة استخدام جهاز الطيف المرئي Spectrophometerتحت أطوال موجة 880 و 890 نانوميتر وان نتائج التحليل للجين ribosomal

RNA 18Sلمنطقة SSU موجبة لجميع الفطريات وتم استخدام نفس البادئات في تحديد تتابع القواعد النايتروجينية لجميع الفطريات المراد تشخيصها والتي أودعت في قاعدة بيانات Genbank التابعة للمركز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية (National Center of Biotechnology Information NCBI) أظهرت النتائج أن جميع الفطريات تفاعلت جينوماتها مع البادئ وتطابقت مع نظيراتها بنسبة 99-100% وتعد اول تسجيل لهذه الأنواع من العراق بحسب ماموضح في معلومات التسجيل ودراسة التقارب والتشابه بين الفطريات المسجلة وقد حدد العزلة الاولى *Penicillium oxalicum*الرمز التسلسلي MT03303 والعزلة الثانية *Penicillium expansim* الرمز التسلسلي AF033479 والعزلة الثالثة *Aspergillus flavus* الرمز التسلسلي MZ35787 والعزلة الرابعة *Cladosporium Uredinicola*الرمز التسلسلي JN088229 والعزلة الخامسة *Aspergillus Sydowii* الرمز التسلسلي LC094427 والعزلة السادسة *Aspergillus Oryzae* الرمز التسلسلي MH66405 والعزلة السابعة *Aspergillus Tamarii* الرمز التسلسلي MT25485 والعزلة الثامنة *Aspergillus nomius* الرمز التسلسلي MK45036 والعزلة التاسعة *Alternaria triticina* الرمز التسلسلي JX418360 والعزلة العاشرة *Penicillium griseofulvum* الرمز التسلسلي MF03465 والعزلة الحادية عشر *Aspergillus austwickii*الرمز التسلسلي OM72177 والعزلة الثانية عشر *Aspergillus flavus* الرمز التسلسلي MW51015 والعزلة الثالثة عشر *Cladosporium cladosporioides* الرمز التسلسلي MF47593 والعزلة الرابعة عشر *Penicillium brevicompatum* الرمز التسلسلي MT155892والعزلة الخامسة عشر *Fusarium proliferatum* الرمز التسلسلي ON146192 والعزلة السادسة عشر *Aspergillus caespitosus* الرمز التسلسلي KU866669 والعزلة السابعة عشر *Aspergillus flavus* الرمز التسلسلي MK64522 والعزلة الثامنة عشر *Aspergillus versicolor*الرمز التسلسليMT49745 كما موضح في الجدول (4-4) .

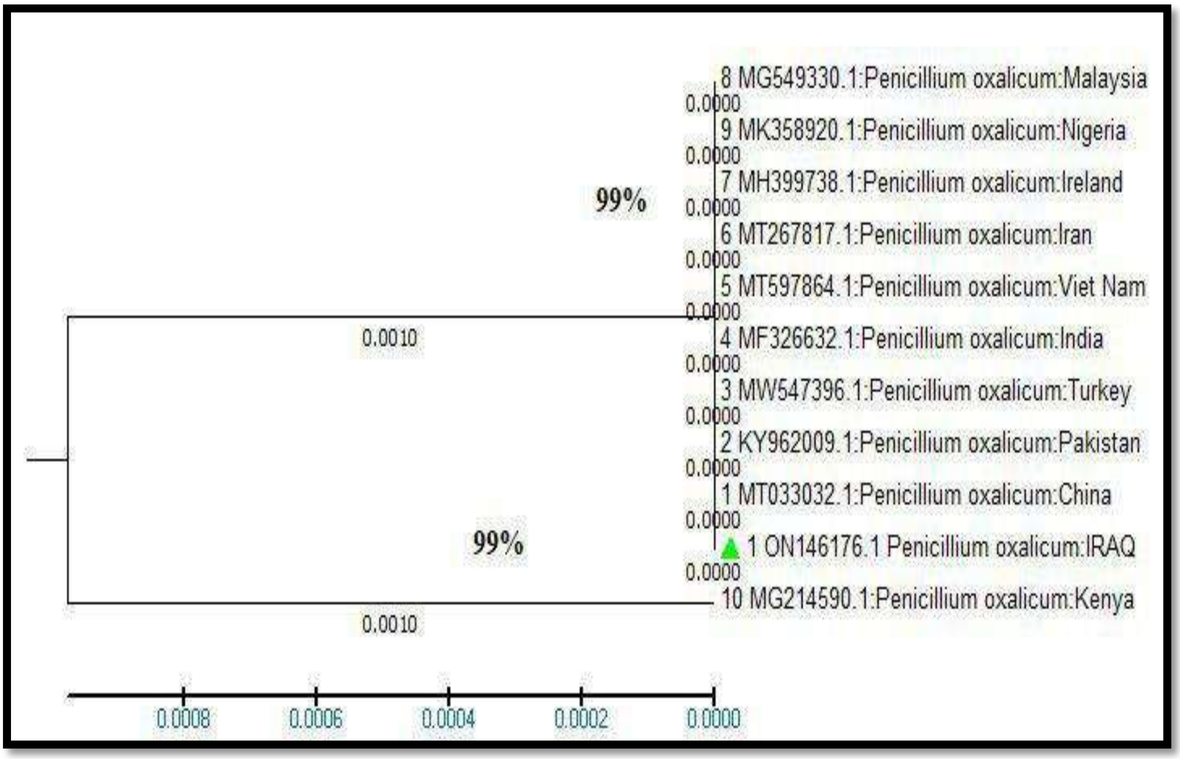
الجدول (4-4) الأرقام التسلسلية للعزلات الفطرية في البنك الجيني GinBank

ت	العزلة	اسم الفطر	الرقم التسلسلي في البنك الجيني	رقم الملحق
1	العزلة الأولى	*Penicillium oxalicum*	MT03303	ملحق2

2	العزلة الثانية	*Penicillium expasum*	AF033479	ملحق 3
3	العزلة الثالثة	*Aspergillus flavus*	MZ35787	ملحق 4
4	العزلة الرابعة	*Cladosporium* Uredinicola	JN088229	ملحق 5
5	العزلة الخامسة	*Aspergillus sydowii*	LC094427	ملحق 6
6	العزلة السادسة	*Aspergillus oryzae*	MH66405	ملحق 7
7	العزلة السابعة	*Aspergillus tamarii*	MT25485	ملحق 8
8	العزلة الثامنة	*Aspergillus nomius*	MK45036	ملحق 9
9	العزلة التاسعة	*Alternaria triticina*	JX418360	ملحق 10
10	العزلة العاشرة	*Penicillium griseofulvum*	MF03465	ملحق 11
11	العزلة الحادية عشر	*Aspergillus austwicki*	OM72177	ملحق 12
12	العزلة الثانية عشر	*Aspergillus flavus*	MW51015	ملحق 13
13	العزلة الثالثة عشر	*Cladosporium cladosporioides*	MF47593	ملحق 14
14	العزلة الرابعة عشر	*Penicillium brevicompatum*	MT155892	ملحق 15
15	العزلة الخامسة عشر	*Fusarium proliferatum*	ON146192	ملحق 16
16	العزلة السادسة عشر	*Aspergillus flavus*	KU866669	ملحق 17
17	العزلة السابعة عشر	*Aspergillus caespitosus*	MK64522	ملحق 18
18	العزلة الثامنة عشر	*Aspergillus versicolor*	MT49745	ملحق 19

1-2-3-4 تحديد تسلسل القواعد النتروجينة وتحليل المعلوماتية الحيوية والشجرة الوراثية Phylogeny

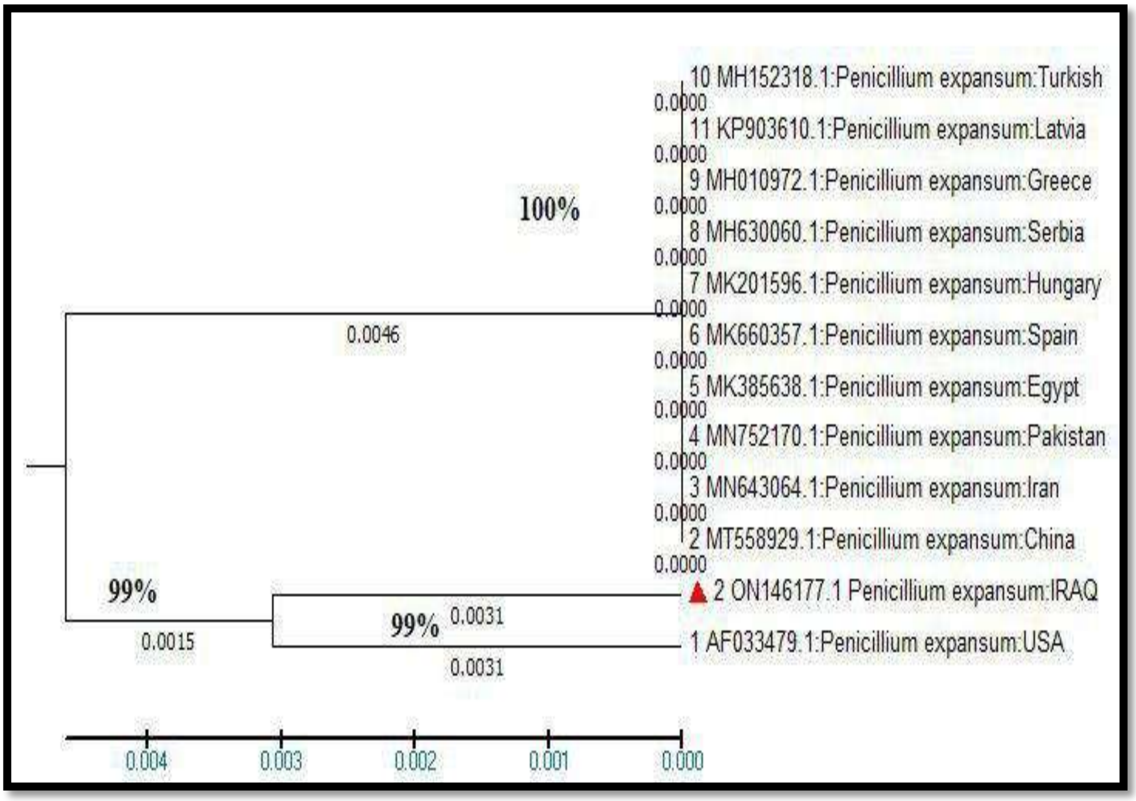
بينت نتائج تحليل تسلسل القواعد النايتروجينية (Nucleotide sequence) لحزم الحامض النووي المضاعفة وباستعمال برنامج Mega/6 و N. S. B. I وبمقارنتها مع البيانات المتوفرة في المركز العالمي لمعلومات التقانات الحياتية (NCBI) والعائدة للفطر *Penicillium oxalicum* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني والتي تحمل الرقم التسلسلي ON146176 مطابقة مع العزلة *Penicillium oxalicum* المعزولة في الصين والتي تحمل الرقم التسلسلي MT033032 وباكستان التي تحمل الرقم التسلسلي KY962009 وتركيا التي تحمل الرقم التسلسلي MW547396 بنسبة 99% . ويتطابق مع عزلات أخرى معزولة من دول مختلفة هي الهند التي تحمل الرقم التسلسلي MF326632 وفيتنام وإيران وايرلندا ، نيجيريا وماليزيا بنسبة 98% .



الشكل (4-17) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الاولى للفطر *Penicillium oxalicum* (محددة بمثلث اخضر) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-18) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *sumPenicillium expan* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146177 مطابقة مع العزلة المعزولة من الولايات

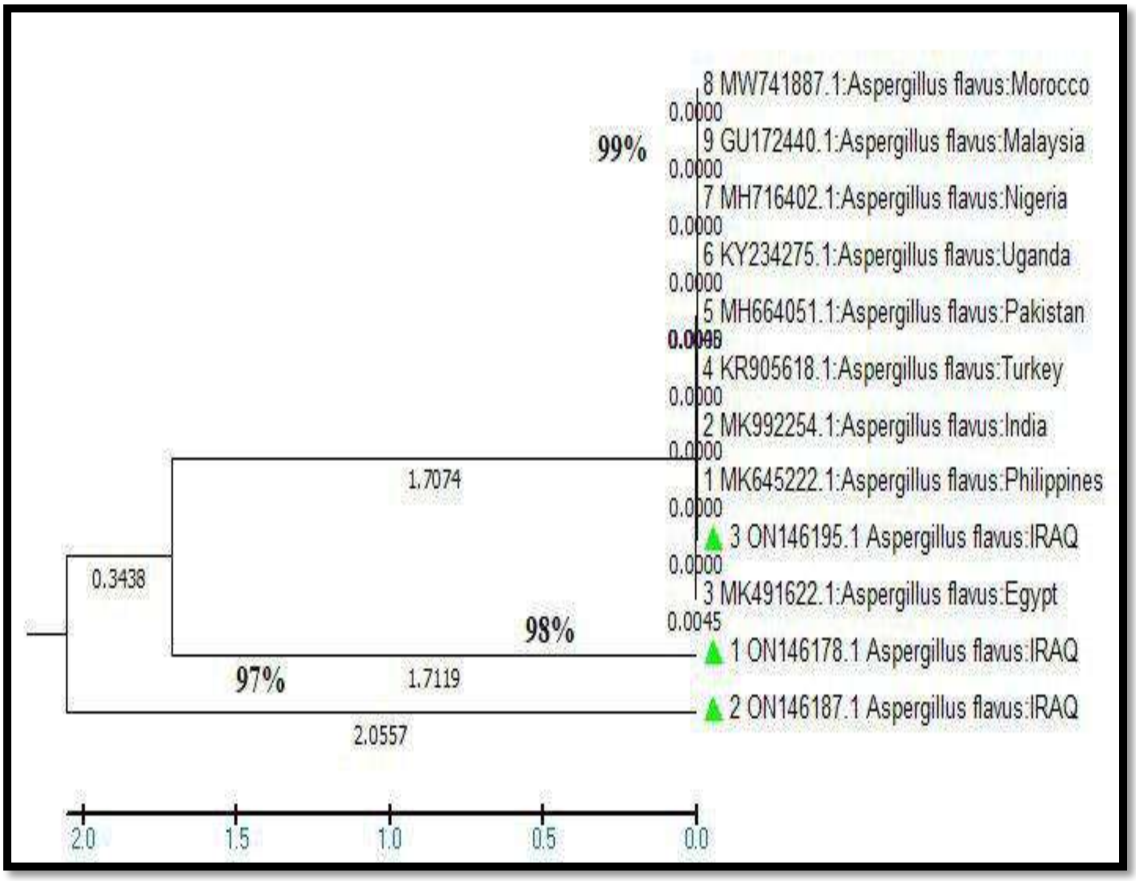
المتحدة الأمريكية ذات الرقم التسلسلي AF033479 والعزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي والعزلة المعزولة من إيران ذات الرقم التسلسلي بنسبة 99% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من باكستان ومصر واسبانيا هنغاريا صربيا الإغريق لاتيفيا وتركيا بنسبة 100% .



الشكل (4-18) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الاولى للفطر *Penicillium muexpans*
(محددة بمثلث احمر) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-19) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus flavus* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146178 المتمثلة بثلاث عزلات مطابقة مع العزلة المعزولة من

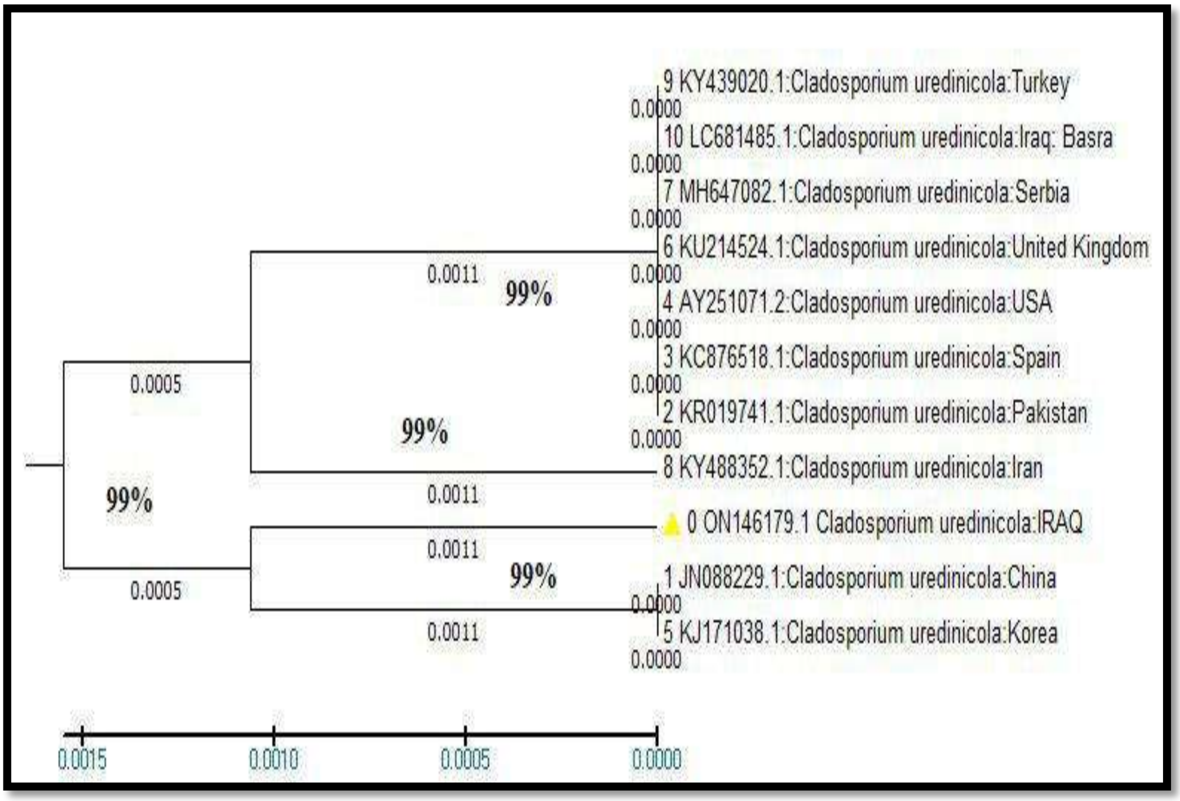
الفلبين ذات الرقم التسلسلي MK645222 والعزلة المعزولة من الهند ذات الرقم التسلسلي MK992254والعزلة المعزولة من مصر ذات الرقم التسلسلي MK49162 بنسبة 99% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من تركيا ، باكستان ، أوغندا ، نيجيريا ، ماليزيا والمغرب بنسبة 98 %.



الشكل (4-19) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الثالثة للفطر *Aspergillus flavus* (محددة بمثلث اخضر) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-20) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Cladosporium Uredinicola* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146179 مطابقة مع العزلة المعزولة من الصين ذات

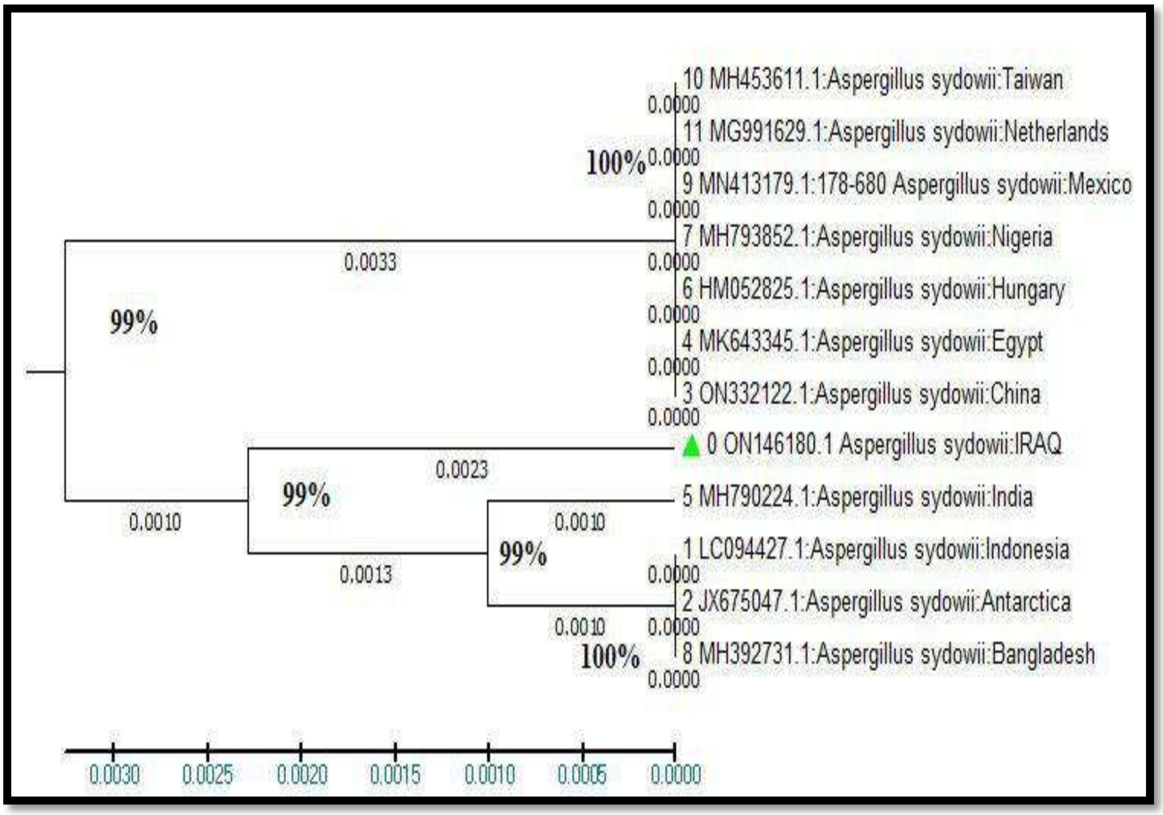
الرقم التسلسلي JN019741 والعزلة المعزولة من باكستان ذات الرقم التسلسلي KR019741 والعزلة المعزولة من اسبانيا ذات الرقم التسلسلي KC87651 بنسبة 99% . بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى بنسبة من USA ، كوريا ، المملكة المتحدة ، صربيا ،بصرة – العراق وتركيا 99%.



الشكل (4-20) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الرابعة للفطر *Cladosporium uredinicola* (محددة بمثلث اصفر) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-21) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus sydowii* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146180 مطابقة مع العزلة المعزولة من اندونيسيا ذات الرقم التسلسلي LC094427 والعزلة المعزولة من انتاركتيكا ذات الرقم التسلسلي JX675047 والعزلة

المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي ON332122 بنسبة 100% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى بنسبة من مصر ، الهند ، هنغاريا ، نيجيريا ، بنكلادش مكسيك، هولندا وتايوان بنسبة 99% .

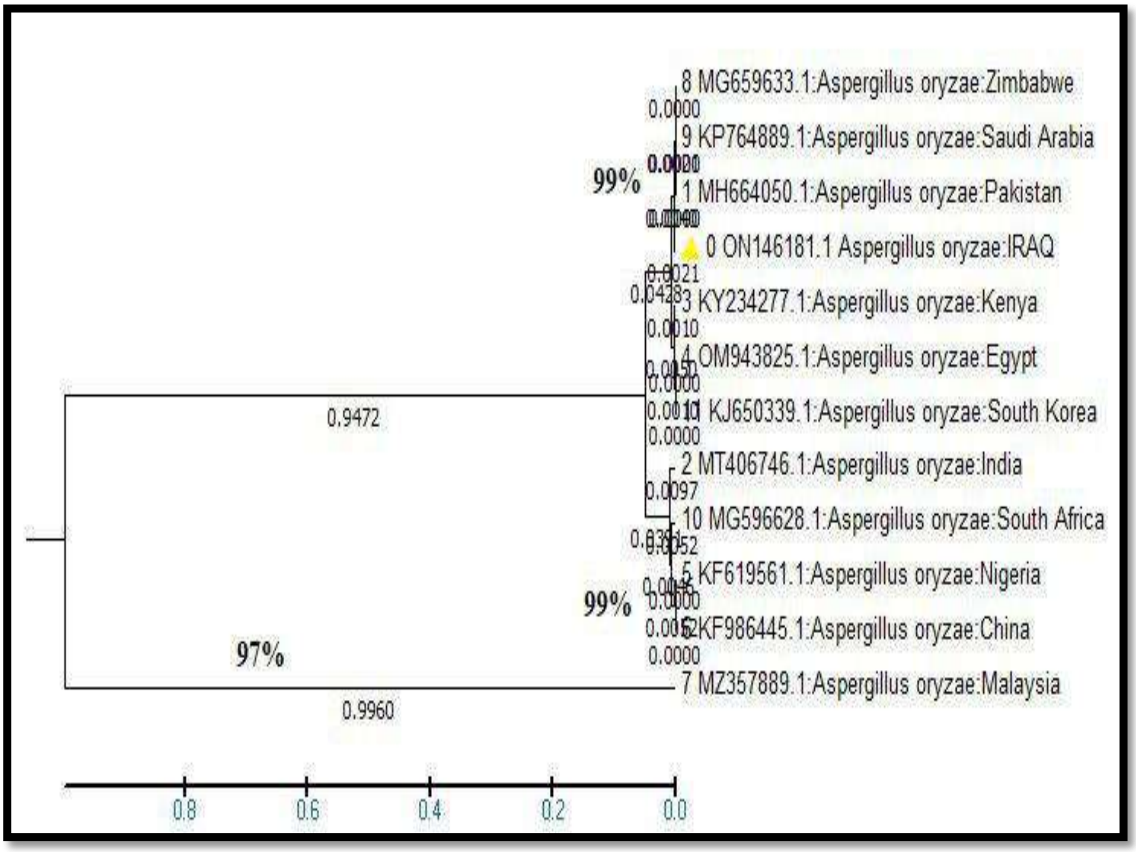


الشكل (4-21) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الخامسة للفطر *Aspergillus sydowii*

(محددة بمثلث اخضر) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-22) الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus Oryzae* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146181 مطابقة مع العزلة المعزولة من باكستان ذات الرقم التسلسلي MH664050 والعزلة المعزولة من الهند ذات الرقم التسلسلي MT406746 والعزلة

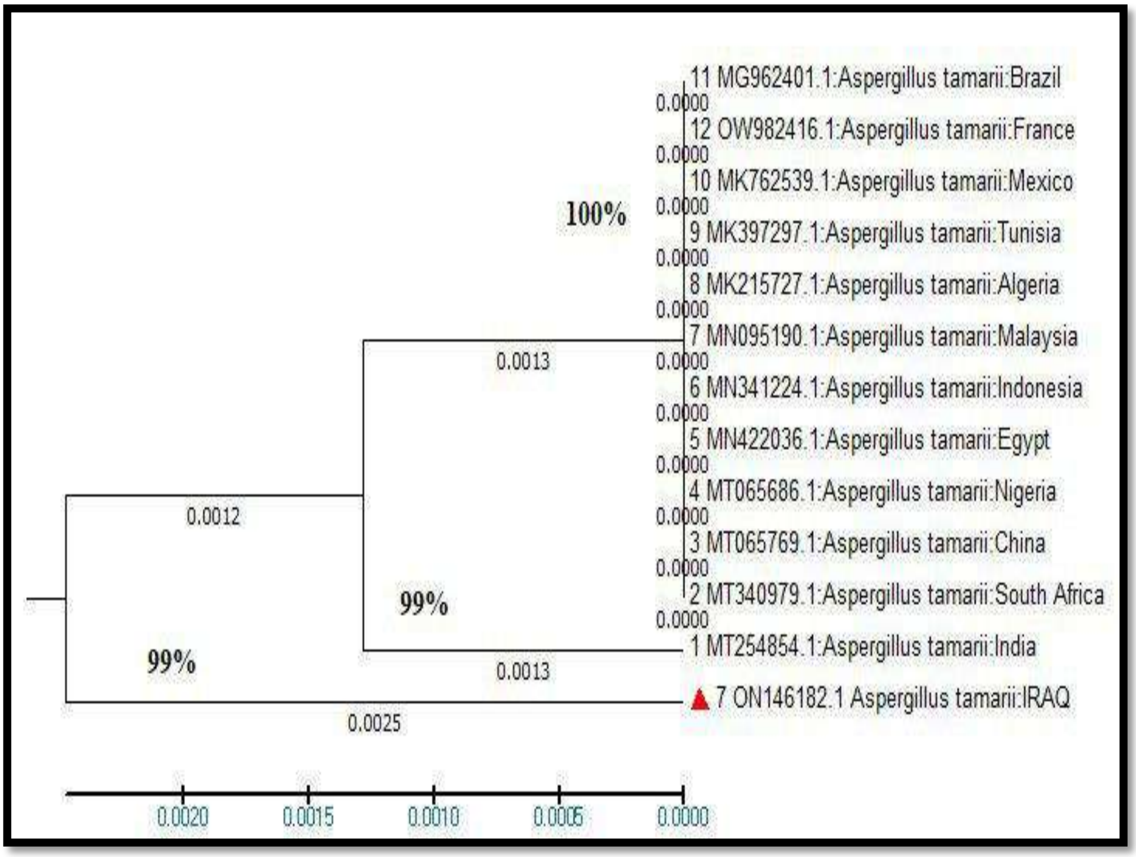
المعزولة من كينيا ذات الرقم KY234277 بنسبة 99% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من مصر ، نيجيريا ، الصين ،ماليزيا ، زيمبابوي ،السعودية وكوريا الجنوبية بنسبة 99% .



الشكل (4-22) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية السادسة للفطر *Aspergillus oryzae* (محددة بمثلث اصفر) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-23) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus tamarii* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146182 مطابقة مع العزلة المعزولة من الهند ذات الرقم التسلسلي MT254854 والعزلة المعزولة من كوريا الجنوبية ذات الرقم التسلسلي MT340979

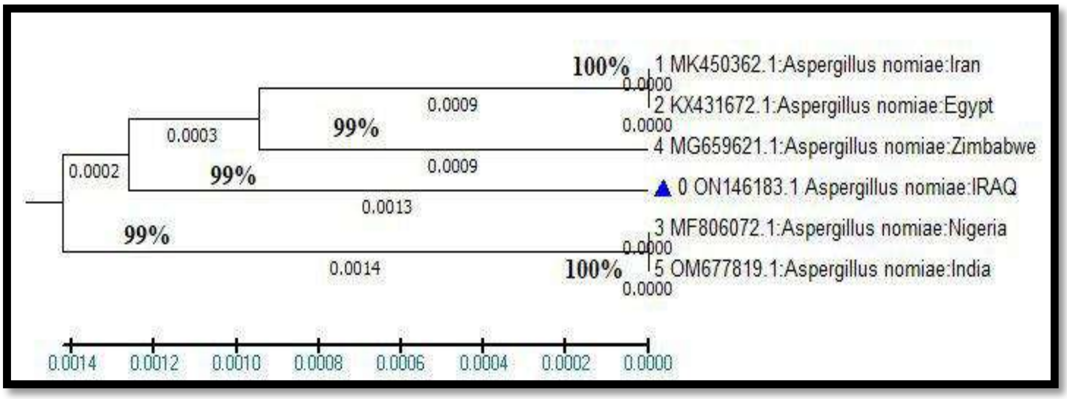
والعزلة المعزولة من الصين ذات الرقم MT065769 بنسبة 100% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من مصر ، نيجيريا ، اندونيسيا ، ماليزيا، الجزائر، تونس ،مكسيك، فرنسا والبرازيل بنسبة 99% .



الشكل (4-23) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية السابعة للفطر *Aspergillus tamarii* (محددة بمثلث احمر) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-24) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus nomius* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146183 مطابقة مع العزلة المعزولة من ايران ذات الرقم التسلسلي MK450362 والعزلة المعزولة من مصر ذات الرقم التسلسلي KX431672 والعزلة المعزولة من

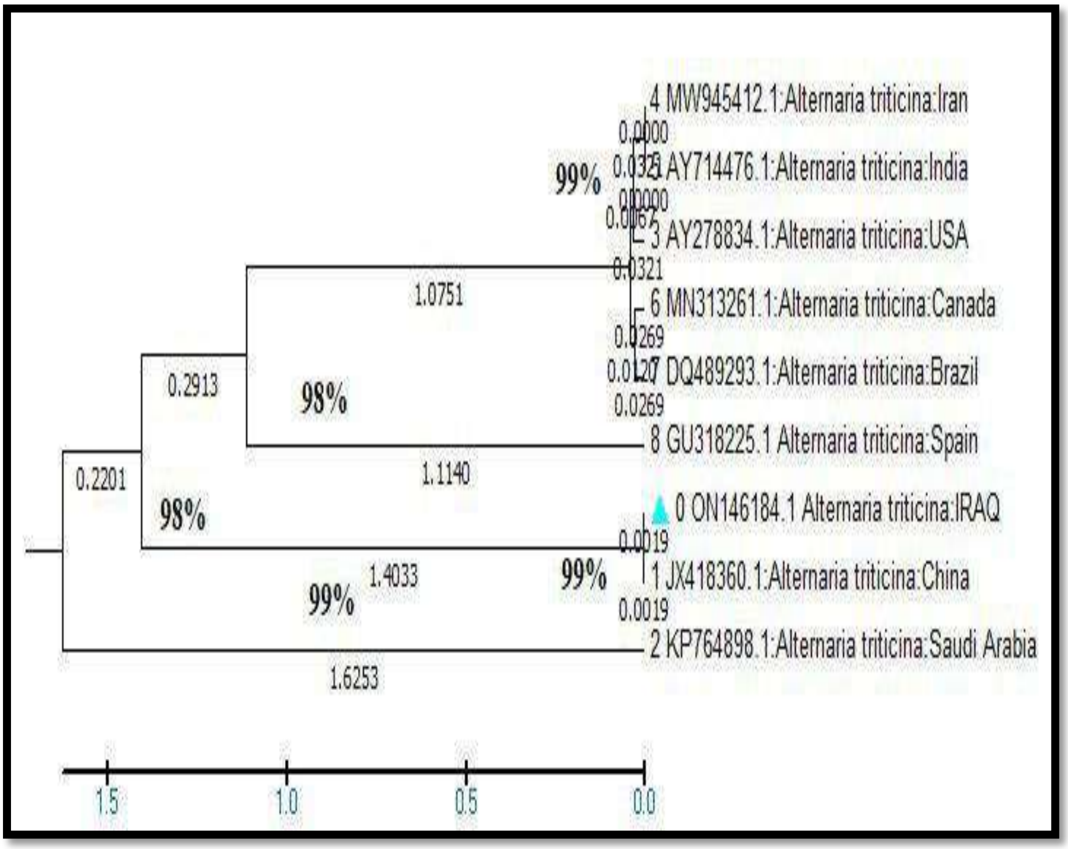
نيجيريا ذات الرقم MF806072 بنسبة 100% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى بنسبة من زيبابوي و الهند بنسبة 100 % .



الشكل (4-24) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الثامنة للفطر*Aspergillus nomius* (محددة بمثلث الازرق) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-25) الشجرة الوراثية للفطر *Alternaria triticina* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146184 مطابقة مع العزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي JX418360 والعزلة المعزولة من السعودية ذات الرقم التسلسلي KP764898 والعزلة المعزولة من

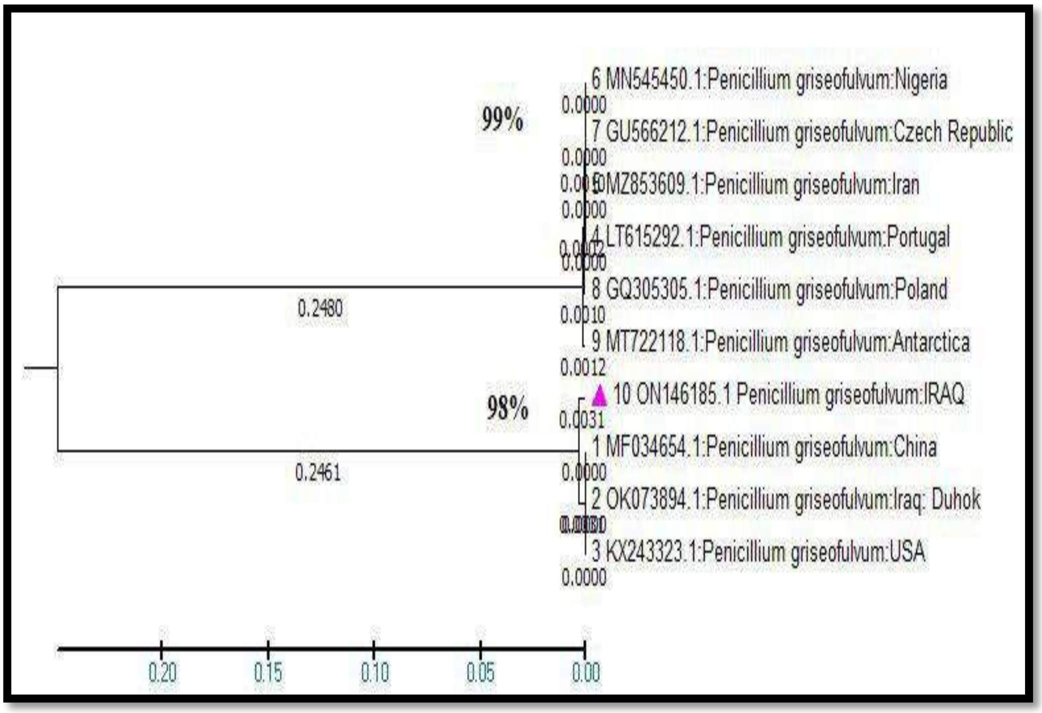
USAذات الرقم AY278834 بنسبة 99% . بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من ايران ، الهند ، كندا ، البرازيل ، اسبانيا بنسبة 99% .



الشكل (4-25) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية التاسعة للفطر *Alternaria triticina* (محددة بمثلث السمائي) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-26) الشجرة الوراثية للفطر *Penicillium griseofulvum* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146185 مطابقة مع العزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي MF034654 والعزلة المعزولة من العراق-دهوك ذات الرقم التسلسلي

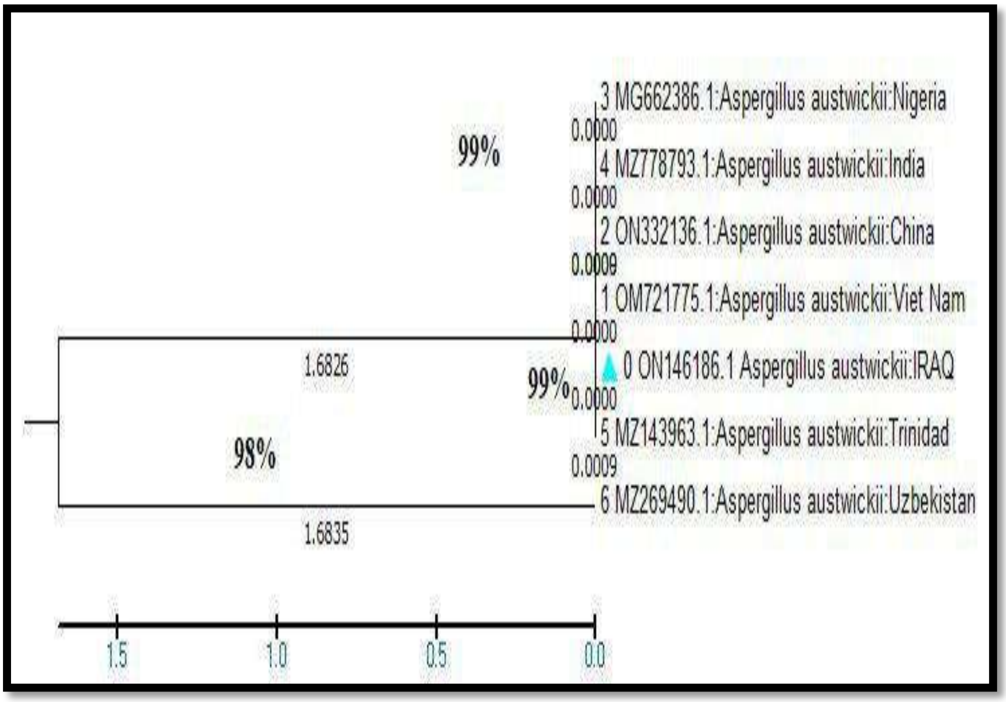
OK073894 والعزلة المعزولة من USA ذات الرقم KX243323 بنسبة 99% . بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من البرتغال ، نيجيريا ، ايران ، التشيك ، بولندا وانتاركتيكا بنسبة 98 %.



الشكل (4-26) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية العاشرة للفطر *Penicillium griseofulvum*(محددة بمثلث البنفسجي) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-27) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus austwicki* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146186 مطابقة مع العزلة المعزولة من فيتنام ذات الرقم التسلسلي OM721775 والعزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي ON332136 والعزلة

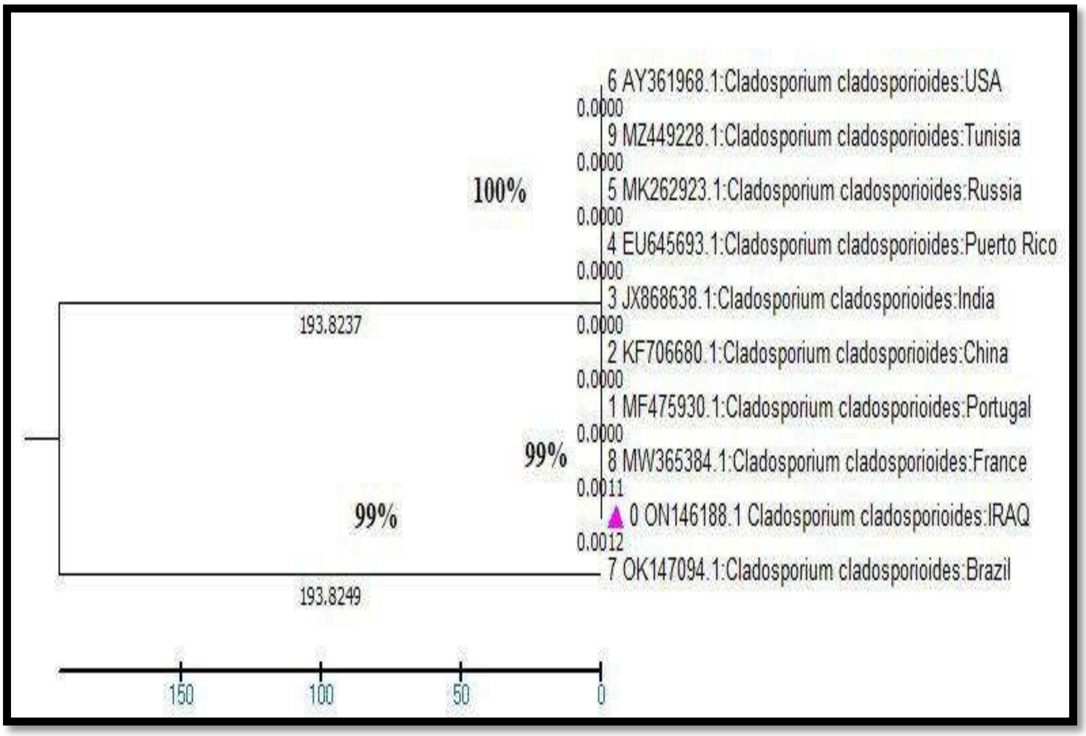
المعزولة من نيجيريا ذات الرقم MO662386 بنسبة 99% . بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من الهند ، ترينيداد وتوباغو واوزباكستان بنسبة 99% .



الشكل (4-27) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الحادية عشر للفطر *austwickii Aspergillus* (محددة بمثلث السمائي) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-28) تحليل الشجرة الوراثية للفطر *Cladosporium cladosporioides* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146187 مطابقة مع العزلة المعزولة من البرتغال ذات الرقم التسلسلي MF475930 والعزلة المعزولة من الصين ذات الرقم التسلسلي

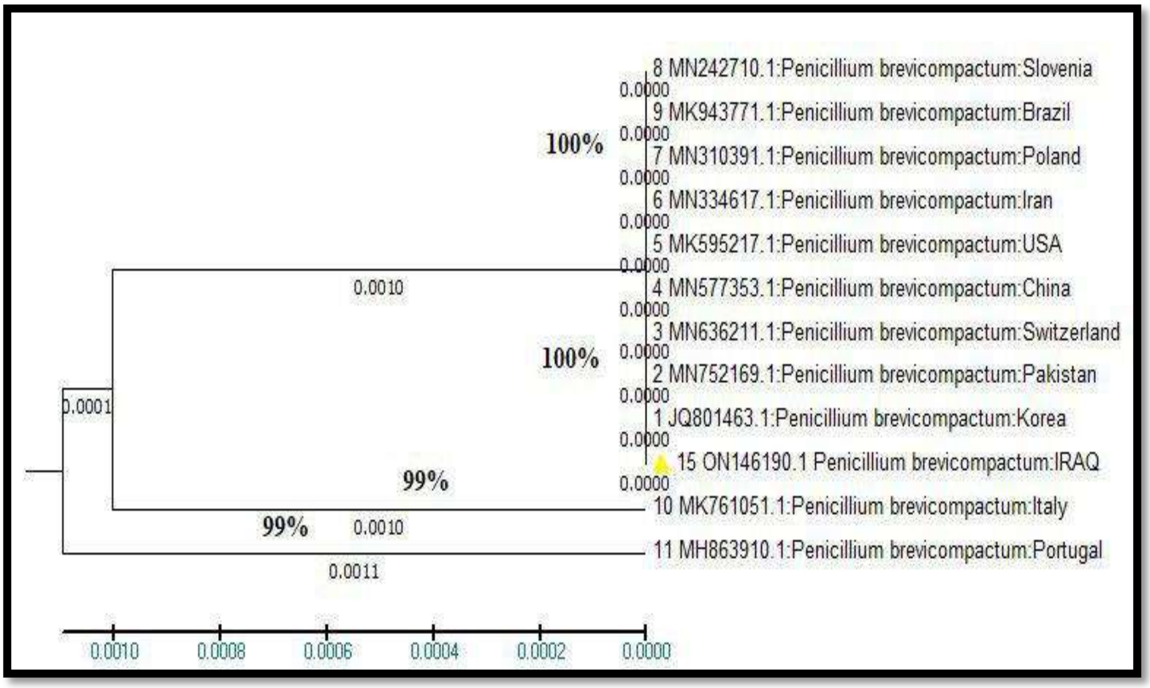
KF706680والعزلة المعزولة من الهند ذات الرقم JX868738 بنسبة 100% . بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى بنسبة من بورتوريكو ، روسيا ، USA ، البرازيل، فرنسا ،وتونس بنسبة 99 %.



الشكل (4-28) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الثانية عشر للفطر *Cladosporium cladosporiodes* (محددة بمثلث البنفسجي) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-29) الشجرة الوراثية للفطر *Penicillium brevicompatum* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146189 مطابقة مع العزلة المعزولة من كوريا ذات الرقم التسلسلي JQ801403 والعزلة المعزولة من باكستان ذات الرقم التسلسلي MN752169 والعزلة

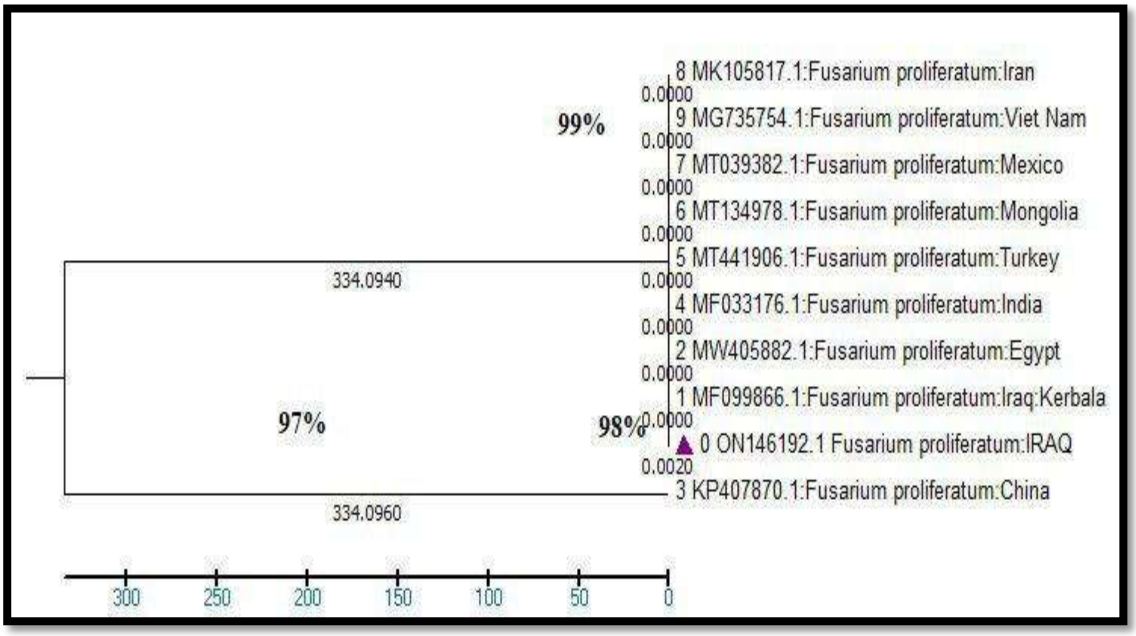
المعزولة من Switzerland ذات الرقم MN636211 بنسبة 100% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من الصين ، USA، ايران ، بولندا، برازيل سلوفينيا ،ايطاليا والبرتغال بنسبة 100% .



الشكل (4-29) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الثالثة عشر للفطر *Penicillium brevicompatum* (محددة بمثلث الاصفر) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-30) الشجرة الوراثية للفطر *Fusarium proliferatum* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146129 مطابقة مع العزلة المعزولة من العراق كربلاء ذات الرقم التسلسلي MF099866 والعزلة المعزولة من مصر ذات الرقم التسلسلي MW405882 والعزلة

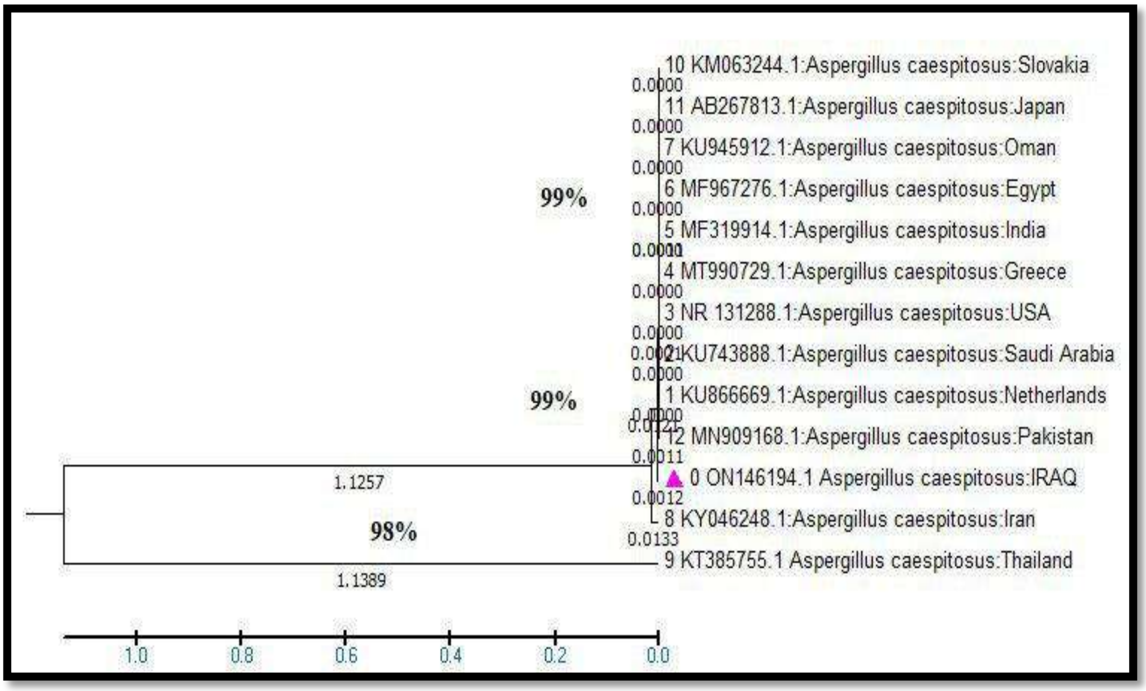
المعزولة من الصين ذات الرقم KP407870 بنسبة 99% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من الهند ، تركيا، منغوليا ، المكسيك فيتنام ،ايران بنسبة 98%.



الشكل (4-30) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الرابعة عشر للفطر *Fusarium proloferatum* (محددة بمثلث بنفسجي) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-31) الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus caespitosus* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146194 مطابقة مع العزلة المعزولة من Netherlands ذات الرقم التسلسلي KU866669 والعزلة المعزولة من السعودية ذات الرقم التسلسلي KU743888 والعزلة

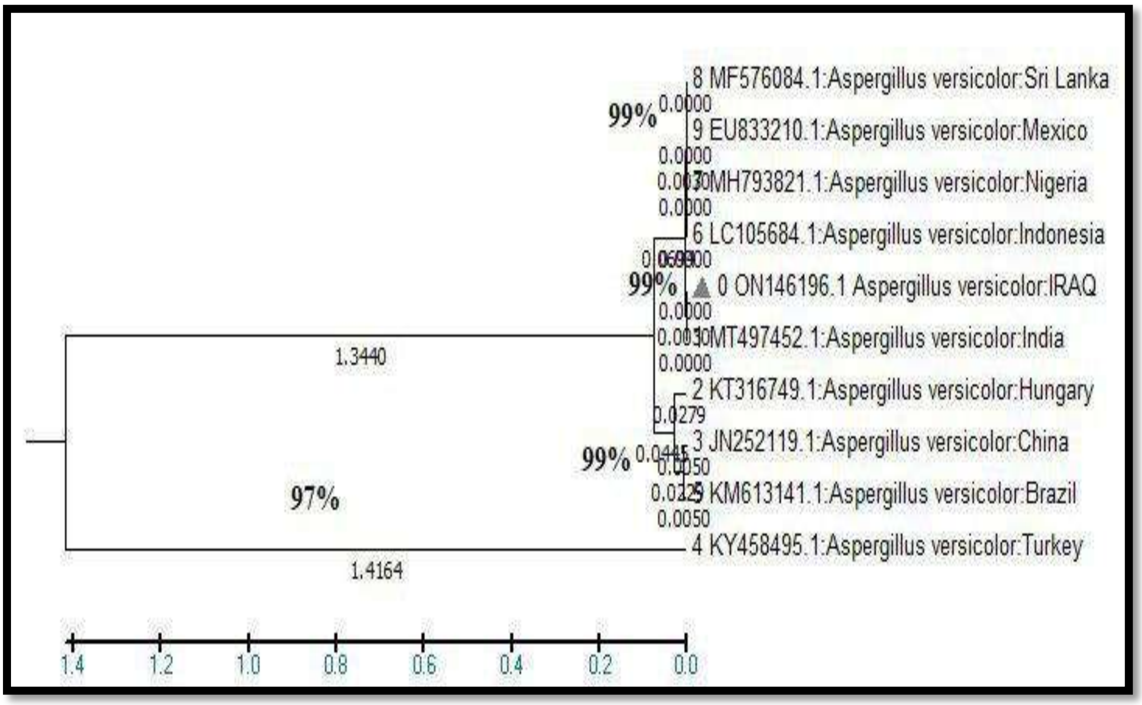
المعزولة من USA ذات الرقم NR131288 بنسبة 99% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من الاغريق ، الهند ، مصر ، عمان ، ايران Thailand ،يابان وسلوفاكيا بنسبة 99% .



الشكل (4-31) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية الخامسة عشر للفطر *Aspergillus caespitosus* (محددة بمثلث بنفسجي) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

يبين الشكل (4-32) الشجرة الوراثية للفطر *Aspergillus Versicolor* المشخصة والمسجلة في البنك الجيني ذات الرقم التسلسلي ON146195 مطابقة مع العزلة المعزولة من الهند ذات الرقم التسلسلي MT497452 والعزلة المعزولة من هنكاريا ذات الرقم التسلسلي KT316749 والعزلة المعزولة من

الصين ذات الرقم ON252119 بنسبة 99% بالإضافة إلى تطابقها مع عزلات أخرى من تركيا ، البرازيل ، اندونسيا ، نيجيريا ، سيريلانكا والمكسيك بنسبة 99%



الشكل (4-32) يمثل الشجرة الوراثية للعزلة الفطرية السادسة عشر للفطر *versicolor* *Aspergillus* (محددة بمثلث الأسود) مع أنواع وسلالات أخرى معروفة تعود للجنس نفسه .

4-4 النسبة المئوية للفطريات المنتجة للسموم %

أوضحت نتائج العزل المبينة في الجدول (2-4) أن الفطر *Aspergillus* قد تم عزله من اغلب العينات وبنسبة ظهور 55.56 % من مجموع العزلات وخاصة الفطر *Aspergillus flavus* فقط تم عزله بنسبة.16.67 % أما فطر *Penicillium* قد تم عزله بنسبة ظهور 22.22 % *اما الفطر Cladosporium* تم عزله بنسبة ظهر 11.11 % اما الفطريات *Alternaria* و *Fusarium* فكانت نسبة ظهور كل منهما 5.56% من مجموع العزلات كما في الجدول (4-2).تقاربت نتائجنا مع نتائج خلف (2018) و Zohri (2014)

. جدول (4-2) النسبة المئوية للظهور للفطريات الخيطية المعزولة من الموا الغذائية

ت	الفطريات	عدد العزلات	النسبة المئوية للظهور
1	***Aspergillus***	10	55.56
2	***Penicillium***	4	22.22
3	***Cladosporium***	2	11.11
4	***Alternaria***	1	5.56
5	***Fusarium***	1	5.56

يوضح الجدول (4-3) النسبة المئوية للتردد للفطريات المعزولة من المواد الغذائية اذ أظهرت النتائج نسبة تردد نوع الفطر *Aspergillus flavus* 16.67 % اذ ظهر في ثلاث عزلات هي التفاح والباذنجان والكاجو ، اما بقية الأنواع العائدة الى اجناس فطريات مختلفة فجميعها كانت نسبة ترددها 5.56 % اذ ظهرت كل منها في عزلة واحدة فقط .

جدول (4-3) النسبة المئوية للتردد للفطريات الخيطية المعزولة من المواد الغذائية بدرجة حرارة 25±2 درجة مئوية

ت	أنواع الفطريات	عدد العزلات	النسبة المئوية للتردد
1	***Penicillium oxalicum***	1	5.56 %
2	***Penicillium expansum***	1	5.56%
3	***Aspergillus flavus***	3	16.67%
4	***Cladosporium Uredinicola***	1	5.56%
5	***Aspergillus Sydowii***	1	5.56%
6	***Aspergillus Oryzae***	1	5.56%
7	***Aspergillus Tamarii***	1	5.56%
8	***Aspergillus nomius***	1	5.56%
9	***Alternaria triticina***	1	5.56%
10	***Penicillium griseofulvum***	1	5.56%
11	***Aspergillus austwickii***	1	5.56%
12	***Cladosporium cladosporioides***	1	5.56%
13	***Penicillium brevicompatum***	1	5.56%
14	***Fusarium proleferatum***	1	5.56%
15	***Aspergillus caespitosus***	1	5.56%
16	***Aspergillus versicolor***	1	5.56%
	المجموع	**18**	**100%**

4-5 تاثير المستخلصات النباتية المائية والكحولية على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية

أوضحت النتائج أن الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية اتجاه الفطريات المختبرة تعتمد على عدة عوامل منها نوع المستخلص (مائي أو كحولي) وعلى تراكيزه بالإضافة إلى نوع العزلة الفطرية . وقد تبين بحسب التحليل الاحصائي هناك انخفاض معنوي في معدلات أقطار المستعمرات الفطرية مع زيادة التركيز للمستخلص المستخدم كما في الجدول (4-6) و(4-8) .

4-5-1: تأثير المستخلص المائي على نمو الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين المعزولة من الغذاء

يبين الجدول (4-6) تاثير المستخلص المائي في نمو 18 فطر منتج لسم الافلاتوكسين معزولة من المواد الغذائية اذ بينت النتائج أن المستخلص المائي قد ثبط بعض الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين بنسبة 100% عند تراكيز مختلفة ففي الفطريات *Aspergillus .austwicki ,Penicillium* , *griseofulvum* حدث التثبيط التام عند تركيز15 ملغم / مل. اما الفطريات *Penicillium brevicompatum , Cladosprium cladosporioides , Aspergillus flavus , Fusarium proliferatum , Aspergillus caespitosus , Aspergillus versiclor* كان التثبيط التام عند تركيز 20 ملغم / مل . أي ان تتناسب التراكيز طرديا مع نمو الفطريات أي كلما زاد التركيز قل نمو الفطر وكذلك تتناسب النسبة المئوية للتثبيط طرديا مع زيادة التركيزكما موضح في الجدول (4- 7) والشكل (4-34) يوضح صور التراكيز ونتائج تاثير تثبيط المستخلص المائي على نمو الفطريات المنتجة للسموم .

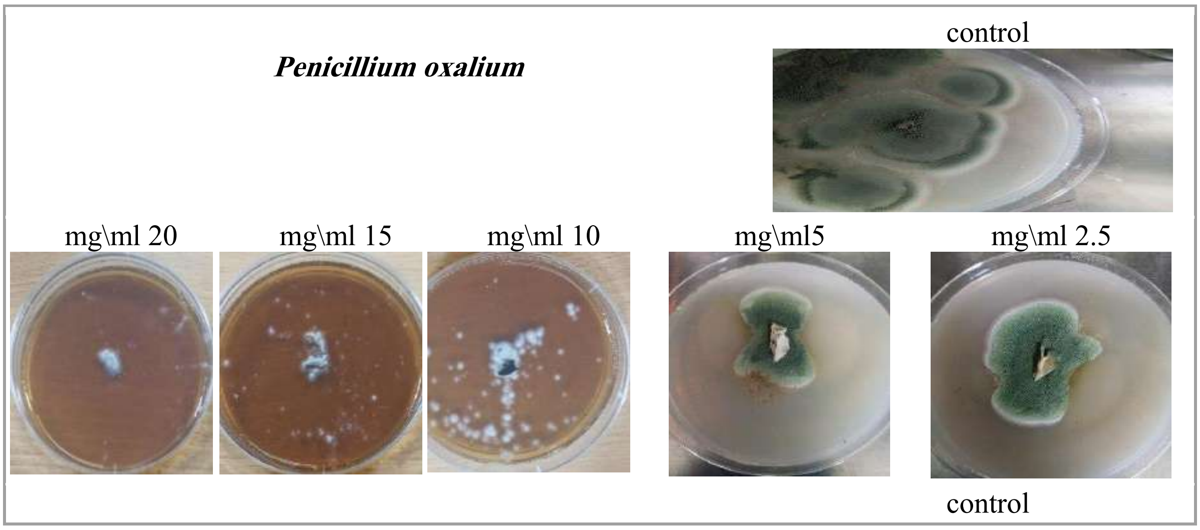
جدول (4-6) تأثير المستخلص المائي لنبات القرنفل على معدل نمو الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين

ت	معدل القطر المستعمرة ملم / نوع الفطر	control	التركيز 2.5 mg\ml	التركيز 5 mg\ml	التركيز 10 mg\ml	التركيز 15 mg\ml	التركيز 20 mg\ml
1	*Penicillium oxalicu*	64.00	35.00	4.00	2.00	1.00	0.50
2	*Penicillium expasum*	52.00	14.00	8.00	2.00	1.25	0.25
3	*Aspergillus flavus*	60.00	15.75	10.00	3.50	0.75	0.25
4	*Cladosporium Uredinicola*	42.00	14.00	6.00	1.75	0.50	0.25
5	*Aspergillus sydowii*	27.50	22.00	8.00	2.50	0.50	0.25
6	*Aspergillus oryzae*	30.00	20.00	10.00	3.75	0.75	0
7	*Aspergillus tamarii*	33.00	14.00	3.00	1.12	0.25	0.25
8	*Aspergillus nomius*	68.00	68.00	18.00	5.00	0.56	0.37
9	*Alternaria triticina*	60.00	16.00	3.50	2.00	0.58	0.05
10	*Penicillium griseofulvum*	25.00	12.00	5.00	1.50	0	0
11	*Aspergillus austwicki*	60.00	12.00	6.00	2.00	0	0
12	*Aspergillus flavus*	39.00	27.00	11.50	4.50	0.50	0
13	*Cladosporium cladosporioides*	42.25	19.25	12.50	5.50	0.25	0
14	*Penicillium brevicompatum*	45.00	28.00	10.50	2.50	0.50	0
15	*Fusarium proleferatum*	56.25	25.00	6.00	1.00	0.50	0
16	*Aspergillus flavus*	60.00	7.50	4.00	1.00	0	0
17	*Aspergillus caespitosus*	48.00	12.00	4.50	1.50	0.25	0
18	*Aspergillus versicolor*	52.00	18.00	10.00	2.00	0.25	0
	Maen S.D	47.94	20.37	7.80	2.51	0.46	0.12
	LSD	**4.24**					
	P.V	**0.00**					

***تمثل النتائج أعلاه معدل ثلاث مكررات * معاملة control السيطرة تضمنت وسط زرعي دون أي إضافة تضمنت سيطرة سالبة**

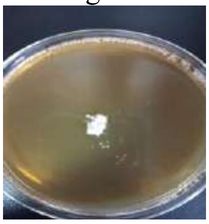
جدول (4-7) النسب المئوية لتثبيط المستعمرات الفطرية المختبرة بتاثير المستخلص المائي لنبات القرنفل

التركيز 20 mg\ml	التركيز 15 mg\ml	التركيز 10 mg\ml	التركيز 5 mg\ml	التركيز 2.5 mg\ml	control	معدل القطر المستعمرة ملم / نوع الفطر	ت
99.22	98.43	96.87	93.75	45.3	0	***Penicillium oxalicum***	1
99.51	97.59	96.15	84.61	73.07	0	***Penicillium expasum***	2
99.58	98.75	94.16	83.33	73.75	0	***Aspergillus flavus***	3
99.40	98.80	95.83	85.71	66.66	0	***Cladosporium Uredinicola***	4
99.09	98.18	90.90	70.90	20	0	***Aspergillus sydowii***	5
100	97.5	87.5	66.66	33	0	***Aspergillus oryzae***	6
99.24	99.24	96.60	90.90	57.57	0	***Aspergillus tamarii***	7
99.45	99.17	92.64	73.52	0	0	***Aspergillus nomius***	8
99.91	99.03	96.66	94.16	73.33	0	***Alternaria triticina***	9
100	100	94	80	52	0	***Penicillium griseofulvum***	10
100	100	97	90	80	0	***Aspergillus austwicki***	11
100	98.71	89.34	70.51	30.76	0	***Aspergillus flavus***	12
100	99.40	86.98	70.41	54.43	0	***Cladosporium cladosporioides***	13
100	98.88	94.42	76.66	73.77	0	***Penicillium brevicompatum***	14
100	99	98.22	89.33	55.55	0	***Fusarium Proleferatum***	15
100	100	98.33	93.33	87.5	0	***Aspergillus flavus***	16
100	99.74	96.87	90.61	75	0	***Aspergillus caespitosus***	17
100	99.51	96.15	80.67	65	0	***Aspergillus versicolor***	18



Penicillium expansum

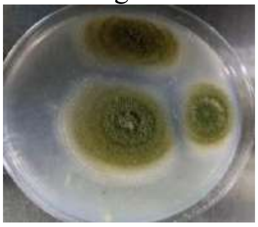
mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5



control

Aspergillus flavus

mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5



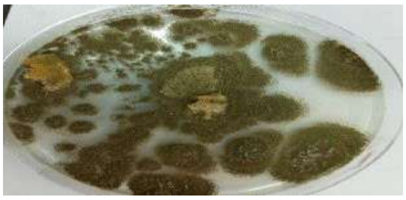
control

uredinicola Cladosprium

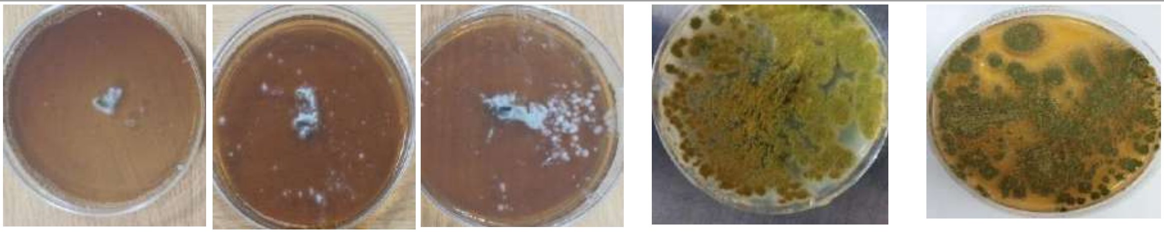
mg ml\ 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5

control

Aspergillus sydowii



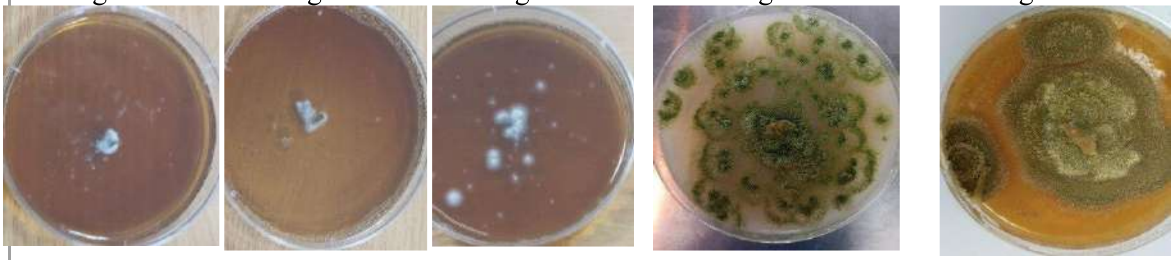
mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5



control

Aspergillus oryzae

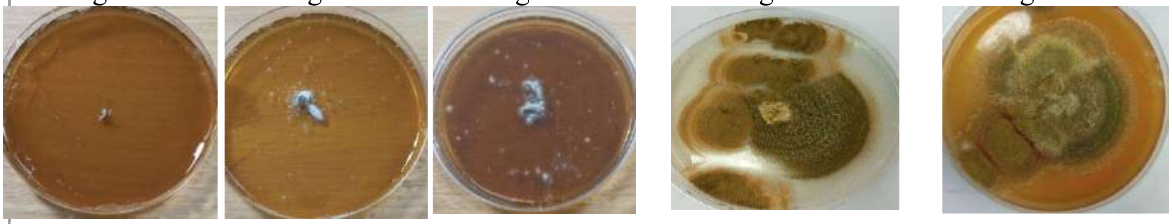
mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5



control

Aspergillus tamarii

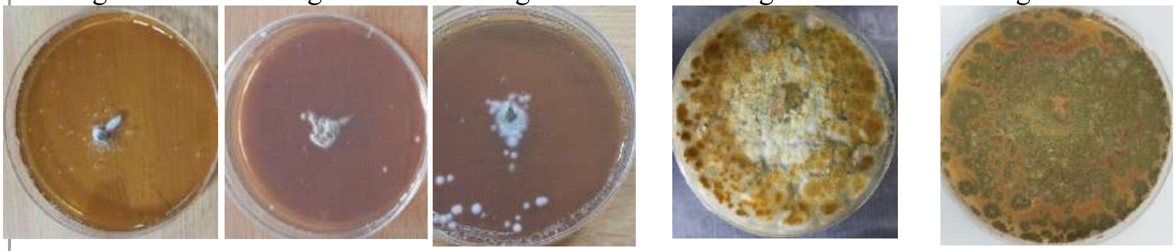
mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5



control

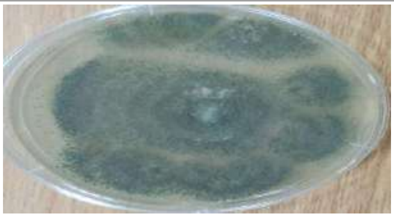
Aspergillus nomius

mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mgt\ml 2.5

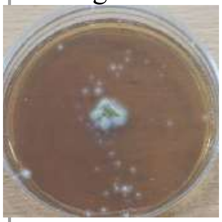


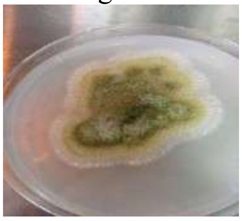
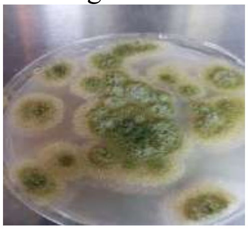
control

Alternaria triticina



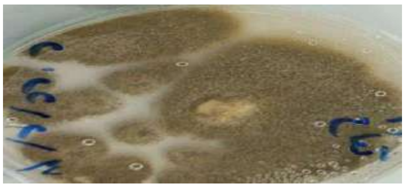
mg\ml 20 | 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5



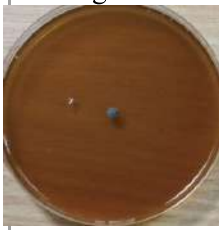



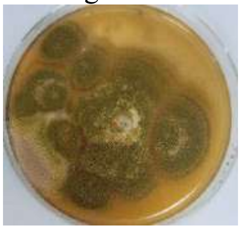
control

Aspergillus austwicki



mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

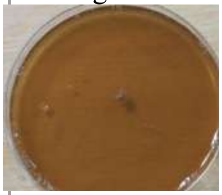
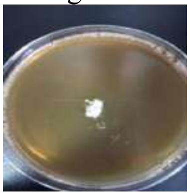
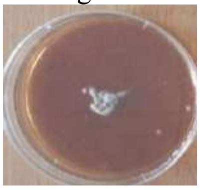




cntrol

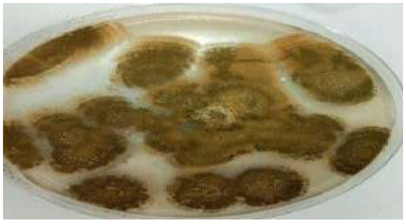
Cladosporium cladosporioides

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

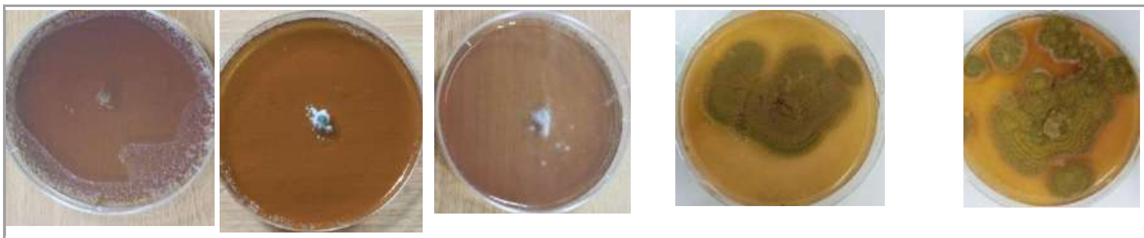




control

Penicillium brevicompatum



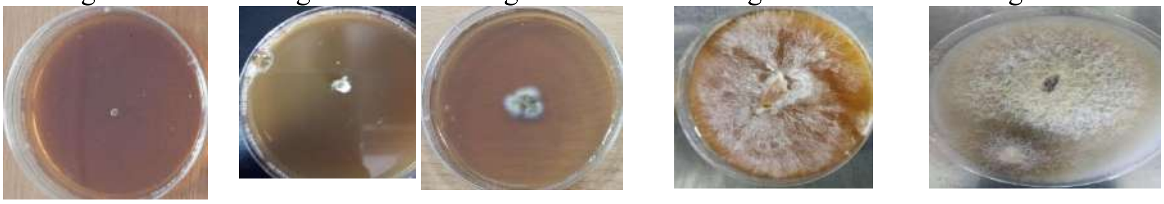
mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5



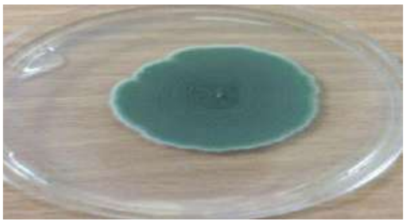
control

Fusarium proleferatum

mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5

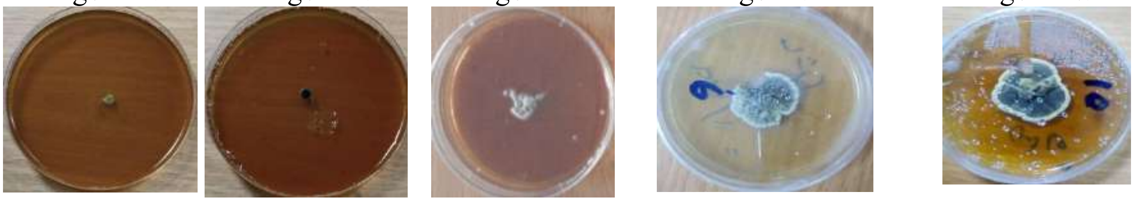


control

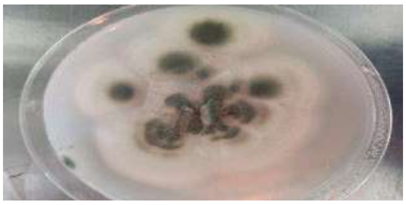


Penicillium griseofulvum

mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5

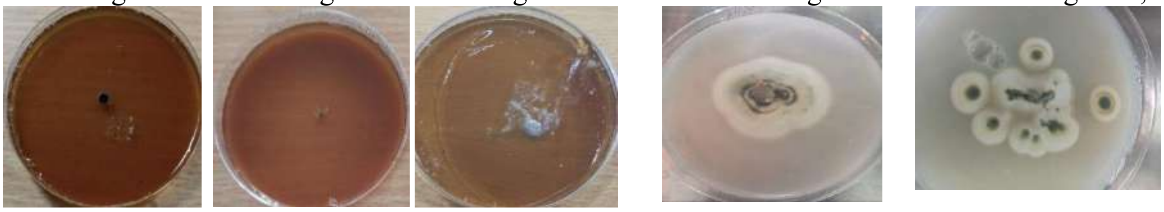


control



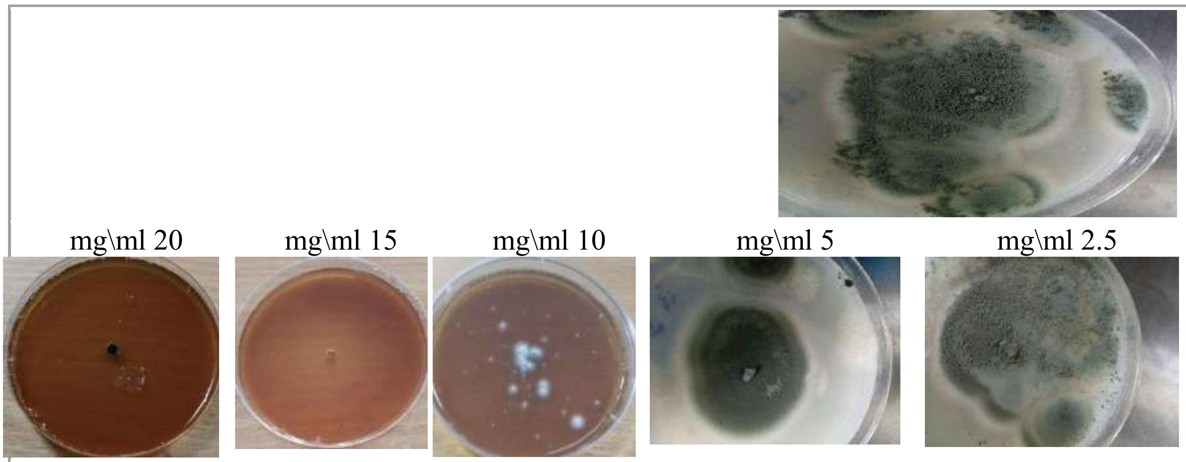
Aspergillus caespitosus

mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 140 mg\ml 5 mg\ml 2,5



control

Aspergillus versicolor



شكل (4-34) تاثيرتراكيز المستخلص المائي لنبات القرنفل على الفطريات السامة

4-5-2 نتائج تأثير المستخلص الكحولي للقرنفل على نمو الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين المعزولة من المواد الغذائية.

يوضح الجدول (4-8) تأثير المستخلص الكحولي على نمو 18 فطر منتج للأفلاتوكسين معزول من المواد الغذائية اذ أظهرت نتائج التحليل الإحصائي أن المستخلص الكحولي يثبط جميع الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين بنسبة 100٪ عند تركيز 2.5 ملغم / مل .أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق ذات دلالة إحصائية عالية عند مستوى الاحتمال 2.5 ملغم\مل إذا ما قورنت بمعاملة المقارنة والمعاملات التي استخدمت فيها تراكيز المستخلصات النباتية المائية والكحولية للقرنفل، أي ان تتناسب التراكيز طرديا مع نمو الفطريات أي كلما زاد التركيز قل نمو الفطر وكذلك تتناسب النسبة المئوية للتثبيط طرديا مع زيادة التركيز كما موضح في الجدول (4-9) ، والشكل (4-35) يوضح صور التراكيز ونتائج تاثير تثبيط المستخلص الكحولي عى نمو الفطريات المنتجة للسموم .

الجدول (4-8) تاثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على معدل نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين

ت	معدل قطر المستعمرة ملم / نوع الفطر	control	التركيز 2.5 mg\ml	التركيز 5 mg\ml	التركيز 10 mg\ml	التركيز 15 mg\ml	التركيز 20 mg\ml
1	***Penicillium oxalicum***	64.00	0	0	0	0	0
2	***Penicillium expasum***	52.00	0	0	0	0	0
3	***Aspergillus flavus***	60.00	0	0	0	0	0
4	***Cladosporium Uredinicola***	50.00	0	0	0	0	0
5	***Aspergillus sydowii***	30.00	0	0	0	0	0
6	***Aspergillus oryzae***	30.00	0	0	0	0	0
7	***Aspergillus tamarii***	35.00	0	0	0	0	0
8	***Aspergillus nomius***	68.00	0	0	0	0	0
9	***Alternaria triticina***	60.00	0	0	0	0	0
10	***Penicillium griseofulvum***	28.00	0	0	0	0	0
11	***Aspergillus austwicki***	60.00	0	0	0	0	0
12	***Aspergillus flavus***	40.00	0	0	0	0	0
13	***Cladosporium cladosporioides***	42.00	0	0	0	0	0
14	***Penicillium brevicompatum***	48.00	0	0	0	0	0
15	***Fusarium proleferatum***	60.00	0	0	0	0	0
16	***Aspergillus flavus***	56.00	0	0	0	0	0
17	***Aspergillus caespitosus***	48.00	0	0	0	0	0
18	***Aspergillus versicolor***	50.00	0	0	0	0	0
	Mean S.D	48.94	0	0	0	0	0
	L.S.D(0.05)	2.24					
	VP	0					

تمثل النتائج أعلاه معدل ثلاث مكررات   * معاملة السيطرة تضمنت وسط زرعي بدون أي إضافة تضمنت سيطرة سالبة

الجدول (4-9) النسب المئوية لتثبيط المستعمرات الفطرية المختبرة بتاثير المستخلص الكحولي لنبات القرنفل

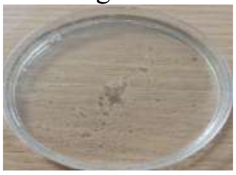
ت	قطر المستعمرة ملم / نوع الفطر	control	التركيز 2.5 mg\ml	التركيز 5 mg\ml	التركيز 10 mg\ml	التركيز 15 mg\ml	التركيز 20 mg\ml
1	***Penicillium oxalicum***	0	100	100	100	100	100
2	***Penicillium expasum***	0	100	100	100	100	100
3	***Aspergillus flavus***	0	100	100	100	100	100
4	***Cladosporium Uredinicola***	0	100	100	100	100	100
5	***Aspergillus sydowii***	0	100	100	100	100	100
6	***Aspergillus oryzae***	0	100	100	100	100	100
7	***Aspergillus tamarii***	0	100	100	100	100	100
8	***Aspergillus nomius***	0	100	100	100	100	100
9	***Alternaria triticina***	0	100	100	100	100	100
10	***Penicillium griseofulvum***	0	100	100	100	100	100
11	***Aspergillus austwicki***	0	100	100	100	100	100
12	***Aspergillus flavus***	0	100	100	100	100	100
13	***Cladosporium cladosporioides***	0	100	100	100	100	100
14	***Penicillium brevicompatum***	0	100	100	100	100	100
15	***Fusarium proleferatum***	0	100	100	100	100	100
16	***Aspergillus flavus***	0	100	100	100	100	100
17	***Aspergillus caespitosus***	0	100	100	100	100	100
18	***Aspergillus versicolor***	0	100	100	100	100	100

control

Penicillium oxalium

mg\ml 20

mg\ml 15



mg\ml 10

mg\ml5

mg\ml 2.5

control

Penicillium expansum

mg\ml 20	mg\ml 15	mg\ml 10	mg\ml 5	mg\ml 2.5

control

Aspergillus flavus

mg\ml 20	mg\ml 15	mg\ml 10	mg\ml 5	mg\ml 2.5

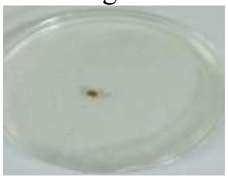
control

Cladosprium uredinicola

mg ml\ 20	mg\ml 15	mg\ml 10	mg\ml 5	mg\ml 2.5

control

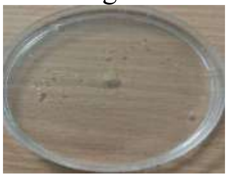
Aspergillus sydowii

mg\ml 20	mg\ml 15	mg\ml 10	mg\ml 5	mg\ml 2.5
				

control

Aspergillus oryzae

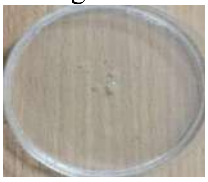
mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5



control

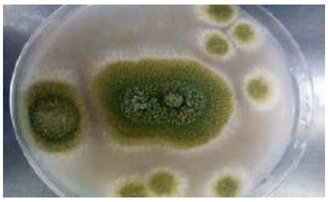
Aspergillus tamarii

mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5



control

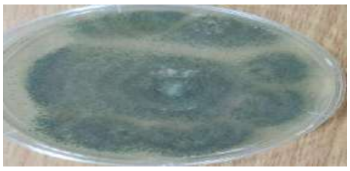
Aspergillus nomius



mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mgt\ml 2.5

control

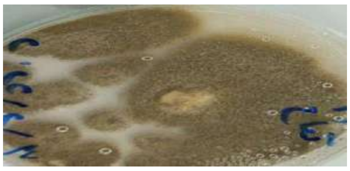
Alternaria triticina



mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5

control

Aspergillus austwicki



mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5

cntrol

Cladosporium cladosporioides

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

Penicillium brevicompatum

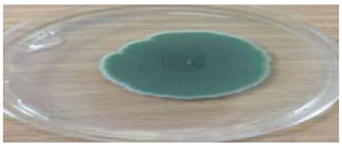
mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

Fusarium proleferatum

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

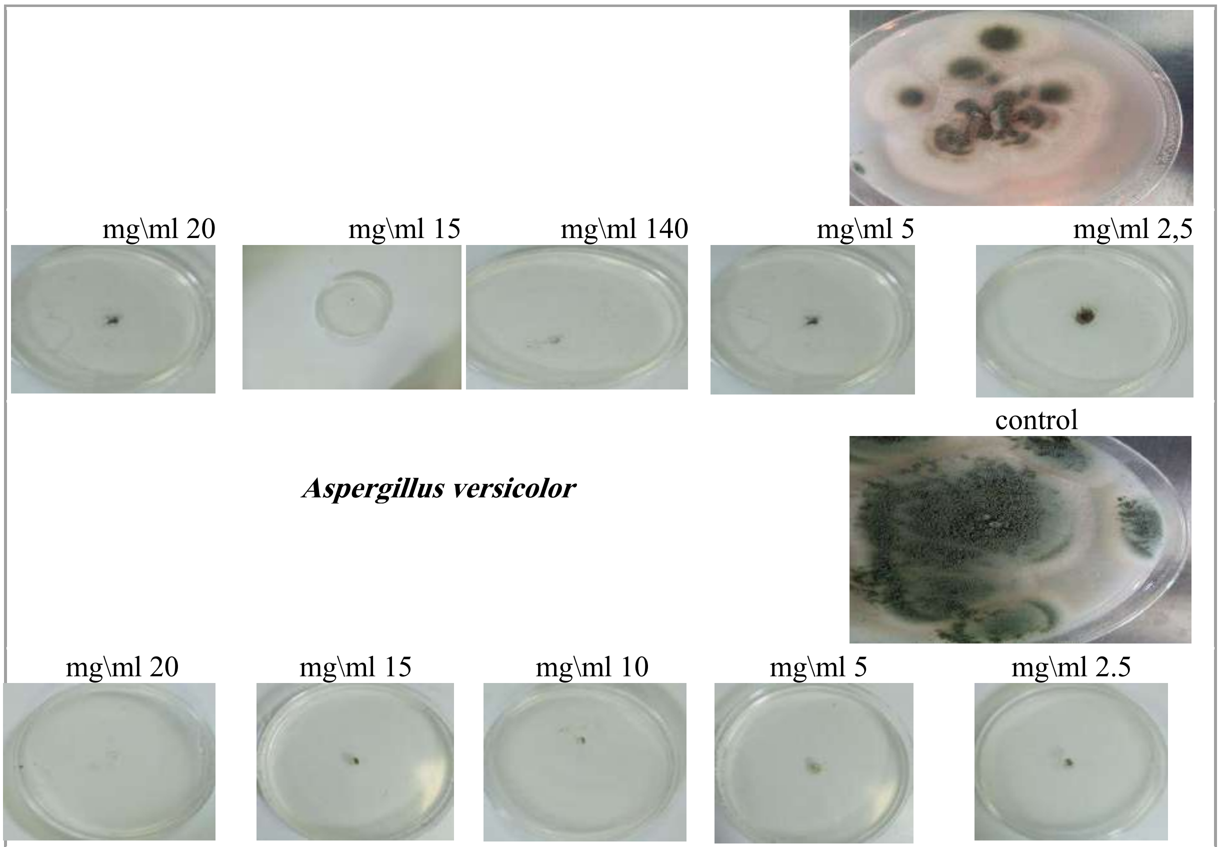


Penicillium griseofulvum

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

Aspergillus caespitosus



شكل (4-35) تاثيرتراكيز المستخلص الكحولي لنبات القرنفل على الفطريات السامة

أظهر المستخلص الكحولي للقرنفل فعالية عالية في تثبيط الفطريات المختبرة ، حيث ثبط جميع الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين بتركيز 2.5 ملغم / مل .أما بالنسبة للمستخلص المائي فقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عند مستوى احتمالية 0.05 وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين الفطريات المختبرة وفروق بين معاملة المقارنة والتركيزات المستخدمة للمستخلص المائي للقرنفل .

3-5-4 تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى Min imal Inhibitory MIC concentration للمستخلص المائي لنبات القرنفل

تم تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى المائي يوضح الجدول (4-10) اختلاف قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لنبات القرنفل باختلاف العزلة الفطرية حيث بلغت قيمة ال MIC لبعض الفطريات *Aspergillus caespitosus* , *Fusarium proliferatum* 18 ملغم/ مل . في حين بلغت قيمة التركيز المثبط الأدنى للفطريات *C. P.gris* , *A. flavus* . *A. austwickii* . *eofulvum* *A.versicolor*. , *P.previcompatum* , *cladosporioides* عند التركيز 19.5 ملغم\ مل ، اما في الفطر *P.expansum* كانت قيمة التركيز المثبط الأدنى هو 20 ملغم\ مل ، وقد استخدمت الإشارة (+) للدلالة على وجود النمو والإشارة (-) على عدم وجود نمو .

الجدول (4-10) اختلاف قيم التركز المثبط الأدنى للمستخلص المائي لنبات القرنفل باختلاف العزلة الفطرية

ت	نوع الفطر	التركيز. 18 mg\ml	التركيز 18.5 mg\ml	التركيز 19 mg\ml	1.5كيز 19.5 mg\ml	التركيز 20 mg\ml
1	*Penicillium oxalicum*	+	+	+	+	+
2	*Penicillium expasum*	+	+	+	+	-
3	*Aspergillus flavus*	+	+	+	+	+
4	*Cladosporium Uredinicola*	+	+	+	+	+
5	*Aspergillus sydowii*	+	+	+	+	+
6	*Aspergillus oryzae*	+	+	+	+	+
7	*Aspergillus tamarii*	+	+	+	+	+
8	*Aspergillus nomius*	+	+	+	+	+
9	*Alternaria triticina*	+	+	+	+	+
10	*Penicillium griseofulvum*	+	+	+	-	-
11	*Aspergillus austwicki*	+	+	+	-	-
12	*Aspergillus flavus*	+	+	+	-	-
13	*Cladosporium cladosporioides*	+	+	+	-	-
14	*Penicillium brevicompatum*	+	+	+	-	-
15	*Fusarium proliferatum*	_	_	_	_	_
16	*Aspergillus flavus*	+	+	+	-	-
17	*Aspergillus caespitosus*	-	-	-	-	-
18	*Aspergillus versicolor*	+	+	+	-	-

(+) وجود نمو (-) عدم وجود نمو

4-5-4 تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory concentration (MIC)للمستخلص الكحولي لنبات القرنفل

تم تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي يوضح الجدول (4-11) اختلاف قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لنبات القرنفل باختلاف العزلة الفطرية حيث بلغت قيمة ال MIC للفطر *A.austwickii* عند تركيز 1 ملغم /مل . اما الفطريات *P.oxalicum* , *P.expansum* , *C.uredinicola* , *A.sydowii* , *A.oryzae* , *A.lternaria* , *P.griseofulvum* , *A.caespitosus* , *A.versicolor* , *A.flavus* , *P.brevicompatum* , *C.cladosporioides* , كانت قيمة MIC (1.5 ملغم \مل) . اما الفطرين *A.flavus* , *A.tamarii* فكانت قيمة تركيزهما

المثبط الأدنى هو (2 ملغم \ مل) . وقد استخدمت الإشارة (+) للدلالة على وجود النمو والإشارة (-) على عدم وجود نمو .

الجدول (4-11) قيم تركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي لنبات القرنفل على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين

ت	نوع الفطر	التركيز. 0.25 mg\ml	التركيز 0.5 mg\ml	التركيز 1 mg\ml	1.5كيز 1.5 mg\ml	التركيز 2 mg\ml
1	***Penicillium oxalicum***	+	+	+	-	-
2	***Penicillium expansum***	+	+	+	-	-
3	***Aspergillus flavus***	+	+	+	-	-
4	***Cladosporium Uredinicola***	+	+	+	-	-
5	***Aspergillus sydowii***	+	+	+	-	-
6	***Aspergillus oryzae***	+	+	+	-	-
7	***Aspergillus tamarii***	+	+	+	+	-
8	***Aspergillus nomius***	+	+	+	+	-
9	***Alternaria triticina***	+	+	+	-	-
10	***Penicillium griseofulvum***	+	+	+	-	-
11	***Aspergillus austwicki***	+	+	-	-	-
12	***Aspergillus flavus***	+	+	+	+	-
13	***Cladosporium cladosporioides***	+	+	+	-	-
14	***Penicillium brevicompatum***	+	+	+	-	-
15	***ratumfeFusarium prole***	+	+	+	-	-
16	***Aspergillus flavus***	+	+	+	-	-
17	***Aspergillus caespitosus***	+	+	+	-	-
18	***Aspergillus versicolor***	+	+	+	-	-

(+) وجود نمو (-) عدم وجود نمو

أثبتت النتائج أن المستخلص الكحولي لنبات القرنفل أكثر كفاءة في تثبيط الفطريات المختبرة من المستخلص المائي وقد يعزى السبب في ذلك إلى قدرة الكحول الاثيلي على استخلاص وإذابة المواد الفعالة في الأجزاء المستخدمة من النبات والتي من أهمها الرانتجات والقلويدات والافلافونيدات والتاتينات والصابونيات التي بعضها يذوب في المذيبات القطبية دون غيرها من المذيبات مثل القلويدات التي تعمل على أحداث خلل في نفاذية الغشاء الخلوي للخلية والذي ينتج عنه فقدان الخلية للجزيئات الصغيرة كالاحماض الامينية والسكريات البسيطة والايونات مما يؤدي إلى انخفاض في الفعاليات الايضية للخلية ومنها ايض الطاقة والنقل النشط وعملية تصنيع البروتينات .أما المستخلص المائي لنبات القرنفل فقد كانت

له كفاءة أقل من المستخلص الكحولي في تثبيط نمو الفطريات المختبرة وقد يعزى السبب في ذلك هو أن الماء أقل قدرة على إحلال اغلب المواد الفعالة التي لها تأثير مثبط على نمو الفطريات في حين المذيبات العضوية مثل الكحول الاثيلي لها قدرة عالية على إذابة الكثير من المواد الفعالة الموجودة في النبات وهذه النتائج تتفق مع الباحثة الفلاح (2011) من خلال دراستها باستخدام بعض المستخلصات النباتية ومنها القرنفل في تثبيط بعض الفطريات الممرضة لبذور نبات الفاصوليا .وكذلك تتفق النتائج مع الباحث علاء خضر حسن وآخرون (2012) .وكذلك اثبت الباحث جعفر واخرون (2013) من خلال دراسته باستخدام مستخلصات القرنفل على الحمل البكتيري للحم الدجاج الطري الذي اثبت فعالية عالية في تثبيط هذه البكتريا .

6-4 تاثير منظمي النمو الجبرلين والاندول استك اسد في نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية

بينت النتائج أن الفعالية التثبيطية لمنظمات النمو اتجاه الفطريات المختبرة تعتمد على عدة عوامل منها نوع المنظم وتراكيزه بالإضافة إلى نوع العزلة الفطرية، وقد تبين بحسب التحليل الاحصائي هناك انخفاض في معدلات أقطار المستعمرات الفطرية مع زيادة التركيز لمنظم النمو المتسعمل اي التركيز يتناسب تناسب طردي مع معدل أقطار المستعمرات كما في الجدول (4-12) و (4-14) .

1-7-4 نتائج تاثير منظم النمو الجبرلين على نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية

يوضح الجدول (4-12) تاثير منظم النمو الجبرلين على نمو 18 فطر منتج لسم الافلاتوكسين معزولة من المواد الغذائية اذ أوضحت النتائج أن منظم النمو له القدرة على تثبيط الفطريات المختبرة المنتجة لسم الافلاتوكسين بنسبة 100% وبتراكيز مختلفة ففي الفطريات *P.expasum , A.austwicki A. Oryzae* *, A. flavus , C. cladosporioides, P. brevicompatum, , A.* و *F.proliferatum* حدث التثبيط التام عند تركيز 15 ملغم /مل ، اما عند تركيز 20 ملغم/مل حدث تثبيط تام لجميع الفطريات ، أي تتناسب التراكيز طرديا مع نمو الفطريات أي كلما زاد التركيز قل نمو الفطر وكذلك تتناسب النسبة المئوية للتثبيط طرديا مع زيادة التركيز كما موضح في الجدول (4-13)، والشكل (4-36) يوضح صور التراكيز ونتائج تاثير تثبيط منظم النمو الجبرلين على نمو الفطريات المنتجة للسموم.

الجدول (4-12) تاثير منظم النمو الجبرلين على معدل نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين

ت	معدل قطر المستعمرة ملم / نوع الفطر	control	التركيز 2.5 mg\ml	التركيز 5 mg\ml	التركيز 10 mg\ml	التركيز 15 mg\ml	التركيز 20 mg\ml	cohol %20
1	*Penicillium oxalicum*	56,00	20.00	16.00	1.00	0.25	0	12.00
2	*Penicillium expasum*	42,00	18.00	12.25	0.50	0	0	15.00
3	*Aspergillus flavus*	60,00	18.00	5.70	1.00	0.09	0	9.00
4	*Cladosporium Uredinicola*	30.00	17.50	12.25	0.75	0.25	0	8.00
5	*Aspergillus sydowii*	42.00	18.00	12.25	1.00	0.25	0	20.00
6	*Aspergillus oryzae*	30.00	16.00	12.00	0.15	0	0	12.00
7	*Aspergillus tamarii*	56,00	18.00	14.00	1.25	0.04	0	15.00
8	*Aspergillus nomius*	60,00	14.00	5.50	0.25	0.09	0	9.00
9	*Alternaria triticina*	30,00	25.00	22.50	2.25	1.00	0	12.00
10	*Penicillium griseofulvum*	36,00	12.25	5.25	0.75	0.25	0	20.00
11	*Aspergillus austwicki*	56.00	20.00	16.00	1.00	0	0	15.00
12	*Aspergillus flavus*	42.00	9.00	7.50	0.50	0	0	16.00
13	*Cladosporium cladosporioides*	42.00	12.25	9.00	0.25	0	0	10.00
14	*Penicillium brevicompatum*	42.00	9.00	5,00	0.75	0	0	12.00
15	*Fusarium proleferatum*	56.00	20.25	16.00	1.00	0	0	12.00
16	*Aspergillus flavus*	56.00	10.50	9.00	0.25	0	0	9.00
17	*Aspergillus caespitosus*	30.00	14.00	9.00	0.75	0.25	0	16.00
18	*Aspergillus versicolor*	35.00	25.00	16.00	1.00	0,25	0	12.00
	Mean S.D	**44.14**	**16.20**	**11.01**	**0.83**	**0.14**	**0**	**3.1**
	(L (0.05.S.D	**3.10**						
	V	**0.00**						

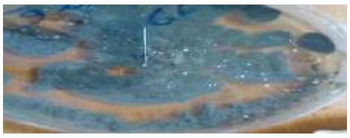
***تمثل النتائج اعلاه معدل ثلاث مكررات *معاملة السيطرة تضمنت وسط زرعي بدون أي اضافة تضمن سيطرة سالبة ***

معاملة السيطرة تضمنت وسط زرعي مضاف اليه كحول اثيلي بنسبة 20 % تضمنت سيطرة موجبة

الجدول (4-13) النسب المئوية لتثبيط اقطار المستعمرات الفطرية المختبرة بتاثيرالجبرلين

ت	قطرالمستعمرة ملم / نوع الفطر	control	التركيز 2.5 mg\ml	التركيز 5 mg\ml	التركيز 10 mg\ml	التركيز 15 mg\ml	التركيز 20 mg\ml	cohol %20
1	***Penicillium oxalicum***	0	64	71	98	99.6	100	0
2	***Penicillium expasum***	0	57	70.83	98.8	100	100	0
3	***Aspergillus flavus***	0	70	90.5	98	99.9	100	0
4	***Cladosporium Uredinicola***	0	41.66	59	97.5	99	100	0
5	***Aspergillus sydowii***	0	57	70.83	97.6	99	100	0
6	***Aspergillus oryzae***	0	46.66	60	99.5	100	100	0
7	***Aspergillus tamarii***	0	67.7	75	97.8	99.66	100	0
8	***Aspergillus nomius***	0	77	91	99.6	99.9	100	.0
9	***Alternaria triticina***	0	16.66	25	92.5	96.7	100	0
10	***Penicillium griseofulvum***	0	65.97	85	97.9	99.30	100	0
11	***Aspergillus austwicki***	0	64	71	98	100	100	0
12	***Aspergillus flavus***	0	78.57	82	98.8	100	100	0
13	***Cladosporium cladosporioides***	0	70.83	78.57	99	100	100	0
14	***Penicillium brevicompatum***	0	78.57	88	98	100	100	0
15	***Fusarium proleferatum***	0	63.83	71	98	100	100	0
16	***Aspergillus flavus***	0	82	83.92	97.5	100	100	0
17	***Aspergillus caespitosus***	0	53	70	97.6	99	100	0
18	***Aspergillus versicolor***	0	28.57	54	97	99	100	0

control



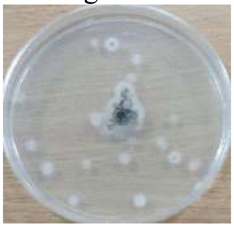
Penicillium oxalium

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ ml5 | mg\ml 2.5

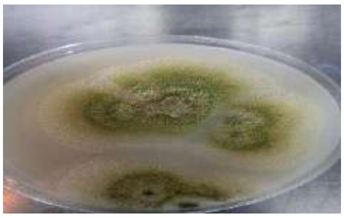
control

Penicillium expansum

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

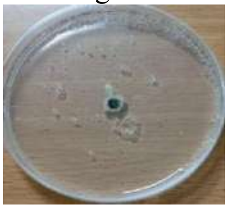


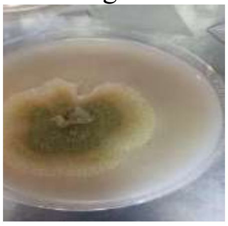
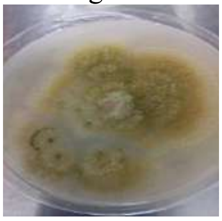
control



Aspergillus flavus

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5



control

Cladosprium uredinicola

mg ml\ 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

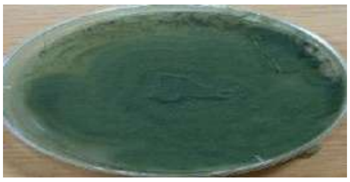
control

Aspergillus sydowii

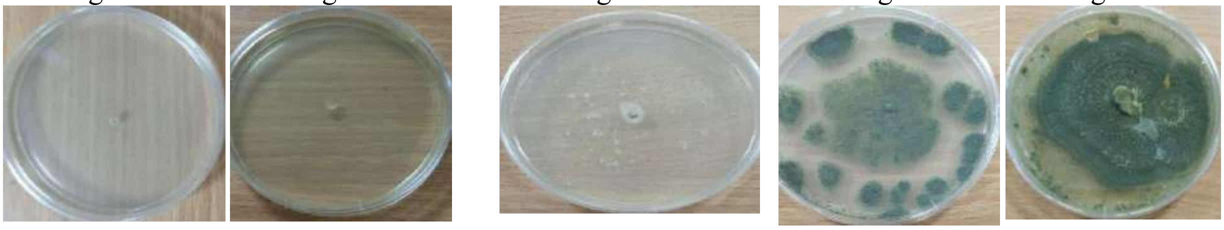
mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

Aspergillus oryzae



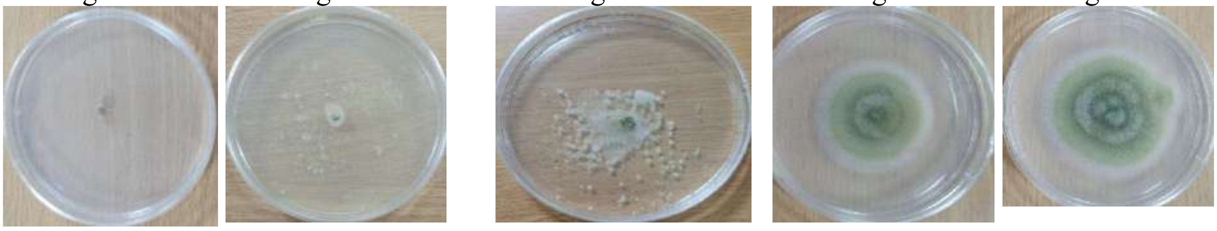
mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5



control

Aspergillus tamarii

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5



control

Aspergillus nomius

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mgt\ml 2.5

control

Alternaria triticina

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

Aspergillus austwicki

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

cntrol

Cladosporium cladosporioides

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

Penicillium brevicompatum

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

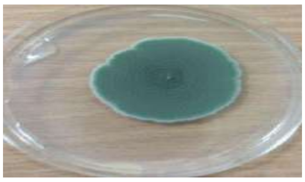
control

Fusarium proleferatum

mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5

control

Penicillium griseofulvum



mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5

control

Aspergillus caespitosus

mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 140 mg\ml 5 mg\ml 2,5

control

Aspergillus versicolor

mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5

شكل (4-36) تاثيرتراكيز الجبرلين على الفطريات السامة

4-6-2 تاثير منظم النمو الاندول استك اسد على نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية

يوضح الجدول (4-14) تاثيرمنظم النمو الاندول استك اسد على نمو 18 فطر منتج لسم الافلاتوكسين معزولة من المواد الغذائية اذ أوضحت النتائج منظم النمو الاندول استك اسد له القدرة على تثبيط الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين بنسبة 100% وبتراكيز مختلفة ففي الفطريات *Aspergillus flavus, Penicillium griseofulvum, Aspergillus versicolor* كان التثبيط التام عند تركيز 2.5ملغم/ مل اما الفطريات Penicillium *oxalicum, Penicillium expasum, Aspergillus sydowii, Aspergillus Tamarii, Aspergillus nomius, Alternaria triticina, Cladosporium cladosporioides, Penicillium* ،*Penicillium griseofulvum brevicompatum, Fusarium proliferatum, Aspergillus versicolor, Aspergillus caespitosus* فكان التثبيط التام عند تركيز 5 ملغم/مل أما عند تركيز 10ملغم/ مل فقد كان التثبيط تام لجميع الفطريات أي تتناسب التراكيز طرديا مع نمو الفطريات أي كلما زاد التركيز قل نمو الفطر وكذلك تتناسب النسبة المئوية للتثبيط طرديا مع زيادة التركيز كما موضح في الجدول (4-15) والشكل (4-37) يوضح صور التراكيز ونتائج تاثير تثبيط منظم النمو الاندول استك اسد على نمو الفطريات المنتجة للسموم .

الجدول (4-14) تاثير منظم النمو الاندول استك اسد على معدل نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين

ت	معدل قطر المستعمرة ملم / نوع الفطر	control	التركيز 2.5 mg\ml	التركيز 5 mg\ml	التركيز 10 mg\ml	التركيز 15 mg\ml	التركيز 20 mg\ml	cohol % 20
1	***Penicillium oxalicum***	60.00	0.75	0	0	0	0	20.00
2	***Penicillium expasum***	56.00	0.25	0	0	0	0	00. 8
3	***Aspergillus flavus***	42.00	0	0	0	0	0	12.00
4	***Cladosporium Uredinicola***	36.00	0.50	0	0	0		9.00
5	***Aspergillus sydowii***	42.00	1.50	0.01	0	0	0	15.00
6	***Aspergillus oryzae***	36.00	1,50	0	0	0	0	12.00
7	***Aspergillus tamarii***	30.00	0.75	0	0	0	0	12.00
8	***Aspergillus nomius***	42.00	1.50	0	0	0	0	9.00
9	***Alternaria triticina***	60.00	1.00	0	0	0	0	20.00
10	***Penicillium griseofulvum***	48.00	0	0	0	0	0	15.00
11	***Aspergillus austwicki***	64.00	0.75	0.050	0	0	0	12.00
12	***Aspergillus flavus***	60.00	0.38	0	0	0	0	6.00
13	***Cladosporium cladosporioides***	42.00	0.25	0	0	0	0	9.00
14	***Penicillium brevicompatum***	30.00	1.00	0	0	0	0	15.00
15	***Fusarium proliferatum***	49.00	0.50	0	0	0	0	9.00
16	***Aspergillus flavus***	60.00	0.50	0.01	0	0	0	15.00
17	***Aspergillus caespitosus***	36.00	1.00	0	0	0	0	12.00
18	***Aspergillus versicolor***	42.00	0	0	0	0	0	9.00
	MEAN S.D	47.00	0.70	0.04	0	0	0	
	LSD	**2.59**						
	VP	**0.00**						

تمثل النتائج اعلاه معدل ثلاث مكررات * معاملة السيطرة تضمنت وسط زرعي بدون أي اضافة تضمنت سيطرة سالبة

*** معاملة السيطرة تضمنت وسط زرعي مضاف اليه كحول بتركيز 20 % تضمنت سيطرة موجبة**

الجدول (4-15) النسب المئوية لتثبيط اقطار المستعمرات الفطرية المختبرة بتاثير االاندول استك اسد

cohol %20	التركيز 20 mg\ml	التركيز 15 mg\ml	التركيز 10 mg\ml	التركيز 5 mg\ml	التركيز 2.5 mg\ml	control	معدل قطر المستعمرة ملم / نوع الفطر	ت
0	100	100	100	100	98.75	0	***Penicillium oxalicum***	1
0	100	100	100	100	99.6	0	***Penicillium expasum***	2
0	100	100	100	100	100	0	***Aspergillus flavus***	3
0	100	100	100	100	98.6	0	***Cladosporium Uredinicola***	4
0	100	100	100	99.97	96	0	***Aspergillus sydowii***	5
0	100	100	100	100	95.85	0	***Aspergillus oryzae***	6
0	100	100	100	100	97.5	0	***Aspergillus tamarii***	7
0	100	100	100	100	96	0	***Aspergillus nomius***	8
0	100	100	100	100	98	0	***Alternaria triticina***	9
0	100	100	100	100	100	0	***Penicillium griseofulvum***	10
0	100	100	100	99.9	98.82	0	***Aspergillus austwicki***	11
0	100	100	100	100	99	0	***Aspergillus flavus***	12
0	100	100	100	100	99	0	***Cladosporium cladosporioides***	13
0	100	100	100	100	96.66	0	***Penicillium brevicompatum***	14
0	100	100	100	100	98.97	0	***Fusarium prelifera***	15
0	100	100	100	99.98	99	0	***Aspergillus flavus***	16
0	100	100	100	100	97	0	***Aspergillus caespitosus***	17
0	100	100	100	100	100	0	***Aspergillus versicolor***	18

Penicillium oxalium

control

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml5 | mg\ml 2.5

control

Penicillium expansum

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

Aspergillus flavus

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

Cladosprium uredinicola

mg ml\ 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

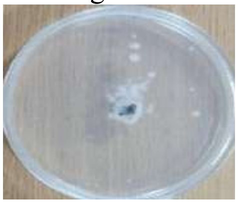
Aspergillus sydowii

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

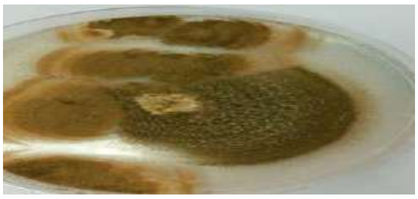
Aspergillus oryzae

mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mg\ml 2.5

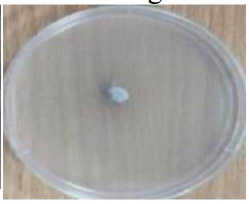


control

Aspergillus tamarii

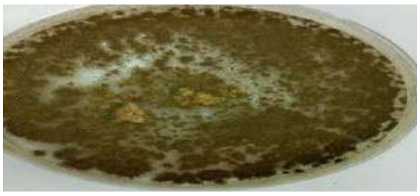


mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 \ ml mg 2.5



control

Aspergillus nomius



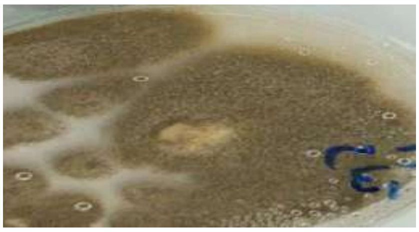
mg\ml 20 mg\ml 15 mg\ml 10 mg\ml 5 mgt\ml 2.5

control

Alternaria triticina

mg\ml 20 | 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control



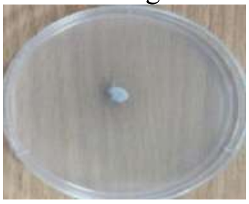
Aspergillus austwicki

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

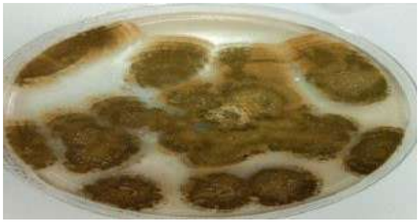
cladosporioides Cladosporium

cntrol

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | 2.5 mg\ml



control



Penicillium brevicompatum

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

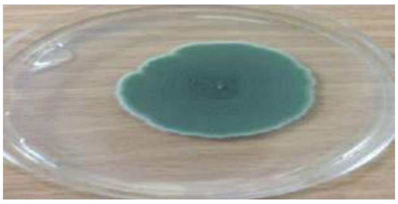
control

Fusarium proleferatum

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

control

Penicillium griseofulvum



mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

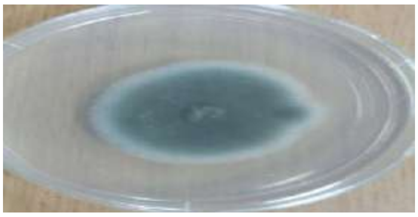
control

Aspergillus caespitosus

mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 140 | mg\ml 5 | mg\ml 2,5

control

Aspergillus versicolor



mg\ml 20 | mg\ml 15 | mg\ml 10 | mg\ml 5 | mg\ml 2.5

شكل (4-37) تاثيرتراكيز الاندول استك اسد على الفطريات السامة

3-6-4 تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC) Minimal Inhibitory concentration لمنظم النمو الجبرلين

تم تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظم النمو الجبرلين على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية 15, 16, 17, 18,19 يبين الجدول (4-16) اختلاف قيم التركيز المثبط الأدنى للجبرلين باختلاف العزلة الفطرية حيث بلغت قيمة ال MIC بالنسبة للفطريات *Penicillium expasum, Aspergillus oryzae,* Aspergillus *austwicki, Aspergillus flavus, , Penicillium brevicompatum, , Cladosporium cladosporioides,* (15ملغم/ مل) . اما الفطريات *A.nomius , A.tamarii ,* فكانت قيمة التركيز المثبط الأدنى لهما هو (16 ملغم\مل) . أما بالنسبة للفطريات *Cladosporium Uredinicola, Aspergillus flavus, Penicillium oxalicum, Aspergillus sydowii, Aspergillus Tamarii, Aspergillus nomius, Alternaria triticina, Penicillium griseofulvum, Aspergillus caespitosus, Aspergillus versicolor* كان التركيز المثبط الأدنى لها هو 17ملغم/ مل .

الجدول (4- 16) قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظم النمو الجبرلين

ت	نوع الفطر	التركيز 14 mg\ml	التركيز 15 mg\ml	التركيز 16 mg\ml	التركيز 17 mg\ml	التركيز 18 mg\ml	التركيز 19 mg\ml
1	***Penicillium oxalicum***	+	+	+	-	-	-

2	*Penicillium expasum*	+	-	-	-	-	-
3	*Aspergillus flavus*	+	+	-	-	-	-
4	*Cladosporium Uredinicola*	+	+	+	-	-	-
5	*Aspergillus sydowii*	+	+	+	-	-	-
6	*Aspergillus oryzae*	+	-	+	-	-	-
7	*Aspergillus tamarii*	+	+	-	-	-	-
8	*Aspergillus nomius*	+	+	_	-	-	-
9	*Alternaria triticina*	+	+	+	-	-	-
10	*Penicillium griseofulvum*	+	-	-	-	-	-
11	*Aspergillus austwicki*	+	-	-	-	-	-
12	*Aspergillus flavus*	+	-	-	-	-	-
13	*Cladosporium cladosporioides*	+	-	-	-	-	-
14	*Penicillium brevicompatum*	+	-	-	-	-	-
15	*Fusarium proliferatum*	+	+	+	-	-	-
16	*Aspergillus flavus*	+	+	+	-	-	-
17	*Aspergillus caespitosus*	+	+	+	-	-	-
18	*Aspergillus versicolor*	+	+	+	-	-	-

(+) وجود نمو (-) عدم وجود نمو

4-7-4 تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory concentration (MIC) لمنظم النمو الاندول استك اسد IAA

تم تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظم النمو الاندول استك اسد على الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية 10 ، 11 , 12 , 13 , 14 ملغم \مل كما في الجدول (4-17) وكانت قيم التركيز المثبط الأدنى لجميع الفطريات عند التركيز 10 ملغم /مل .

الجدول (4 -17) قيم تراكيز المثبط الأدنى لمنظم النمو الاندول استك اسد

ت	نوع الفطر	التركيز 10 mg\ml	التركيز 11 mg\ml	التركيز 12 mg\ml	التركيز 13 mg\ml	التركيز 14 mg\ml

1	*Penicillium oxalicum*	-	-	-	-	-
2	*Penicillium expasum*	-	-	-	-	-
3	*Aspergillus flavus*	-	-	-	-	-
4	*Cladosporium Uredinicola*	-	-	-	-	-
5	*Aspergillus sydowii*	-	-	-	-	-
6	*Aspergillus oryzae*	-	-	-	-	-
7	*Aspergillus tamarii*	-	-	-	-	-
8	*Aspergillus nomius*	-	-	-	-	-
9	*Alternaria triticina*	-	-	-	-	-
10	*Penicillium griseofulvum*	-	-	-	-	-
11	*Aspergillus austwicki*	-	-	-	-	-
12	*Aspergillus flavus*	-	-	-	-	-
13	*Cladosporium cladosporioides*	-	-	-	-	-
14	*Penicillium brevicompatum*	-	-	-	-	-
15	*Fusarium proliferatum*	-	-	-	-	-
16	*Aspergillus flavus*	-	-	-	-	-
17	*Aspergillus caespitosus*	-	-	-	-	-
18	*Aspergillus versicolor*	-	-	-	-	-

(+) وجود نمو (-) عدم وجود نمو

وقد يعود السبب في الانخفاض المعنوي في نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين للدور الإيجابي ل GA3 و IAA في تثبيط الفطريات وابطاء نموها وبالتالي انخفاض قطر المستعمرة Fernandez falcon)وآخرون ، 2003).

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل ofalN واخرون ،(1996) ، Noel واخرون،(2003) اذ بينت هذه الدراسات الدور المهم الذي تلعبه كمنظمات النمو في انخفاض نمو الفطريات المنتجة للسموم وزيادة مقاومة النبات لها اذ GA3 و IAA يعمل على تقليل نسبة الإصابة بالفطريات ولاتحدث أي تغيرات نتيجة الإصابة بالفطريات اذ تعمل منظمات النمو على تقليل نمو هايفات الفطر وسبوراته (Sharaf وFarrag، 2004) كذلك اتفقت هذه النتائج مع ماتوصل اليه افراح وحميدة (2014) و جاسم (2020) من خلال استخدام منظمات النمو GA3 و IAA التي كان لها دور فعال في تثبيط الفطريات المرافقة لبعض الأعشاب ويعزى السبب في الانخفاض المعنوي في قطر المستعمرة اذ يعمل الجبرلين على تقليل الرطوبة النسبية للمنطقة المصابة والتي لها دور مهم في نمو الفطريات اذ تعمل عى زيادة الكالس وفي نفس الوقت يعمل الجبرلين على تفسخ وانحلال الفايتو الكسينات التي لها دور مهم في مقاومة الفطريات

وبذلك سوف يحد GA3 من نمو الفطريات ويساعد في انخفاض شدة الإصابة (Santos ، 2000). كما ان منظم النمو IAA يمتلك قدرة عالية في تثبيط نمو الفطريات وذلك لقدرته في تحفيز النبات على انتاج بعض الانزيمات التي تساعد في تثبيط الفطر مثل الكاينيز البيروكسيديز وغيرها من الانزيمات التي تعمل على زيادة مقاومة النبات للإصابة الفطرية (Ueno واخرون ، 2004) كذلك بين النداوي (2006) والقيسي والجنابي (2006) التراكيز القليلة من GA3 ، IAA قادرة على زيادة نمو الفطريات من خلال زيادة نشاط ال DNA و RNA والمكونات البروتينية .

أثبتت نتائج التحليل الاحصائي أن منظم النمو الاندول استك اسد أكثر كفاءة في تثبيط الفطريات المختبرة من الجبرلين وعند إجراء مقارنة بين المستخلصات النباتية الكحولية والمائية لنبات القرنفل ومنظمات النمو الجبرلين والاندول استك اسد من خلال التحليل الاحصائي للتراكيز المستخدمة في تثبيط الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين نجد أن هناك فروقات معنوية واضحة كما موضح في الجدول (18-4) اذ ان جميع تراكيز المستخلصات النباتية والمنظمات قد أثر على نمو الفطريات المنتجة للسموم وكان الاكثر كفاءة من بينهم هو الاندول استك اسد يليه المستخلص الكحولي ثم الجبرلين واخيرا المستخلص المائي .

الجدول (4-18) مقارنة لمعدل التراكيز للمستخلصات النباتية ومنظمات النمو

التركيز	Maen S.D
control	a 11.32 +_46.81
ml\mg 2.5	b 10.63+9.04
ml\mg 5	c 5.62 +4.64
ml\mg 10	d 1.25+ 0.84
ml\mg 15	d 0.27 + 0.15
ml\mg 20	d 0.09 + 0.03
Total	17.98 + 10.25
(0.05) L.S.D	2.05

اما عند اجراء مقارنة بين معدلات الأقطار لمستخلصات النبات ومنظمات النمو فقد أوضح التحليل الاحصائي هناك فروق واضحة حيث اثبتت نتائج التحليل الاحصائي ان الأكثر تاثيرا على نمو الفطريات هوالاندول استك اسد اذ بلغ معدل الأقطار 7.96 ثم يليه المستخلص الكحولي لنبات القرنفل بمعدل قطر يبلغ 8.10 ثم منظم النمو الجبرلين اذ يبلغ معدل قطره 12.05 وأخيرا المستخلص المائي بمعدل 12.88 كما موضح بالجدول (4-19) .

الجدول (4-19) مقارنة لكفاءة المستخلصات في تثبيط نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين

المستخلص	Maen S.D
المستخلص الكحولي	b 18.80 + 8.10
المستخلص المائي	a 18.20 + 12.88
الجبرلين	ab 16.45 +12.05
الاندول استك اسد	b 18.03 + 7.96
Total	17.98+ 10.25
(L (0.05.S.D	4.42

7-4 توليفة بين قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلصات النباتية مع قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظمات النمو

للحصول على كفاءة أعلى من هذه المستخلصات النباتية ومنظمات النمو في تثبيط الفطريات ارتاينا عمل توليفة بين المستخلصات النباتية ومنظمات النمو من خلال أخذ التركيز المثبط الأدنى لكل مستخلص

1-7-4 تاثير التوليفة بين قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي مع قيم التركيز المثبط الأدنى لهرمون النمو الجبرلين

أوضحت النتائج الموضحة في الجدول (4-20) التركيز المثبط الأدنى لمنظم النمو الجبرلين مع المستخلص المائي لايوجد تثبيط للفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية

وكذلك الحال بالنسبة للتركيز المثبط الأدنى لمنظم النمو الاندول استك اسد مع المستخلص المائي لنبات القرنفل لم يحدث أي تثبيط للفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية . مما يدل على ان قدرة كل من المستخلص المائي ومنظمات النمو على تثبيط نمو الفطريات المنتجة للسموم تكون اعلى في حال استخدامها كلا على حدة .

اظهرت بعض الدراسات مثل دراسة جبر (2020) تفوق الفطر المحاري على سترات الكالسيوم في تثبيط الفطريات عند المعاملة المفردة لكل منهما .

قد يعود السبب في ذلك الى محاولة الفطريات المنتجة للسموم تكوين وحدات تكاثرية مقاومة وتكوين الابواغ (Loffler واخرون ، 2008) ومن المعروف ان الفطريات تحتاج النايتروجين كمصدر لتكوين نمواتها الخضرية فربما تحتوي هذه التوليفة على العديد من الاحماض الامينية والسكريات والبايرونات حفزت تكوين مثل هذه التراكيب (السهيلي واخرون ، 1980 ، Ghisalberti واخرون ، 1990)، او قد يكون السبب هو محاولة الفطر اجتياز الظرف الذي يمر به من تواجد المركبات الفعالة التي تحتويها

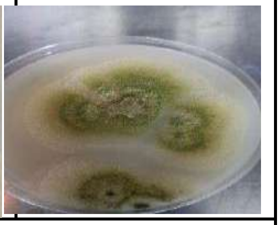
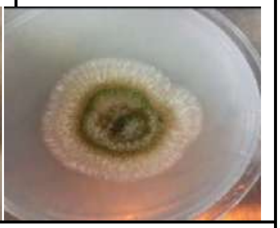
التوليفة وذلك بزيادة عدد الابواغ وهذا يتفق مع ماذكرته الجبوري (2003) التي اشارت الى زيادة اعداد الابواغ للفطر *Fusarium spp* عند معاملة وسطه الغذائي بالمبيدات الكيميائية .

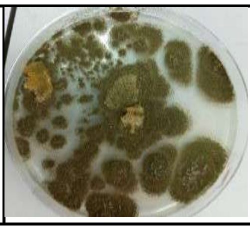
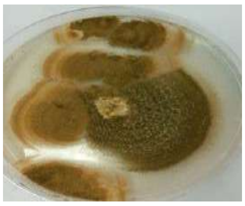
الجدول (4-20) نتائج توليفة قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي مع قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظمات النمو

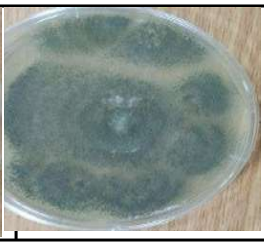
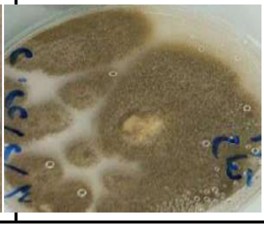
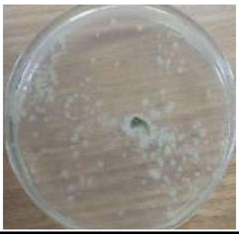
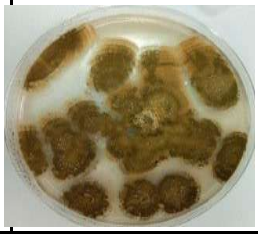
ت	نوع الفطر	المسخلص مائي+ الجبرلين			المستخلص مائي+الاندول استك اسد		
		التركيز 19+18	التركيز 19+19	التركيز 20+19	التركيز 19+13	التركيز 19+14	التركيز 20+14
1	***Penicillium oxalicum***	+	+	+	+	+	+
2	***Penicillium expansum***	+	+	+	+	+	+
3	***Aspergillus flavus***	+	+	+	+	+	+
4	***Cladosporium uredinicola***	+	+	+	+	+	+
5	***Aspergillus sydowii***	+	+	+	+	+	+
6	***Aspergillus oryzae***	+	+	+	+	+	+
7	***Aspergillus tamarii***	+	+	+	+	+	+
8	***Aspergillus nomius***	+	+	+	+	+	+
9	***Alternaria triticina***	+	+	+	+	+	+
10	***Penicillium griseofulvum***	+	+	+	+	+	+
11	***Aspergillus austwickii***	+	+	+	+	+	+
12	***Aspergillus flavus***	+	+	+	+	+	+
13	***Cladosporium cladosporioides***	+	+	+	+	+	+
14	***Penicillium brevicompatum***	+	+	+	+	+	+
15	***fusarium prelifera***	+	+	+	+	+	+
16	***Aspergillus caespitosus***	+	+	+	+	+	+
17	***Aspergillus flavus***	+	+	+	+	+	+
18	***Aspergillus versicolor***	+	+	+	+	+	+

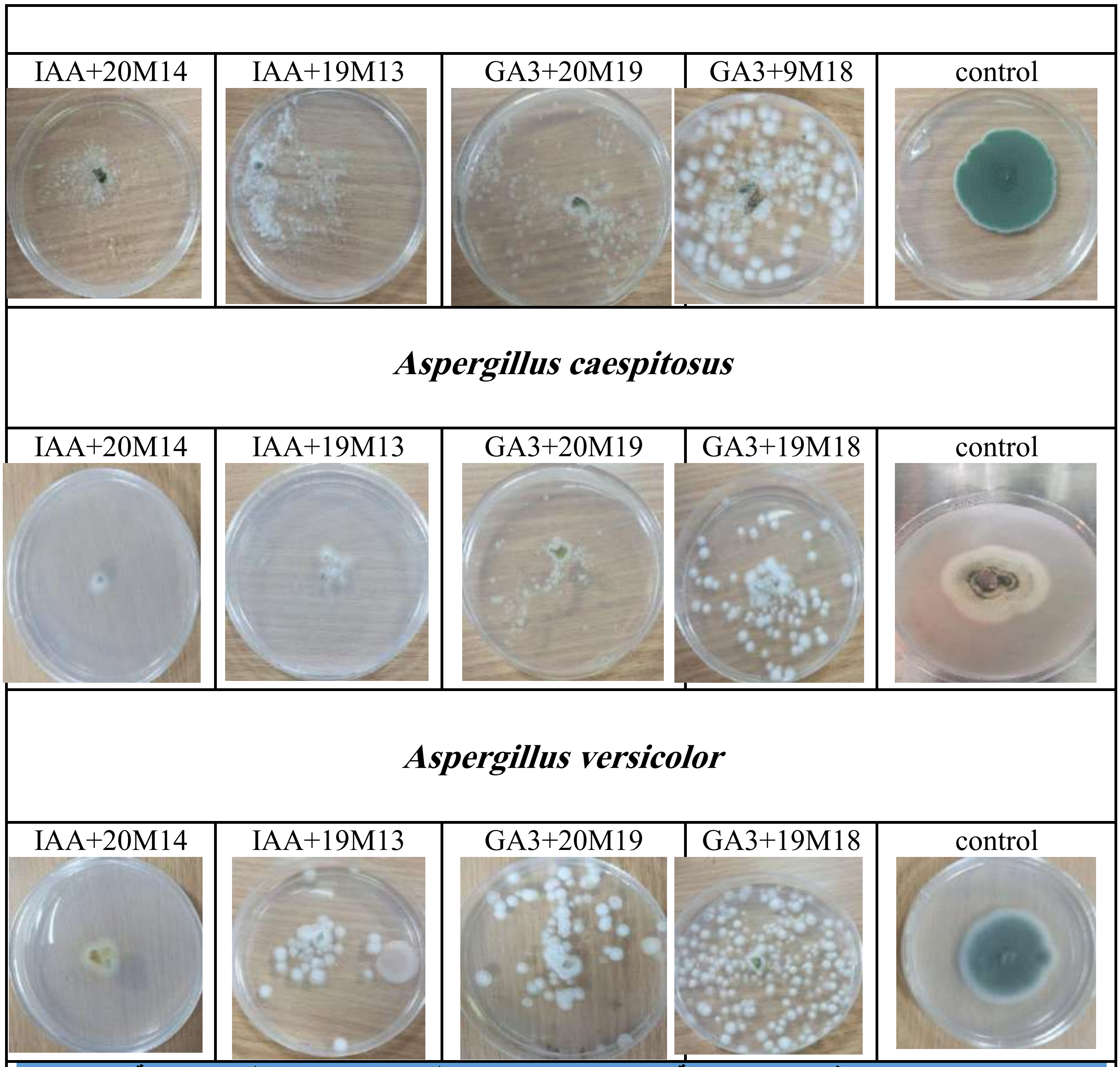
(+) وجود نمو (-) عدم وجود نمو

Penicillium oxalium

IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	GA3+19M18	control
Penicillium expansum				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	GA3+19M18	control
Aspergillus flavus				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	GA3+19M18	control
				
Cladosprium uredinicola				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M119	GA3+19M18	control
				
Aspergillus sydowii				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	GA3+19M18	control

				
Aspergillus oryzae				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	GA3+19M18	control
Aspergillus tamarii				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	GA3+19M18	control
				
Aspergillus nomius				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	GA3+19M18	control .
Alternaria triticina				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	mg\ml 5	control

				
Aspergillus austwicki				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	mg\ml 5	control 
Cladosporium cladosporioides				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	GA3+19M18	control
Penicillium brevicompatum				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19 	GA3+19M18	control 
Fusarium proleferatum				
IAA+20M14	IAA+19M13	GA3+20M19	GA3+19M18	control
Penicillium griseofulvum				



شكل (4-38) تاثيرتراكيز التوليفة المستخلص المائي ومنظمات النمو على الفطريات السامة

2-8-4 : تاثير التوليفة بين قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي مع قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظمي النمو الجبرلين والاندول استك اسد

أوضحت النتائج الموضحة في الجدول (4-21) التركيز المثبط الأدنى لمنظم النمو الجبرلين مع المستخلص الكحولي قد ثبط جميع الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية بنسبة 100٪ عند التركيز المثبط الأدنى ل GA3 (18) ملغم /مل والمستخلص الكحولي (1) ملغم /مل.

اما التركيز المثبط الأدنى لمنظم النمو الاندول استك اسد مع التركيز المثبط الأدنى المستخلص الكحولي لنبات القرنفل قد ثبط جميع الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين والمعزولة من المواد الغذائية بنسبة 100 %عند التركيز المثبط الأدنى الاندول استك اسد (13) ملغم /مل والمستخلص الكحولي (1) ملغم / مل

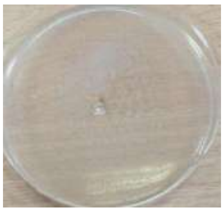
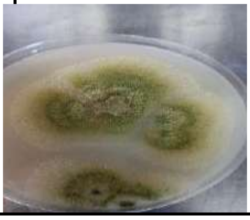
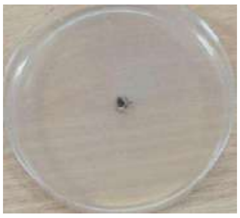
وقد يعود السبب في الانخفاض المعنوي في نمو الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين لما يمتلكه المستخلص الكحولي من صفات تجعله أكثر فعالية كما أوضحنا سابقا في قدرة الكحول الاثيلي على استخلاص وإذابة المواد الفعالة في الأجزاء المستخدمة من النبات مع الدور الإيجابي ل للجبرلين والاندول استك اسد في تثبيط الفطريات وابطاء نموها يعطي نتيجة أكثر فاعلية في قتل الفطريات المنتجة للسموم.

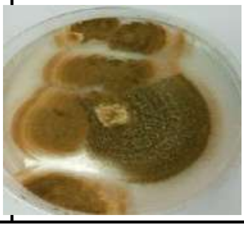
تتفق هذه النتائج من حيث المبدا مع ماتوصل اليه كلا من Ghayedi و Abdollah (2013) من خلال دراستهما لمدى تحمل عزلات الفطر *anisopliae .M* و ديوان واخرون (2017) اذ درس تاثير التداخل بين درجات الحرارة وتوليفات من مستحضر Fytomax وبعض الزيوت في حيوية الفطر *Metarihiium anisoplia b* اذ بينت النتائج كفاءة هذه التوليفات في المحافظة على حيوية الفطر .

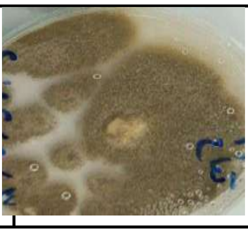
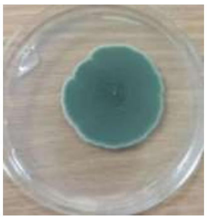
الجدول (4-21) نتائج توليفة قيم التركيز المثبط الأدنى للمستخلصات النباتية مع قيم التركيز المثبط الأدنى لمنظمات النمو

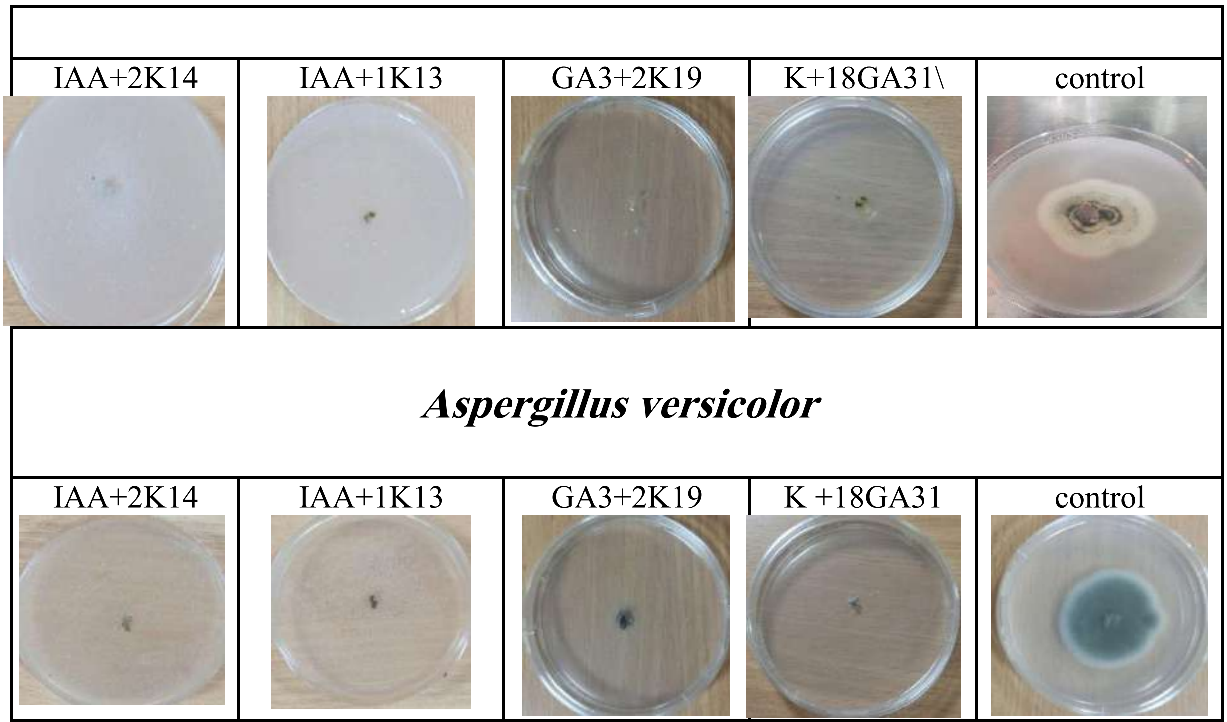
(+) وجود نمو (-) عدم وجود نمو

ت	نوع الفطر	المسخلص الكحولي + الجبرلين			المستخلص الكحولي +الاندول استك اسد		
		التركيز 1+17	التركيز 1+18	التركيز 2+19	التركيز 2+13	التركيز 1+14	التركيز 2+14
1	***Penicillium oxalicum***	+	-	-	-	-	-
2	***Penicillium expansum***	+	-	-	-	-	-
3	***Aspergillus flavus***	+	-	-	-	-	-
4	***Cladosporium uredinicola***	+	-	-	-	-	-
5	***Aspergillus sydowii***	+	-	-	-	-	-
6	***Aspergillus oryzae***	+	-	-	-	-	-
7	***tamarii Aspergillus***	+	-	-	-	-	-
8	***Aspergillus nomius***	+	-	-	-	-	-
9	***Alternaria triticina***	+	-	-	-	-	-
10	***Penicillium griseofulvum***	+	-	-	-	-	-
11	***Aspergillus austwickii***	+	-	-	-	-	-
12	***Aspergillus flavus***	+		-	-	-	-
13	***Cladosporium cladosporioides***	+	-	-	-	-	-
14	***Penicillium brevicompatum***	+	-	-	-	-	-
15	***fusarium prelifera***	+	-	-	-	-	-
16	***Aspergillus caespitousus***	+	-	-	-	-	-
17	***Aspergillus flavus***	+	-	-	-	-	-
18	***Aspergillus versicolor***	+	-	-	-	-	-

<table>
<tr><td>IAA+2K14</td><td>IAA+1K13</td><td>GA3+2K19</td><td>GA3+1K18</td><td>control</td></tr>
<tr><td> </td><td></td><td> </td><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td colspan="5">Penicillium expansum</td></tr>
<tr><td>IAA+2K14</td><td>K+13IAA1</td><td>GA3+2K19</td><td>K+18GA31</td><td>control</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td colspan="5">Aspergillus flavus</td></tr>
<tr><td>IAA+2K14</td><td>IAA+1K13</td><td>GA3+2K19</td><td>K+18GA31</td><td>control</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td></td></tr>
<tr><td colspan="5">Cladosprium uredinicola</td></tr>
<tr><td>IAA+2K14</td><td>IAA+1K13</td><td>GA3+2K19</td><td>K+18GA31</td><td>control</td></tr>
<tr><td> </td><td></td><td> </td><td> </td><td> </td></tr>
<tr><td colspan="5">Aspergillus sydowii</td></tr>
<tr><td>IAA+2K14</td><td>IAA+1K13</td><td>GA3+2K19</td><td>K+18GA31</td><td>control</td></tr>
<tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr>
</table>

Aspergillus oryzae				
IAA+2K14	IAA+1K13	GA3+2K19	K+18GA31	control
Aspergillus tamarii				
IAA+2K14	IAA+1K13	GA3+2K19	K+18GA31	control
				
Aspergillus nomius				
IAA+2K14	IAA+1K13	GA3+2K19	1 1K+18GA3	control .
Alternaria triticina				
IAA+2K14	IAA+1K13	GA3+2K19	K+ 18GA31\	control
Aspergillus austwicki				
IAA+2K14	IAA+1K13	GA3+2K19	K+18GA31	control

				
Cladosporium cladosporioides				
IAA+2K14	IAA+1K13	GA3+2K19	K+18GA31	control
Penicillium brevicompatum				
IAA+2K14	IAA+1K13	GA3+2K19	K+18GA31	control
Fusarium proleferatum				
IAA+2K14	IAA+1K13	GA3+2K19	K+18GA31	control
Penicillium griseofulvum				
IAA+2K14	IAA+1K13	GA3+2K19	K+18GA31\	control
				
Aspergillus caespitosus				



شكل (4-39) تاثيرتراكيزالتوليفة بين المستخلص الكحولي ومنظمات النمو على الفطريات السامة

4-9 الكشف عن المركبات الفعالة لنبات القرنفل

وضحت نتائج الجدول (4-22) في الكشف عن المواد الفعالة في نبات القرنفل وجود عدد من المركبات الكيميائية الفعالة حيث أظهرت النتائج باحتواء براعم ازهار نبات القرنفل على كل من الفلافونات والكلايكوسيدات والفينولات والتربينات والراتنجات والزيوت الطيارة والصابونيات و السترويدات والفلويدات وهذا يتفق مع ما جاء به Shan واخرون (2005) من خلال دراسته لخلاصة التوابل ومنها القرنفل ووصف 26 من موادها الفعالة . وكذلك قام Jirovetz واخرون (2006) بدراسة التركيب الكيميائي وخصائص مضادات الاكسدة لنبات القرنفل .وفي دراسة أخرى قام بها Saeed واخرون (2021) في دراسته حول تشخيص بعض المركبات الفعالة في نبات القرنفل وفعاليتها التثبيطية في بعض البكتريا والفطريات التي تنمو في علف الماشية .وكذلك في دراسة أخرى قام بها عبد (2011) للمستخلص المائي لنبات القرنفل وأوضحت النتائج احتوائه على القلويدات والكاربوهيدرات والصابونيات وعدم احتوائه على الفينولات والكومارين .

الجدول (4-22) المركبات الفعالة في المستخلصات المائية والكحولية لنبات القرنفل

ت	الكشوفات النوعية	المستخلص المائي	المستخلص الكحولي
1	الكشف عن الكاربوهيدرات	+	+
2	الكشف عن القلويدات	-	+
3	الكشف عن التانينات	+	+
4	الكشف عن الصابونيات	+	-
5	الكشف عن الرانتجات	+	+
6	الكشف عن الفلافونيدات	+	+
7	الكشف عن الكلايكوسيدات	+	+
8	الكشف عن الفينولات	-	+
9	الكشف عن الكومارين	-	+

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

5-الاستنتاجات والتوصيات

أولا : الاستنتاجات

1-أوضحت نتائج الدراسة وجود نسبة تلوث عالية بالفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين في منتجات المواد الغذائية التي تم جمعها .

2- اثبت التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة من المواد الغذائية أن هناك تطابق بنسبة 99-100% مع العزلات الفطرية العالمية .

3 -كفاءة المستخلص الكحولي لنبات القرنفل في تثبيط الفطريات وبتراكيز قليلة حيث كان التركيز قاتل لجميع الفطريات 2.5 ملغم /مل .

4 –قدرة كل من منظمي النمو IAA و GA3 على تثبيط الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين .

5 – اثبتت التوليفة من المستخلص الكحولي مع منظمات النمو النباتية فعالية عالية في تثبيط الفطريات المنتجة لسم الافلاتوكسين وبتراكيز قليلة.

ثانيا : التوصيات

يمكن أن تنمو السموم الفطرية على سطح الأطعمة وكذلك تخترق أعماق الطعام. ومع ذلك ، نادرًا ما تنمو السموم الفطرية على الأطعمة الجافة والنظيفة المخزنة بشكل صحيح.نوصي بماياتي

1-الانتباه بشكل خاص إلى الحبوب الكاملة والفواكه المجففة والمكسرات بحثًا عن علامات العفن أو التعفن.

2- عدم تناول او تخزين الحبوب التالفة.

3- تخزين الأطعمة في بيئات لاتحتوي على حشرات وباردة وذات تهوية جيدة .

4- استخدام المستخلصات النباتية ومنظمات النمو كمواد حافظة بدل من المواد الكيميائية .

5- تجربة الطريقة النانوية كمزيج مع منظمات النمو والمستخلصات النباتية لاعطاء افضل النتائج في تثبيط الفطريات المرافقة للمواد الغذائية.

6- استخدام نباتات طبية أخرى في تثبيط الفطريات المنتجة للسموم.

7- استخدام منظمات نمو أخرى واختبار فعاليتها في تثبيط الفطريات المنتجة للسموم .

8-اجراء دراسات حول تاثير السموم الفطرية في داخل الجسم الحي مثل تاثيرها على انسجة الكبد والطحال باستخدام الحيوانات المختبرية.

المصادر

References

المصادر العربية

الإمام ، محمد الطاهر (2007). تصميم و تحليل التجارب . دار المريخ للنشر، المملكة العربية السعودية ، ط1 : ص: 408

جاسم ، ناجي سالم (2017). الفعالية التثبيطية لعدد من المستخلصات النباتية ضد الفطر *Alternaria alternate* كأحد مسببات مرض تبقع اوراق نخيل التمر *Phoenix dactylifera L*. مركز أبحاث لنخيل - جامعة البصرة-البصرة-العراق .المجلد : 16، العدد:(1).

جاسم ،زهراء ماجد (2020) . دراسة تشخيصية للفطريات المنتجة للسموم من بعض ة الأعشاب المحلية وتاثير بعض منظمات النمو النباتية فيها . رسالة ماجستير ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة كربلاء ، العراق .

جبر ، محمد حمزة حليم (2020) .امكانية السيطرة على احد الفطريات المنتجة للسموم والمرافقة لبعض الحبوب العلفية للدواجن والطيور باستخدام الفطر المحاري وسترات الكاسيوم . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة القادسية ، العراق .

الجبوري ، سعدية ياسر عوفي (2003) . حياتية وامراضية بعض أنواع الفطر *fusarium spp* في حقول الرز ، رسالة ماجستير – كلية العلوم-جامعة بابل-العراق.

جعفر ،محمد موسى و كريدي ، حسين عودة و مطلك ،خميس حبيب واحمد ،سندس حميد (2013) . تاثير مستخلصات ثمار القرنفل *Ianthus carphyllus* على الحمل البكتيري للحم الدجاج الطري .مجلة جامعة النهرين ، المجلد :16 ، العدد:(3) ، ص :7-41.

الجنابي ، علي عبد الحسين صادق (2004). معالجة الأمراض الجلدية المتسببة عن Dermatophytes الفطريات الجلدية بمستحضرات حاوية على بعض مركبات البيورين . أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية.

الجنابي، سندس جميل (1998) . تأثير بعض المواد الحافظة للأغذية في نمو الفطر *Aspergillus flavus* Link ex Fries وإنتاجها للافلاتوكسين في الطحين . رسالة ماجستير. كلية التربية -ابن الهيثم - جامعة بغداد.

خضير ، امال سالم هادي (2021) . تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات الميرمية *Salvia officinalis* في بعض الفطريات المنتجة لسم الافلا والمعزولة من بعض منتجات الحليب . رسالة ماجستير ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة كربلاء ، العراق .

خلف ، مخلد صباح (2018) .دراسة عزل وتشخيص الفطريات من الحبوب والمكسرات والفواكه المجففة . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة الكوت ، العراق .

ديوان ، حسين مكطوف ، وحيد . قحطان وحيد ، عبدالله . ماجد إبراهيم ، كشمر . حسين نعمة ، عباس .بلاسم احمد (2017). تاثير التداخل بين درجات الحرارة وتوليفات من مستحضر Fytomax و بعض الزيوت في حيوية الفطر *anlsopliae Metarhizium* *تحت ظروف المختبر* . مجلة الزراعة العراقية البحثية . مجلد:22.عدد:8.

الساعدي ،هادي علوان محمد و والكرماني ،ياسر موفق و الزبيدي ،نجم عبدالله (2013) . تاثير المستخلصات النباتية الخام لنباتات القرفة والقرنفل والزعتر على نمو عزلة الفطر*flavus*

Aspergillus المنتجة للافلاتوكسين B1. مجلة ديالى للعلوم الزراعية . مجلد :5 العدد :2 ص:593-602 .

السامرائي ، نجوى شهاب احمد (2004) . استخلاص وتنقية منظم النمو حامض الاندول خليك IAA المنتج من العزلة المحلية Fusariumoxysporum ودراسة الظروف المثلى للانتاج . رسالة ماجستير معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية ، جامعة بغداد .

السعيدي ، احمد عبدالله حمد الدباش (2002) . التحري عن الفطريات وسموم الافلاتوآسين B1 وM1 في بعض عينات الجبن المنتجة في بغداد . رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد . .

السهيلي ، إبراهيم عزيز خالد, قيصر نجيب صالح وعبد الطيف سالم إسماعيل (1980). الفطريات مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل . ص : 320 .

الظالمي ، افراح مهدي و حميدة نور عبد (2014). استحثاث بادرات اللوبيا *Vina unguiculata* في مقاومة الفطر *Aspergillus flavus* باستخدام منظمات النمو النباتية Indol acetic acid و Gibberellic acid .مجلة جامعة ذي قار، كلية التربية للبنات ، جامعة الكوفة ، العراق . 9(3).

العاني ،لمياء محمد نوري ، منى جاسم ، زينب ياسين والخماس عبد الهادي عبد الحميد (2001) . مجلة الدواء العربي .2:90-101.

عبد،رضية نجم (2011) . دراسة النشاط المضاد للتطفير والاكسدة لمستخلص نبات القرنفل في ذكور الجرذان البيض . رسالة ماجستير ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، علوم حياة ، جامعة كربلاء ، العراق .

عبدول ، كريم صالح (1987). منظمات النمو النباتية- مديرية دار الكتب للطباعة والنشر,جامعة الموصل العراق.656 صفحة.

الغزالي ، ليندا حميد تركي و الظويهري ، زهير حميد عبود (2012) . دراسة الفعل التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية ضد بعض الفطريات الجلدية Dermatophytes ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة كربلاء ، العراق .

كاظم ، ايمان جواد ،كريم ، فاطمة هادي و صكر ،سيلان حسين (2021). تاثير مستخلصات جذور الباذنجان في نمو فطور الخزن لحبوب القمح والتحري عن قابليتها على إنتاج الافلاتوكسين في مخازن بابل .العراق . قسم تقنيات المقاومة الاحيائية ،كلية التقنية المسيب ،جامعة الفرات الاوسط التقنية ،بابل ،العراق. مجلة وقاية النبات العربية . 39(1):29-38.

مرجان ،علي فاضل (2010) . تاثير المبيد الفطري Dividen D3 ومسحوق القرنفل *Syzygium aromaticum* L. في تثبيط نمو الفطريات المرافقة لبذور الرقي Citrullus lanatus mansf . مجلة جامعة بابل ، العلوم الصرفة والتطبيقية .المجلد :18.العدد:3.ص:9 .

مطني ، عدي نجم (2014) . السموم الفطرية : النظرية والمفهوم العام . مطبعة الشيماء ، بغداد ، العراق ، صفحة 2830.

النداوي, بشير عبد الله (2006). استجابة نبات الحبة السوداء لمنظمات النمو النباتية ومواعيد الزراعة. رسالة ماجستير، كلية الزراعة ، جامعة بغداد ، العراق.

الوائلي ،ضياء سالم علي وصباح مالك حبيب الشطي (2002) . التاثير التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية لبعض انواع الفطر Alternaria الممرضة للنبات . مجلة المعلم الجامعي

وصفي ،عماد الدين (1995) .منظمات النمو والازهار . المكتبة الاكاديمية . ص:705 .

المصادر الأجنبية :

Abdel-Fattah, S.M.; Badr, A.N.; Seif, F.A.-H. ; Ali S.M and Hassan A .(.2018) .Antifungal and antimycotoxigenic impact of eco-friendly extracts of wild stevia. J. Biol. Sci. 2018;18:488–499 .

Achaglinkame, M.A. ; Opoku, N. and Amagloh, F.K. (2017) . Aflatoxin contamination in cereals and legumes to reconsider usage as complementary food ingredients for Ghanaian infants: A review. J. Nutr. Intermed. Metab., 10, 1–7.

Adebiyi, J.A.; Kayitesi, E.; Adebo, O.A. ; Changwa, R. ; and Njobeh, P.B.(2019). Food fermentation and mycotoxin detoxification: an African perspective. Food Contr.;106:106731 .

Adebo, O.A.; Molelekoa, T. ; Makhuvele, R. ; Adebiyi J.A. ; Oyedeji A.B. ; Gbashi, S. ; Adefisoye, M.A. ; Ogundele, O.M. ; and Njobeh, P.B. (2020) . A review on novel non-thermal food processing techniques for mycotoxin reduction. Int. J. Food Sci. Technol

Adebo, O.A. ; Njobeh, P.B. ; Gbashi, S. ; and Nwinyi, O.C. (2017). Mavumengwana V. Review on microbial degradation of aflatoxins. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.;57:3208–3217 .

Adebo, O.A. (2020) . Gabriela Medina-Meza I. Impact of fermentation on the phenolic compounds and antioxidant activity of whole cereal grains: a mini review. Molecules.;25:927.

Adedayo,O. ; Anderson , W . ; Younge M . ; Sncickus, V. ; Patil Agbetiameh, D.; Ortega-Beltran, A.; Awuah, R.T.; Atehnkeng, J.; Cotty, P.J . and Bandyopadhyay, R.(2018) . Prevalence of Aflatoxin Contamination in Maize and Groundnut in Ghana: Population Structure, Distribution, and Toxigenicity of the Causal Agents. Plant Dis., 102, 764–772. [CrossRef] 127.

Ahmad and Gholib (2016). Important mycotic diseases in animal livestock caused by some agriculture fungi in Indonesia Int. J. Trop. Vet. Biomed. Res., 1 ,pp. 38-44.

Ahmed, I. ; Mehmood, Z. and Mohammad, f. (1998). Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. J . Enthnopharmacole. , 62: 183 – 193

Ahmed, I. ; Mehmood, Z. and Mohammad, f. (1998). Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. J . Enthnopharmacole. , 62: 183 – 193

Alabi O.; Anokwuru, C.; Ezekiel, C.; Ajibaye, O.; Nwadike, U.; Fasasi, O.; and Abu, M.(2011). Anti-mutagenic and anti-genotoxic effect of Ethanolic extract of neem on dietary-aflatoxin induced Genotoxicity in mice. J. Biol. Sci.;11: 307–313.

Alberts, J.; Rheeder, J.; Gelderblom, W.; Shephard, G.; and Burger H. (2019),. Rural subsistence maize farming in South Africa: risk assessment and intervention models for reduction of exposure to Fumonisin mycotoxins. Toxins.;11:334.

Al-Khazragi, S.M. (1991).Biopharmacological study of Artemisia herba Alba. M.SC.Thesis .Baghdad University

Angele, N.T. ; Paul, FM.; and Félicité, M.T. (2010). Aflatoxin Contamination in Food and Body Fluids in Relation to Malnutrition and Cancer Status in Cameroon. Int. J. Environ. Res. Public Health, 7, 178-188 .

Anjorin, T.S.; Salako, E.A.; and Makun, H.A. INTECH (2013). Control of Toxigenic Fungi and Mycotoxins with Phytochemicals: Potentials and Challenges; p. 181. Chapter 8 .

Anonymous (2017). Stop neglecting fungi Nat. Microbiol.,(2), p. 17120

Ayelign and De Saeger S.(2020) .Mycotoxins in Ethiopia: Current status, implications to food safety and mitigation strategies. Food Control.;113:107163

Balina, A. ; Kebede, A. and Tamiru, Y. (2018). Review on Afltoxin and itsImpacts on Livestock. Journal of Dairy & Veterinary Sciences) 6 (2 .

Benedict, K. ; Chiller, T.M. and Mody, R.K. (2016). Invasive fungal infections acquired from contaminated food or nutritional supplements: a review of the literature Foodborne Pathog. Dis., 13 (2016), pp. 343-349.

Bennett, J.W. and Klich, M.(2003). Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev. 2003;16:497–516

Berners-Lee, C. ; Kennelly, R. and Watson, C.N. (2018). Current global food production is sufficient to meet human nutritional needs in 2050 provided there is radical societal adaptation. Elem. Sci. Anth., p6 .

Bhattachar, S.(2011) . Natural antimutagens: a review. Res. J. Med. Plant. (2011);5:116–126.

Birren, M. B. G.; Fink, E.and Lander .(2002). Fungal Genome Initiative: White Paper Developed by the Fungal Research Community Whitehead Institute Center for Genome Research, Cambridge, Books Ltd. Sunshine House ,Ibadan ,Nigeria . P :134-156.

Booth, T.; Gorrie,S and Muhsin ,T.M.(1988). Life strategies amongfungal assemblages on salicomia europaca agg. Mycologia,80:176-191.

Bowers, J.H. and Locke, J.C. (2004). Efect of formulated plant extract and oil on population density of *Phytophthora nicotinae* in soil and control of phytophthora blight in the green house. Plant Disease,88:11-16.

Caceres, I.(2020). Aflatoxin biosynthesis and genetic regulation: A review. Toxins.;12(3):1-28.

Campbell-Platt, G. and Cook, P.E. (1989). Fungi in the production of foods and their ingredients. Journal of Applied Bacteriology 67: S117–S131 .

Cavaliere, C.(2006). Liquid chromatography/tandem mass spectrometric confirmatory method for determining aflatoxin M1 in cow milk: C omparison between electrospray and atmospheric pressure photoionization sources. Journal of Chromatography. A.;1101(1-2):69-78.

Celik, K. Nanomycotoxicology. Elsevier (2020). The efficacy of mycotoxin-detoxifying and biotransforming agents in animal nutrition; pp. 271–284.

Chagwiza, C. ; Mapfumo, P. ; Antwi, M.(2020). Impact of Climate Change on Maize Yield. J. Agribus. Rural. Dev. 2020, 58, 359–367.

Clove (2014) .(Syzygium aromaticum): a precious spice. Asian Pacific .journal of tropical biomedicine, 4(2), 90-96.

Čolović, R.; Puvača, N.; Cheli, F.;Avantaggiato, G.; Greco, D.; Đuragić, O.; Kos, J.; and Pinotti, L. (2019). Decontamination of Mycotoxin-contaminated feedstuffs and compound feed. Toxins.;11(11):617.

Campbell, C.k.; Johnson, E.M. and Warnock, D.W.(2013). Identification of Pathogenic Fungi. Second Edition , Health Protection Agency Publishedby Blackwell Publishing Ltd.

Darwish, W .S. (2014). An overview on mycotoxin contamination of foods in Africa. The Journal of Veterinary Medical Science.;76(6):789-797

Das, S.; Chaudhari, A.K.; Deepika, A.S.; Singh, V.K.; Dwivedy, A.K.; and Dubey, N.K. (2020). Functional and Preservative Properties of Phytochemicals. Academic Press;. 6 - Foodborne microbial toxins and their inhibition by plant-based chemicals; pp. 165–207.

Davenport, R. P.R. and Ashurst, E.d.(1998), Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices, Sheffield Academic Press, Sheffield, UK (1998), pp. 197-216.

Davis, P.J. (1995). Plant Hormones: PHysiology, Biochemistry and Molecular Biology, second ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands. pp. 1–12.

Dias, D.A.; Urban, S.; and Roessner, U. (2012) .A historical overview of natural products in drug discovery. Metabolites.;2:303–336.

Dikhoba, P.; Mongalo, N., Elgorashi, E. and Makhafola, T. (2019). Antifungal and anti-mycotoxigenic activity of selected South African medicinal plants species. Heliyon. ;5 .

Dövényi-Nagy, T. ; Rácz, C. ; Molnár, K. ; Bakó, K. ; Szláma, Z. ; Jó´zwiak, A. ; Farkas, Z.; Pócsi, I. and Dobos, A.C. (2020). Pre-Harvest Modelling and Mitigation of Aflatoxins in Maize in a Changing Climatic Environment—A Review. Toxins, 12, 768

El-Kallal, S.M.(2007). Induction and modulation of resistance in Tomato plants against Fusarium wilt disease by bioagent fungi (Arbuscular mycorrhiza) and/ or hormonal elicitors (Jasmonic acid and salicylic acid). .Aust. J.Basic & applied Sci., 1(4): 691-705

Eman, S. and Ayman, F. (2004). Induced resistance in tomato plants by IAA against *Fusarium oxysporum* lycopersico. Polish J.Microb.,53(2): 111-116.

Emechebe, A.M. and Lagoke, S.T.(2003). Recent advanced in researchon Cowpea diseases.Cowpea integrated pest .management.J.Phytopathol., 47(2): 56-64

Emongor, V.(2007). Gibberellic acid (GA3) influence on vegetative. growth, nodulation and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Walp. J.Agron.,6(4): 509-517.

Ergün, N. Topcuoglu, S.F. and Yildiz, A. (2002). Auxin (Indole-3-acetic acid), Gibberelli acid (GA3), Abscisic Acid (ABA) and Cytokinin (Zeatin) Production by Some Species of Mosses and Lichens. Turk J Bot., 26:13-18.

Fatouh, Y.O. (2014). Effect of Some Botanical Powdered Plants against Root Rot Disease Incidence of Bean under Field Conditions. IJEIT., 4(1): 162-167.

Fernández-Falcon, M.; and Pérez, A. (2003). Induced resistance to Fusarium wilt of Banana by exogenous application of indole acetic acid. Phytoprotection,84: 149 153.

Fisher, M.C.; Fisher, N.J.; Hawkins, D. ; Sanglard, S.J. and Gurr .(2018). Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. Science, 360 ,pp. 739-742

Fisher,M.C. ; D.A. Henk, C.J.; Briggs, J.S. ;Brownstein, L.C.; Madof f.; McCraw, S.L. and Gurr, S.J. (.2012) . Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health Nature, 484 ,pp. 186-19.

Gacem, M.A.; Gacem, H.; Telli, A. and Khelil, A.O.(2020). Nanomycotoxicology. Elsevier. Mycotoxins: decontamination and nanocontrol methods; pp. 189–196.

Galvano, F.; Piva, A.; Ritieni, A. and Galvano, G.(2001) . Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. J. Food Protect;64:120–131 .

Geisman, T. A. (1962). Chemistry of Favonoids Compounds .Macmillan Co New York. 90-101.

Gerlach, W. and Nirenberg, H. (1982). Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt Für Land- und Forstwirtschaft (Berlin - Dahlem),The genus Fusarium - A pictorial atlas, 309:1-40

Ghayedi, S. and Abdollahi, M. (2013). Biocontrol potential of Metarhizium anisopliae (Hypocreales: Clavicipitaceae), isolated from suppressive soils of the Boyer-Ahmad Region, Iran, against J2S OF Hterodera avenae, Jr .Plant Protec. Res.,53(2):165 –171

Han, X. and Parker, T.L.(2017). Anti-inflammatory activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil in human dermal fibroblasts. Pharm. Biol. 2017;55:1619–1622. doi: 10.1080/13880209..1314513.

Haque, M.A.;Wang ,Y.; Shen, Z.; Li, X.; Saleemi, M.K. and He, C.(2020). Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: a review. Microb. Pathog.:104095.

Harbone, J.B. (1973). Phytochemical methods. Chapman and Hall . London

Harborne,J.B. (1984). Phytochemical methods aguide to modern techniques of plant analysis . 2nd ed.Chapman and Hall,London , NewYork. P 288 .

Horn, R.C. (2008) . Vargas V.M. Mutagenicity and antimutagenicity of teas used in popular medicine in the Salmonella/microsome assay. Toxicol. Vitro. ;22:1043–1049

Houbraken, J.; Frisvad, J.C. ; Hubka, V. ; Ezekiel, C.N. ; Hong, S. B.; Nováková, A.; **Chen, A.J.; Arzaniou, M.; Larsen, T.O. ; Senér, F.W.; Mahakamchanaku,W.and Samson, R.A. (201**9) . Taxonomy of Aspergillus section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. STUDIES I N MYCOLOGY 93 1-63 .

Hussain, Z.(2010). Residues of aflatoxin B1 in broiler meat: Effect of age and dietary aflatoxin B1 levels. Food and Chemical Toxicology.;48(12):3304-3307.

Iqbal, S.Z.(2014). Natural incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in chicken meat and eggs. Food Control.;43:98-103.

Iram, W.; Anjum, T.; Iqbal, M.; Ghaffar, A. and Abbas, M.(2016) .Structural elucidation and toxicity assessment of degraded products of aflatoxin B1 and B2 by aqueous extracts of Trachyspermum ammi. Front. .Microbiol. ;7 . J.Phytopathol., 47(2): 56-64

Jirovetz, L. ; Buchbauer, G. ; Stoilova, I. ; Stoyanova, A.; Krastanov , A. and Schmidt, E.(2006). Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. J Agric Food Chem.;54(17):6303–

Karlovsky, P.; Suman, M.; Berthiller, F.; De Meester, J.; Eisenbrand, G.; Perrin, I.; Oswald, I.P.; Speijers, G.; Chiodini, A.; Recker, T. and Dussort, P.(2016) . Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. Mycotoxin Res.;32:179–205.

Kaur, P. D. ; Mal, A.; Sheokand Shweta, L. Singh and Datta, S. (2018). Role of Plant Growth Regulators in Vegetable Production: A .Review, Int. J.Curr.Microbiol.App.Sci. 7(06): 2177-2183

Kavitha, K.; Vijaya, N.; Krishnaveni , A.; Arthanareeswari, M.; Rajendran, S.; Al-Hashem, A. and Subramania, A.(2020). Nanomaterials for antifungal applications. Nanotoxicity.:385–398.

Khanzada, S.h.A ; Iqbal, S.h.M. and Akram, A.(2006). Invito of plant leaf extracts against Sclerotium rolfsii Saac . efficiency 51-53. : (Mycopath . 4(1

Khalifa, M. I.; Al-Ashmawy, M. A.; and Abdel-Khalik, A. (2013). Mycological evaluation of serving some dairy products with specific reference to mycotoxins production in Azhar University Student Hostels .World J of Dairy and Food Sciences; 8:165-170.

Krishna Murthy, H.N. (1987). Plant growth materials and their uses in agriculture

Leslie, J.F. and Summerell, B.A. (2006). The Fusarium laboratory manal. 1st ed. Blackwell Publishing Ltd; Oxford, London

Liew, W. P. P. and Mohd-Redzwan, S.(2018). Mycotoxin: its impact on gut health and microbiota. Frontiers in cellular and infection microbiology.;8:60.

Lin, V. A. and Dianese, P. R. (1976). Some factors influencing aflatoxin .production in fermented sausages. J. food sci. 47: 1773-1775

Liu, S.J.; Wu, Y.N. and Chan, L.(2020) . Application of metabonomics approach in food safety research-a review. Food Reviews International.;36(6):547-558.

Loffler, H.J.M.; Van Dongen, M. and Schippers, B. (2008). effect of **-** NH4 on Chlamydospore formation of Fusarium oxysporum f.sp. dianthi in an NH4-Flow System 123.

Loi, M.; Paciolla, C.; Logrieco, A. and Mule, G. (2020). Plant bioactive compounds in pre- and post-harvest management for aflatoxins reduction. Front. Microbiol.;11 .

Lyagin, I. and Efremenko E.(2019) . Enzymes for detoxification of various mycotoxins: origins and mechanisms of catalytic action. Molecules.;24(13):2362.

Magan, N. and Aldred, D.(2007). Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. International Journal of Food Microbiology.;119(1-2):131-139

Mahato, D.K.; Lee, K.E.; Kamle, M.; Devi, S.; Dewangan, K.; Kumar, P. and Kang, S.G.(2019) . Aflatoxins in food and feed: an overview on prevalence, detection and control strategies. Front. Microbiol. ;10 .

Mahmoud Nassar, I .; Al-Gorab, A.H. and farrag, A.H.(2007). Chamical constituents of clove(Syzygium aromaticum ,fam myritaceaeand their antioxidant activity articale . Revista Lation Americana de Quimica 35(3).

Makhafola, T.J.; Elgorashi, E.E.; McGaw, L.J.; Awouafack, M.D.; Verschaeve, L. and Eloff, J.N.(2017). Isolation and characterization of the compounds responsible for tantimutagenic activity of Combretum microphyllum (Combretaceae) leaf extracts. BMC Compl. Alternative Med.;17.

Mandal, S.M.; Mondal, K.C.; Dey, S. and Pati, B.R. (2007). Optimization of cultural and nutritional conditions for Indol-3- Acetic Acid (IAA) production by a Rhizobium sp. Isolated from root nodules of Vingamungo (L.) Hepper. Res. J. Microbial .246-2:239

Marroquin-Cardona, A.G.; Johnson, N.M.; Phillips, T.D. and Hayes, A.W. (2014). Mycotoxins in a changing global environment- A review. Food Chem. Toxicol.;69:220–230.

Martínez-Herrera, A.; Pozos-Guillén, A.; Ruiz-Rodríguez, S.; Garrocho-Rangel, A. and Vértiz-Hernández, A. (2016). Escobar-García D.M. Effect of 4-Allyl-1-hydroxy-2-methoxybenzene (eugenol) on inflammatory and apoptosis processes in dental pulp fibroblasts. Mediators Inflamm. 2016;2016:9371403. doi: 10.1155/2016/9371403.

Martins, C. (2020) . Are data from mycotoxins' urinary biomarkers and food surveys linked? A review underneath risk assessment. Food Reviews International.:1-26.

Mathuria, N. and Verma, R.J.(2007). Aflatoxin induced hemolysis and its amelioration by tumeric extracts and curcumin in vitro. Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research.;64:165–168.

Medina, A.; Akbar, A.; Baazeem, A.; Rodriguez, A.; and Magan, N.(2017). Climate change, food security and mycotoxins: Do we know enough? Fungal Biol. Rev. 31, 143–1

Meng, D.; Garba, B.; Ren, Y.; Yao, M.; Xia, X.; Li, M. and Wang, Y.(2020). Antifungal activity of chitosan against Aspergillus ochraceus and its possible mechanisms of action. Int. J. Biol. Macromol.;158:1063–1070.

Meyer, E. and Walther,A.(1988). Methods for the estimation of protein ,lipid ,carbohydrate and chitin in fresh water invertebrates .J.Arch.Hydrobiol.,13 : 161-17**.**

Michniewicz, M.and Rozej, B. (1988). Is the gibberellin-limiting factor for the growth and development of Fusarium culmorum. Acta Physiol. Plant. 10, 227–236.

Moubasher , A.H.(1993). Soil fungi in Qatar and other arab countries • .Doha ,university of Qatar ,center of scientific and applied research .First **.**published

Mokhtar, M.M.; El-Mougy, N.S.; Abdel-Kareem, F.; El-Gamaal, N.G. and Fatouh, Y.O. (2014). Effect of Some Botanical Powdered Plantsagainst Root Rot DiseaseIncidence of Beanunder Field Conditions. IJEIT., 4(1): 162-167.

Moura-Costa, G.F.; El-Mougy, N.S.; Abdel-Kareem, F.; El-Gamaal, N.G. ; Mokhtar, M.M.; Nocchi, S.R.; Ceole, L.F.; Mello, J.C.; Nakamura, C.V.; Filho, B.P.; Temponi, L.G. and Ueda-Naamura, T.(2012). Antimicrobial activity of plants used as medicinals on an indigenous reserve in Rio das cobras, Parana, Brazil. J. Ethnopharmacol. ;143:631–638 .

Mukhtar, F.B. (2004). Differential Growth Responses of Photoperiod sensitive and Photoperiod-Insensitive Cowpea varieties to planting season and gibberellic acid treatment. BEST Journal, 1 (1): 73-78.

Musiime,O. ; Tenywa, M.M. ; Majaliwa, M.J.G. ; Lufafa, A. ; Nanfum, D. ; Wasige, J.E. ;Woomer, P.L. and Kyondha, M.. (2005). Constraints to rice production in Bugiri District Afr. Crop Sci. Conf. Proc., 7 (2005), pp. 1496-1499.

Narayanasamy, P. (2011). Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis. Fungal Pathogens. Springer Science and Business .Media B.V. London

Nashwa, S.M. and Abo- Elyousr, K.A.M. (2012). Evalution of various plant extract against the early blight disease of tomato plants under greenhouse and field condition . Plant Prot. Sci. 48(2):74-79 .

Negash, D. (2018). A Review of Afltoxin: Occurrence, Prevention, and Gaps in Both Food and Feed Safety. Ethiopian Meat and Dairy Industry Development Institute, Ethiopia. J. Applied Microbiol.Res.

Nleya, N.; Adetunji, M.C. and Mwanza, M. (2018) .Current Status of Mycotoxin Contamination of Food Commodities in Zimbabwe. Toxins 2018, 10, 89.

Noel, G.M.; Madrid, E. and Lamattina, L.(2003). Indole acetic acid attenuates disease severityinpotato phytophthora infestans interaction and inhibits the pathogen growth in vitro .plant physiology in greenhouse .Act.Hort., 434:177-184

Nofal, M.A.; El-Naggar, M.A. and Ismail, B.R.(1996). Plant grow regulators effect on root rot incidence of sweet pepper growth in greenhouse. Act.Hort., 434: 177-184.

Ojiambo, P.S.; Battilani, P.; Cary, J.W.; Blum, B.H. and Carbone, I. (2018). Cultural and Genetic Approaches to Manage Aflatoxin Contamination: Recent Insights Provide Opportunities for Improved Control. Phytopathology, 108, 1024–1037.

Ostry, V.(2017). Mycotoxins as human carcinogens-the IARC monographs classification. Mycotoxin Research.;33(1):65-73.

Kolawole, D. (2001).Phytochemistry and antibacterial activity of Senna alata flower . Pharmacut . Biol . 39 : 1-5.

Palombo, E.A.(2011) . Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. Evid. base Compl. Alternative Med. 1–15.

Pandey, M.K.(2019). Mitigating aflatoxin contamination in groundnut through a combination of genetic resistance and post-harvest management practices. Toxins.;11(6):1-21.

Paridaen, A.(2009). Investigatingthe Use of plant Growth Regulators in New Zealand and Australia . Australia Univ. Crop Competition New Zealand study Tour Project Report.

Patel, S. V.; Kumar, A.; Bosamia, T. C.; Bhalani, H. N. and Singh, P.(2015). Aflatoxins : Causes & Effects . AMonthly Magazine of .Agricultural and Biological Sciences Xlll (9) :140-142.

Patra, A. ; Misra, S.K. and Chaudhuri, S.K. (1988). Constituents of Limonia acidissima Application of two dimentional NMR spectroscopy in structure elucidation . Jornal of the Indian Chamical society 65:205-208.

Patten, C.L. and Glick, B.R. (1996). Bacterial biosyntheses of indol-3-acetic acid .Canadian Journal of Microbiology, 42(3):207-220 .

Pawar, S.; Shende, P. and Trotta, F.(2019). Diversity of β-cyclodextrin-based nanosponges for transformation of actives. Int. J. Pharm. 9;565:333–350.

Perrone, G.; Ferrara, M.; Medina, A.; Pascale, M.; and Magan, N.(2020) . Toxigenic Fungi and Mycotoxins in a Climate Change Scenario: Ecology, Genomics, Distribution, Prediction and Prevention of the Risk. Microorganisms, 8, 1496**.**

Pitt, J. and Hocking, A. (.2009). Fungi and Food Spoilage)third ed.), Blackie Academic and Professional, London, UK.

Pizzolato Montanha, F.(2018.) Mycotoxins in dry-cured meats: A review. Food and Chemical Toxicology.;111:494-502.

Pleadin, J.; Frece, J. and Markov, K.(2019). Chapter Eight—Mycotoxins in food and feed. In: Toldrá F, editor. Advances in Food and Nutrition Research. Cambridge, Massachusetts, United States: Academic Press;. pp. 297-345

Pleadin, J.(2013). Aflatoxin B1 occurrence in maize sampled from Croatian farms and feed factories during Food Control.;40:286-291..

Pleadin, J.(2015) . Annual and regional variations of aflatoxin B1 levels seen in grains and feed coming from Croatian dairy farms over a 5-year period. Food Control.;47:221-225.

Ponzilacqua, B.; Rottinghaus, G.E.; Landers, B.R. and Oliveira, C.F.(2019). Effects of medicinal herb and Brazilian traditional plant extracts on in vitro mycotoxin decontamination. Food Contr.;100:24–27.

Powers, C.N.; Satyal, P.; Mayo, J.A.; McFeeters, H. and McFeeters, R.L. (2019) ,Bigger data approach to analysis of essential oils and their

antifungal activity against Aspergillus niger, Candida albicans, and Cryptococcus neoformans. Molecules.;24(16) .

Prajapati, S.; Jamkar,T. ; Singh,O.P.; Raypuriya,N.; Mandol,R.; and Jain, P.K.(2015). Plant growth regulators in vegetable production. .Plant Archives. 15(2):619-626

Prakash, B.; Kumar, A.; Singh, P.P. and Songachan, L.S.(2020). Functional and Preservative Properties of Phytochemicals. Elsevier;. Antimicrobial and antioxidant properties of phytochemicals: current status and future perspective; pp. 1–45.

Qasem, J.R. and Abu-Blan, h.A.(1996.) .Fungicidal activity of some common weed extracts against different plant pathogecic fungi.Journal of Phytopathology,144:157-161.

Redondo-Blanco, S.; Fernandez, J.; Lopez-Ibanez, S.; Miguelez, E.M.; Villar, C.J. and Lombo F.(2019) .Plant phytochemicals in food preservation: antifungal bioactivity: a review. J. Food Protect.;83(1):163–171 .

Revathi, N.; Ravikumar, G. ; Kalaiselvi, M.; Gomathi, D.and Uma, C...(2011). .Pathogenicity of Three Entomopathogenic Fungi against Helicoverpa armigera. J Plant Pathol Microbiol 2:114 .

Richard, J.L.(2007). Some major mycotoxins and their mycotoxicoses--an overview. International Journal of Food Microbiology.;119(1-2):3-10.

Robert, A. ; Samson, J **.V. and Jens, C. Frisvad (2011).**Taxonomic studies on the genus Aspergillus .CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands,An institute of the Royal Netherlands .Academy of Arts and Sciences

Saeed, M.; **Khan , M.S.; Alagawany, M.F. ; arag, M.R.; Alqaisi ,O.; Aqib,A.I.; Qumar,M .; Siddeque, F.and Romadan, M.F .(2021).** aromaticum) and its phytochemicals in ruminant feed: an updated review. Rendicinti Lincei Scienze Fisiche Naturali.32,237-285.

Saito, M. and Machida, S. (1999). Arapid identification method for aflatoxin producing strains A. flavus and A. parasiticus by ammonia vapor. Mycoscience. 40: 205-208.

Samson, R.A; Varga, J. and Frisvad, J.C. (2011). Taxonomic .120 . studies on the genus Aspergillus .CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center,Utrecht,The Netherland.

Santos, P. (2000). Influence of gibberellic acid on Carrot growth and severity of Alternaria leaf blight. Plant Disease, 84(5), 555-558.

Savary, S. **; Ficke, A. ; Aubertot, J.and Hollier, C. (2012**). Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security Food Secur., 4 ,pp. 519537.

Sengum, I.; Yaman, D. and Gonul, S. (2008). Mycotoxins and mould contamination in cheese. World Mycotoxicology J.; 3:291-298

Shan, B. ; Cai, Y.Z. ; Sun ,M. and Corke, H.(2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. J Agric Food Chem.;53(20):7749–7759.

Sharaf, E. and Farrage, A. (2004). Induced resistance in tomato plants lycopersici. by IAA oxysporum against Fusarium J.Microbiol 53(2): 111-116.

Shephard, G.S.(2008). Impact of mycotoxins on human health indeveloping countries. Food Addit. Contam. A,25, 146–15

Shihata, I.M. (1951) . A pharmacological study of Anagallis arvensis . M.D.vet. Thesis. Cairo University . Senna alata flower . Pharmacut . Biol .51 : 39

Shin, B. and Park, W.(2018) . Zoonotic diseases and phytochemical medicines for microbial infections in veterinary sciences: current state and future perspective. Frontiers in Veterinary Science.;5.

Siame, B.A.; Mpuchane, S.F.; Gashe, B.A.; Allotey, J.; and Teffera, G.(1998). Occurrence ofAflatoxins, Fumonisin B1, and Zearalenone in Foods and Feeds in Botswana. J. Food Prot., 61, 1670–1673.

Sofowora, A. (1993) .Screening plants for bioactive agent . In: Medicinal plants andTraditional Medicinal in Africa .2nd . ed .Spectrum Books Ltd. Sunshine House ,Ibadan ,Nigeria . P :134-156.

Stoev, S.D.; Njobeh, P.; Zarkov, I.; Mircheva, T.; Zapryanova D., Denev, S. and Dimitrova, B.(2019). Selected herbal feed additives showing protective effects against ochratoxin A toxicosis in broiler chicks. World Mycotoxin J. ,12:257–268 .

Street, R.A. and Prinsloo, G.(2013). Commercially important medicinal plants of South Africa: a review. J. Chem.:1–16.

Suman, M.; Sangma, P.D.; Meghawal, D.R. and Sahu, O.P.(2017). Effect of plant growth regulators on fruit crops.J. Pharmacognosy and .Phytochemistry.6(2):331-337

Sundhakar, P.; Latha, p. ; Sreenivasulu, Y.; Bhaskar Reddy, B.V ; Hemalatha, T. M. ; Balakrishna, M. and Raja Reddy.(2009) . Inhibition of Aspergillus flavus colonization and aflatoxin (AfB1) in peanut by methleugenol. K. Ind.J. Exp.Biol.,47:63-67.

Taguchi, Y. ;Ishibashi, H. ; Takizawa, T.; Inoue, S. ;Yamaguchi, H. and Abe, S. (2005). Prtection of oral or intestinal candidiasis in mice by oral or intragastric administration of herbal food clove (Syzygium aromaticum).Jpn . J. Med. Mycol. ,46 :27-33.

Tian, Y.; Tan, Y.; Liu, N.; Liao, Y.; Sun, C.; Wang, S. and Wu, A. (2016). Functional agents to biologically control deoxynivalenol contamination in cereal grains. Front. Microbiol.;7Translated by Muhammad Melody Khalifa. The Arab Recitation Institute, Beirut – Lebanon

Turner, N.W.(2015) . Analytical methods for determination of mycotoxins: An update (2009-2014). Analytica Chimica Acta.;901:12-33.

Tola, M. and Kebede, B. (2016). Occurrence, importance and control of mycotoxins: A review. Cogent Food and Agriculture. 2:

Udomkun, P. (2017). Innovative technologies to manage aflatoxins in foods and feeds and the profitability of application—A review. Food Control.;76:127-138.

Udomkun, P. (2017). Mycotoxins in Sub-Saharan Africa: Present situation, socio-economic impact, awareness, and outlook. Food Control.;72:110-122.

Ueno, N.; Kihara, J.; Honda, Y.and Arase, S.(2004). Indole- related compounds induce the resistance to rice blast fungus, Magnaporthe griseain barly.J.Phytopath., 152(11-12): 606-612.

United Nations, (2019). World Population Prospects 2019: Data Booklet Department of Economic and Social Affairs, Population Division, onlineST/ESA/SER.A. A/424

Van Wyk, B.E.; Van Oudtshoorn, B.; Gericke, B. ; Briza Publications and Pretoria (1997). Medicinal Plants of South Africa] .

Velu, G.; Palanichamy, V. and Rajan, A.P. (2018). Phytochemical and pharmacological importance of plant secondary metabolites in modern medicine. In: Roopan S.M., Madhumitha G., editors. Bioorganic Phase in Natural Food: an Overview. Springer International Publishing AG;. pp. 135–156 .

Wagacha, J.M. and Muthomi, J.W. (2008). Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies. International Journal of Food Microbiology.;124(1):1-12.

Wanchaitanawong, P. ; Chaungwanit, P. ; Poovavodom, N. and Nitisinprasert , S. (2005). In vitro antifungal activity of Thai herb and spice extracts against food spoilage fungi . Kasetsart. J. Nat. Sci. 39 :400 - 405**.**

Wanda, M. H. and Voss, A. V. (2013). Safety Assessment including Current and Emerging Issues in Toxicologic Pathology. Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology (Third Edition). 8

Wang, L.(2018). Occurrence and quantitative risk assessment of twelve mycotoxins in eggs and chicken tissues in China. Toxins. 10:477.

Weisner, L.; Miller, D. and Bowman, H.(1989). Evaluation of Cytozyme Seed Plus on Cereal Grains. World Wide Research on ,Cytozyme Products, Abstracts, Cytozyme Laboratories Inc., USA, pp. 19

White, T. J.; Bruns, T.; Lee, S. H. and Taylor, J. W. (1990). PCR protocols a guide to methods and application. Academic Press, London .

Wszelaki, A.L .and Miller, S.A.(2005). Determining the efficacy of disease management products in organically producedTomatoes.Online,Plant Health Progress(July).doi;10.1094/PHP-2005-0713-01-RS.

Wu, J.-C.; Lai, C.-S.; Tsai, M.-L.; Ho, T.; Wang, Y.-J. and Pan, M. H. (2017). Chemopreventative effect of natural dietary compounds on xenobiotic-induced toxicity. J. Food Drug Anal.;25:176–186.

Zeilinger, S.; Zeilinger, J. F. and Martín, C. (2015) . García Estrada (Eds.), Biosynthesis and Molecular Genetics of Fungal Secondary Metabolites, vol. 2, Springer, Berlin, Heidelberg ,

Zohri , A.A. ; Shokri,S. ;Youssef, S.M.S. and Abdel-kareeme, M. (2014). Identification of toxigenic fungi from food tuffsat sohag Governorate .Environmental studies . B (1):1-12.

الملحق

Appendix

الملحق (1)

18 S ribosomal RNA gene							
No.	**Type of substitution**	**Location**	**Nucleotide**	**Sequence ID with compare**	**Sequence ID with Submission**	**Source**	**Identities**
1	**Transvertion**	588	C\G	**ID: MT033032.1**	ON146176.1	**Penicillium oxalicum**	99%
2	**Transition**	138	T\C	**ID: AF033479.1**	ON146177.1	**Penicillium expansum**	99%
	Transvertion	159	T\A				
	Transvertion	356	A\C				
3	**Transvertion**	285	G\C	**ID: MZ357873.1**	ON146178.1	**Aspergillus flavus**	99%
	Transition	286	T\C				
4	**Transvertion**	222	T\A	**ID: JN088229.1**	ON146179.1	**Cladosporium uredinicola**	99%
5	**Transition**	190	A\G	**ID: LC094427.1**	ON146180.1	**Aspergillus sydowii**	99%
	Transvertion	295	A\T				
6	**Transvertion**	269	A\C	**ID: MH664050.1**	ON146181.1	**Aspergillus oryzae**	99%
	Transvertion	294	G\C				
7	**Transvertion**	308	T\G	**ID: MT254854.1**	ON146182.1	**Aspergillus tamarii**	99%
8	**Transition**	353	T\C	**ID: MK450362.1**	ON146183.1	**Aspergillus nomius**	99%
9	**Transvertion**	64	G\C	**ID: JX418360.1**	ON146184.1	**Alternaria triticina**	99%
	Transvertion	67	G\C				
10	**Transvertion**	125	C\G	**ID: MF034654.1**	ON146185.1	**Penicillium griseofulvum**	99%
	Transition	332	T\C				
	Transition	541	T\C				
11	**Transvertion**	550	A\T	**ID: OM721775.1**	ON146186.1	**Aspergillus austwickii**	99%
	Transvertion	551	T\A				
12	**Transition**	417	C\T	**ID: MW510157.1**	ON146187.1	**Aspergillus flavus**	99%
13	**Transition**	264	T\C	**ID: MF475930.1**	ON146188.1	**Cladosporium cladosporioides**	99%
14	-------------------------			**ID: MT558924.1**	ON146190.1	**Penicillium brevicompactum**	100%
15	**Transition**	226	G\A	**ID: MF099866.1**	ON146192.1	**Fusarium proliferatum**	98%
	Transition	353	T\C				
	Transvertion	520	A\T				
	Insertion	522	-\G				
	Insertion	523	-\G				
	Transition	527	G\A				
	Transition	531	G\A				
	Transition	534	C\T				
	Transition	543	G\A				
16	**Transition**	336	G\A	**ID: KU866669.1**	ON146194.1	**Aspergillus caespitosus**	99%
17	**Transition**	503	T\C	**ID: MK645222.1**	ON146195.1	**Aspergillus flavus**	99%
18	**Transition**	568	T\C	**ID: MT497452.1**	ON146196.1	**Aspergillus versicolor**	99%

ملحق (2)

***Penicillium oxalicum* isolate M2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MT033032.1Length: 594Number of Matches: 1
Range 1: 71 to 591GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Penicillium oxalicum clone MuBa-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146176.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146176                 521 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Penicillium oxalicum clone MuBa-1 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON146176
VERSION     ON146176.1
KEYWORDS    SOURCE      Penicillium oxalicum
  ORGANISM  Penicillium oxalicum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Penicillium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 521)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..521
                     /organism="Penicillium oxalicum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-1"
/isolation_source="cream"
                     /db_xref="taxon:69781"
                     /clone="MuBa-1"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>521
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tgtttatcgt accttgttgc ttcggcgggc ccgcctcacg gccgccgggg ggcatccgcc
       61 cccgggcccg cgcccgccga agacacacaa acgaactctt gtctgaagat tgcagtctga
      121 gtacttgact aaatcagtta aaactttcaa caacggatct cttggttccg gcatcgatga
      181 agaacgcagc gaaatgcgat aagtaatgtg aattgcagaa ttcagtgaat catcgagtct
      241 ttgaacgcac attgcgcccc ctggtattcc gggggggcatg cctgtccgag cgtcattgct
      301 gccctcaagc acggcttgtg tgttgggctc tcgccccccg cttccggggg gcgggcccga
      361 aaggcagcgg cggcaccgcg tccggtcctc gagcgtatgg ggcttcgtca cccgctctgt
      421 aggcccggcc ggcgcccgcc ggcgaacacc atcaatctta accaggttga cctcggatca
      481 ggtagggata cccgctgaac ttaagcatat caatagaggg a
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
936 bits(1037)	0.0	520/521(99%)	0/521(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    TGTTTATCGTACCTTGTTGCTTcggcgggcccgcctcacggccgccggggggcatccgcc  60

Sbjct  71   ............................................................  130

Query  61   cccgggcccgcgcccgccgAAGACACACAAACGAACTCTTGTCTGAAGATTGCAGTCTGA  120

Sbjct  131  ............................................................  190
```

Query 121 GTACTTGACTAAATCAGTTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGA 180

Sbjct 191 250

Query 181 AGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCT 240Sbjct 251 310

Query 241 TTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCT 300Sbjct 311 370

Query 301 GCCCTCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGCTCTCGCCCCCCGCTTCCGGGGGGCGGGCCCGA 360 Sbjct 371 430

Query 361 AAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGGTCCTCGAGCGTATGGGGCTTCGTCACCCGCTCTGT 420Sbjct 431 490

Query 421 AGGCCCGGCCGGCGCCCGCCGGCGAACACCATCAATCTTAACCAGGTTGACCTCGGATCA 480

Sbjct 491 550

Query 481 GGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAGAGGGA 521

Sbjct 551 ....**C**... 591

ملحق رقم (3)

***Penicillium expansum* strain NRRL 974 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: AF033479.1Length: 1142Number of Matches: 1
Range 1: 64 to 555GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Penicillium expansum clone MuBa-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146177.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146177                492 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Penicillium expansum clone MuBa-2 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
           partial sequence.
ACCESSION   ON146177
VERSION     ON146177.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Penicillium expansum
  ORGANISM  Penicillium expansum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Penicillium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 492)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..492
                     /organism="Penicillium expansum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-2"
                     /isolation_source="hazelnut db_xref="taxon:27334"
                     /clone="MuBa-2"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>492
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 ttgcttcggc gggcccgcct ttactggccg ccgggggct cacgcccccg ggcccgcgcc
       61 cgccgaagac acccccgaac tctgtctgaa gattgaagtc tgagtgaaaa tataaattat
      121 ttaaaacttt caacaacgga tctcttggtt ccggcatcga tgaagaacgc agcgaaatgc
      181 gatacgtaat gtgaattgca aattcagtga atcatcgagt ctttgaacgc acattgcgcc
      241 ccctggtatt ccggggggca tgcctgtccg agcgtcattg ctgccctcaa gcccggcttg
      301 tgtgttgggc cccgtcctcc gattccgggg gacgggcccg aaaggcagcg gcggcaccgc
      361 gtccggtcct cgagcgtatg gggctttgtc acccgctctg taggcccggc cggcgcttgc
      421 cgatcaaccc aaatttttat ccaggttgac ctcggatcag gtagggatac ccgctgaact
      481 taagcatatc aa
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
875 bits(969)	0.0	489/492(99%)	0/492(0%)	Plus/Plus

Query 1 TTGCTTCGGCGGGCCCGCCTTTACTGGCCGCCGGGGGGCTCACGCCCCCGGGCCCGCGCC 60

Sbjct 64 123

Query 61 CGCCGAAGACACCCCCGAACTCTGTCTGAAGATTGAAGTCTGAGTGAAAATATAAATTAT 120

Sbjct 124 ..............**T**...................**T**........................ 183

Query 121 TTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGC 180

Sbjct 184 243

Query 181 GATACGTAATGTGAATTGCAAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCC 240

Sbjct 244 303

Query 241 CCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTG 300

Sbjct 304 ....**A**....... 363

Query 301 TGTGTTGGGCCCCGTCCTCCGATTCCGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGC 360

Sbjct 364 423

Query 361 GTCCGGTCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGC 420

Sbjct 424 483

Query 421 CGATCAACCCAAATTTTTATCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACT 480

Sbjct 484 543

Query 481 TAAGCATATCAA 492

Sbjct 544 5

ملحق رقم (4)

Aspergillus flavus **isolate MP7 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MZ357873.1Length: 583Number of Matches: 1
Range 1: 36 to 487GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus flavus clone MuBa-3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence
GenBank: ON146178.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146178                452 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Aspergillus flavus clone MuBa-3 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and
            internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON146178
VERSION     ON146178.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus flavus
  ORGANISM  Aspergillus flavus
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE   1  (bases 1 to 452)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..452
                     /organism="Aspergillus flavus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-3"
                     /isolation_source="apple"
                     /db_xref="taxon:5059"
                     /clone="MuBa-3"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>452
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 cgagcccaac cctcccaccc gctggtttac tgtaccttag ttgcttcggc gggcccgcca
       61 ttcatggccg ccgggggctc tcagccccgg gcccgcgccc gccggagaca ccacgaactc
      121 tgtctgatct agtgaagtct gagttgattg tatcgcaatc agttaaaact ttcaacaatg
      181 gatctcttgg ttccggcatc gatgaagaac gcagcgaaat gcgataacta gtgtgaattg
      241 cagaattccc cgaatcatcg agtctttgaa cgcacattgc gccccctggt attccggggg
      301 gcatgcctgt ccgagcgtca ttgctgccca tcaagcacgg cttgtgtgtt gggtcgtcgt
      361 cccctctccg ggggggacgg gccccaaagg cagcggcggc accgcgtccg atcctcgagc
      421 gtatggggct ttgtcacccg ctctgtaggc cc
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
807 bits(894)	0.0	450/452(99%)	0/452(0%)	Plus/Plus

Query 1 CGAGCCCAACCCTCCCACCCGCTGGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCA 60

Sbjct 36 95

Query 61 TTCATGGCCGCCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGAACTC 120

Sbjct 96 155

Query 121 TGTCTGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATG 180

Sbjct 156 215

Query 181 GATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGAATTG 240

Sbjct 216 275

Query 241 CAGAATTCCCCGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGG 300

Sbjct 276 ....**GT**... 335

Query 301 GCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCGTCGT 360

Sbjct 336 395

Query 361 CCCCTCTCCgggggggACGGGCCCCAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGC 420

Sbjct 396 455

Query 421 GTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTAGGCCC 452

Sbjct 456 487

ملحق رقم (5)

Cladosporium uredinicola isolate HLJ_6 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: JN088229.1Length: 868Number of Matches: 3
Range 1: 38 to 737GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match

Cladosporium uredinicola clone MuBa-4 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146179.1

FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146179                 700 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Cladosporium uredinicola clone MuBa-4 internal transcribed spacer
            1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   ON146179
VERSION     ON146179.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Cladosporium uredinicola
  ORGANISM  Cladosporium uredinicola
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Cladosporiales;
            Cladosporiaceae; Cladosporium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 700)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..700
                     /organism="Cladosporium uredinicola"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-4"
                     /isolation_source="hazelnut"
                     /db_xref="taxon:237183"
                     /clone="MuBa-4"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>700
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 aaccctttgt tgtccgactc tgttgcctcc ggggcgaccc tgccttcggg cgggggctcc
       61 gggtggacac ttcaaactct tgcgtaactt tgcagtctga gtaaacttaa ttaataaatt
      121 aaaactttta acaacggatc tcttggttct ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga
      181 taagaaatgt gaattgcaga attcagtgaa tcatcgaatc tttgaacgca cattgcgccc
      241 cctggtattc cgggggggcat gcctgttcga gcgtcatttc accactcaag cctcgcttgg
      301 tattgggcat cgcggtccgc cgcgtgcctc aaatcgaccg gctgggtctt ctgtcccccta
      361 agcgttgtgg aaactattcg ctaaagggtg ttcgggaggc tacgccgtaa aacaacccca
      421 tttctaaggt tgacctcgga tcaggtaggg atacccgctg aacttaagca tacaaagggg
      481 cggaggaatg tttccggtga ccccggtcta accccgggat gttcataacc ctttgttgtc
      541 cgactctttt gcctccgggc gaactgcttc gggggggggc ctcggtggac acttcaactc
      601 tgggaaactt tgcggcgagt aaacttaatt aataaattaa aactttttac acgggatctg
      661 ttggttctgg catcatgaag acgcacgaat gcgatagtaa
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1259 bits(1395)	0.0	699/700(99%)	0/700(0%)	Plus/Plus

Query 1 AACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGACCCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCC 60

Sbjct 38 97

Query 61 GGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAATAAATT 120

Sbjct 98 157

Query 121 AAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA 180

Sbjct 158 217

Query 181 TAAGAAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC 240

Sbjct 218 ....**T**... 277

Query 241 CCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGG 300

Sbjct 278 337

Query 301 TATTGGGCATCGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGACCGGCTGGGTCTTCTGTCCCCTA 360

Sbjct 338 397

Query 361 AGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCCCA 420

Sbjct 398 457

Query 421 TTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATACAAAGGGG 480

Sbjct 458 517

Query 481 CGGAGGAATGTTTCCGGTGACCCCGGTCTAACCCCGGGATGTTCATAACCCTTTGTTGTC 540

Sbjct 518 577

Query 541 CGACTCTTTTGCCTCCGGGCGAACTGCTTCgggggggggCCTCGGTGGACACTTCAACTC 600

Sbjct 578 637

Query 601 TGGGAAACTTTGCGGCGAGTAAACTTAATTAATAAATTAAAACTTTTTACACGGGATCTG 660

Sbjct 638 697

Query 661 TTGGTTCTGGCATCATGAAGACGCACGAATGCGATAGTAA 700

Sbjct 698 737

ملحق رقم (6)

***Aspergillus sydowii* genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: KN-15**

Sequence ID: LC094427.1Length: 1107Number of Matches: 2

Range 1: 39 to 582GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match

Aspergillus sydowii clone MuBa-5 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: ON146180.1

FASTA Graphics:

```
LOCUS       ON146180                 544 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Aspergillus sydowii clone MuBa-5 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON146180
VERSION     ON146180.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus sydowii
  ORGANISM  Aspergillus sydowii
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus; Aspergillus subgen. Nidulantes.
REFERENCE   1  (bases 1 to 544)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..544
                     /organism="Aspergillus sydowii"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-5"
                     /isolation_source="cheese"
                     /db_xref="taxon:75750"
                     /clone="MuBa-5"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>544
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 cccgtgaata cctaacactg ttgcttcggc ggggaacccc ctcgggggcg agccgccggg
       61 gactactgaa cttcatgcct gagagtgatg cagtctgagt ctgaatataa aatcagtcaa
      121 aactttcaac aatggatctc ttggttccgg cgtcgatgaa gaacgcagcg aactgcgata
      181 agtaatgtga attgcagaat tcagtgaatc atcgagtctt tgaacgcaca ttgcgccccc
      241 tggcattccg gggggcttgc ctgtccgagc gtcattgctg cccatcaagc ccggcttgtg
      301 tgttgggtcg tcgtcccccc cgggggacgg gcccgaaagg cagcggcggc accgtgtccg
      361 gtcctcgagc gtatggggct ttgtcacccg ctcgactagg gccggccggg cgccagccga
      421 cgtctccaac catttttctt caggttgacc tcggatcagg tagggatacc cgctgaactt
      481 aagcatatca taggccggag gaagattctg agtgcgggct gcctccgggc gccaactcca
      541 ccgt
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
973 bits(1078)	0.0	542/544(99%)	0/544(0%)	Plus/Plus

Query 1 CCCGTGAATACCTAACACTGTTGCTTCGGCGGGGAACCCCCTCGGGGGCGAGCCGCCGGG 60

Sbjct 39 98

Query 61 GACTACTGAACTTCATGCCTGAGAGTGATGCAGTCTGAGTCTGAATATAAAATCAGTCAA 120

Sbjct 99 158

Query 121 AACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCGTCGATGAAGAACGCAGCGAACTGCGATA 180

Sbjct 159 ....**A**............................ 218

Query 181 AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCC 240

Sbjct 219 278

Query 241 TGGCATTCCGGGGGGCTTGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCCCGGCTTGTG 300

Sbjct 279 ....**A>**... 338

Query 301 TGTTGGGTCGTCGTcccccccGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGTGTCCG 360

Sbjct 339 398

Query 361 GTCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCGACTAGGGCCGGCCGGGCGCCAGCCGA 420

Sbjct 399 458

Query 421 CGTCTCCAACCATTTTTCTTCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTT 480

Sbjct 459 518

Query 481 AAGCATATCATAGGCCGGAGGAAGATTCTGAGTGCGGGCTGCCTCCGGGCGCCAACTCCA 540

Sbjct 519 578

Query 541 CCGT 544

Sbjct 579 582

ملحق رقم (7)

***Aspergillus oryzae* isolate SZ1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MH664050.1Length: 1344Number of Matches: 1
Range 1: 87 to 856GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus oryzae clone MuBa-6 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146181.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146181                 770 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Aspergillus oryzae clone MuBa-6 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON146181
VERSION     ON146181.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus oryzae
  ORGANISM  Aspergillus oryzae
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE   1  (bases 1 to 770)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..770
                     /organism="Aspergillus oryzae"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-6"
                     /isolation_source="cashew"
                     /db_xref="taxon:5062"
                     /clone="MuBa-6"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>770
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tggccgccgg gggctctcag ccccgggccc gcgcccgccg gagacaccac gaactctgtc
       61 tgatctagtg aagtctgagt tgattgtatc gcaatcagtt aaaactttca acaatggatc
      121 tcttggttcc ggcatcgatg aagaacgcag cgaaatgcga taactagtgt gaattgcaga
      181 atcccgtgaa tcatcgagtc tttgaaccca cattgcgccc cctggtattc cggggggcat
      241 gcctgtccga gcgtcattgc tgcccatcaa gcacggcttg tgtgttgggt cgtcgtcccc
      301 tctccggggg ggacgggccc caaaggcagc ggcggcaccg cgtccgatcc tcgagcgtat
      361 ggggctttgt cacccgctct gtaggcccgg ccggcgcttg ccgaacgcaa atcaatcttt
      421 tccaggttga cctcggatca ggtagggata cccgctgaac ttaagcatat caataaggcg
      481 gaggaagatc attaccgagt gtaggggttc ctagcgagcc cacctccccg tgttttactg
      541 gttacttagt ttgcattcgg cggggcgcat tcatggacgt cggggggctc tcagcccggg
      601 cccgcgccgc cggaaaaccc acgaaatctg gtctggatct agagtggaaa gttctgtaag
      661 tttggaattg gtgtatcgca attcagtttt taaaaccttt ttcaacaaat ggggaatctc
      721 cttggggttt ccgggcatgc aatgaaaagg aaacggcagg caaaaaatgg
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1380 bits(1530)	0.0	768/770(99%)	0/770(0%)	Plus/Plus

Query 1 TGGCCGCCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGAACTCTGTC 60

Sbjct 87 146

Query 61 TGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATC 120

Sbjct 147 206

Query 121 TCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGAATTGCAGA 180

Sbjct 207 266

Query 181 ATCCCGTGAATCATCGAGTCTTTGAACCCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCAT 240

Sbjct 267 ..**T**........................**G**................................ 326

Query 241 GCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCGTCGTCCCC 300

Sbjct 327 386

Query 301 TCTCCgggggggACGGGCCCCAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTAT 360

Sbjct 387 446

Query 361 GGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAATCAATCTTT 420

Sbjct 447 506

Query 421 TCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCG 480

Sbjct 507 566

Query 481 GAGGAAGATCATTACCGAGTGTAGGGGTTCCTAGCGAGCCCACCTCCCCGTGTTTTACTG 540

Sbjct 567 626

Query 541 GTTACTTAGTTTGCATTCGGCGGGGCGCATTCATGGACGTCGGGGGGCTCTCAGCCCGGG 600

Sbjct 627 686

Query 601 CCCGCGCCGCCGGAAAACCCACGAAATCTGGTCTGGATCTAGAGTGGAAAGTTCTGTAAG 660

Sbjct 687 746

Query 661 TTTGGAATTGGTGTATCGCAATTCAGTTTTTAAAACCTTTTTCAACAAATGGGGAATCTC 720

Sbjct 747 806

Query 721 CTTGGGGTTTCCGGGCATGCAATGAAAAGGAAACGGCAGGCAAAAAATGG 770

Sbjct 807 856

ملحق رقم (8)

***Aspergillus tamarii* isolate PCPSAT small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence**

Sequence ID: MT254854.1Length: 545Number of Matches: 1
Range 1: 126 to 516GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus tamarii clone MuBa-7 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence
GenBank: ON146182.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146182                 391 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Aspergillus tamarii clone MuBa-7 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and
            internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON146182
VERSION     ON146182.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus tamarii
  ORGANISM  Aspergillus tamarii
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 391)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..391
                     /organism="Aspergillus tamarii"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-7"
                     /isolation_source="cashew"
                     /db_xref="taxon:41984"
                     /clone="MuBa-7"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>391
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 ccccgggccc gcgcccgccg gagacaccac gaactctgtc tgatctagtg aagtctgagt
       61 tgattgtatc gcaatcagtt aaaactttca acaatggatc tcttggttcc ggcatcgatg
      121 aagaacgcag cgaaatgcga taactagtgt gaattgcaga attccgtgaa tcatcgagtc
      181 ttggaacgca cattgcgccc cctggtattc cggggggcat gcctgtccga gcgtcattgc
      241 tgcccatcaa gcacggcttg tgtgttgggt cgtcgtcccc tctccggggg ggacgggccc
      301 caaaggcagc ggcggcaccg cgtccgatcc tcgagcgtat ggggctttgt cacccgctct
      361 gtaggcccgg ccggcgcttg ccgaacgcaa a
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
701 bits(777)	0.0	390/391(99%)	0/391(0%)	Plus/Plus

Query 1 CCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGAACTCTGTCTGATCTAGTGAAGTCTGAGT 60

Sbjct 126 185

Query 61 TGATTGTATCGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATG 120

Sbjct 186 245

Query 121 AAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAGTC 180

Sbjct 246 305

Query 181 TTGGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGC 240

Sbjct 306 ..**T**... 365

Query 241 TGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCGTCGTCCCCTCTCCgggggggACGGGCCC 300

Sbjct 366 425

Query 301 CAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCT 360

Sbjct 426 485

Query 361 GTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAA 391

Sbjct 486 516

ملحق رقم (9)

***Aspergillus nomius* isolate RUF-AN1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MK450362.1Length: 555Number of Matches: 1
Range 1: 18 to 546GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus nomiae clone MuBa-8 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146183.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146183                529 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Aspergillus nomiae clone MuBa-8 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON146183
VERSION     ON146183.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus nomiae
  ORGANISM  Aspergillus nomiae
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 529)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..529
                     /organism="Aspergillus nomiae"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-8"
                     /isolation_source="hummus"
                     /db_xref="taxon:41061"
                     /clone="MuBa-8"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>529
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN      
        1 cgtgtttact gtaccttagt tgcttcggcg ggcccgccat tcatggccgc cgggggctct
       61 cagccccggg cccgcgcccg ccggagacac cacgaactct gtctgatcta gtgaagtctg
      121 agttgattgt atcgcaatca gttaaaactt tcaacaatgg atctcttggt tccggcatcg
      181 atgaagaacg cagcgaaatg cgataactag tgtgaattgc agaattccgt gaatcatcga
      241 gtctttgaac gcacattgcg ccccctggta ttccgggggg catgcctgtc cgagcgtcat
      301 tgctgcccat caagcacggc ttgtgtgttg ggtcgccgtc ccctctccgg gggggacggg
      361 ccccaaaggc agcggcggca ccgcgtccga tcctcgagcg tatggggctt tgtcacccgc
      421 tctgtaggcc cggccggcgc ttgccgaacg caaatcaatc tttttccagg ttgacctcgg
      481 atcaggtagg gatacccgct gaacttaagc atatcaataa gccggagga
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
950 bits(1053)	0.0	528/529(99%)	0/529(0%)	Plus/Plus

Query 1 CGTGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCATTCATGGCCGCCGGGGGCTCT 60

Sbjct 18 77

Query 61 CAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGAACTCTGTCTGATCTAGTGAAGTCTG 120

Sbjct 78 137

Query 121 AGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCG 180

Sbjct 138 197

Query 181 ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGA 240

Sbjct 198 257

Query 241 GTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCAT 300

Sbjct 258 317

Query 301 TGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCGCCGTCCCCTCTCCgggggggACGGG 360

Sbjct 318 ....**T**........................ 377

Query 361 CCCCAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGC 420

Sbjct 378 437

Query 421 TCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAATCAATCTTTTTCCAGGTTGACCTCGG 480

Sbjct 438 497

Query 481 ATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGA 529

Sbjct 498 546

ملحق رقم (10)

Alternaria triticina strain A39 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: JX418360.1Length: 572Number of Matches: 1
Range 1: 22 to 556GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Alternaria triticina clone MuBa-9 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146184.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146184                 535 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Alternaria triticina clone MuBa-9 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON146184
VERSION     ON146184.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Alternaria triticina
  ORGANISM  Alternaria triticina
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae;
            Pleosporaceae; Alternaria; Alternaria sect. Infectoriae.
REFERENCE   1  (bases 1 to 535)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..535
                     /organism="Alternaria triticina"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-9"
                     /isolation_source="wheat"
                     /db_xref="taxon:216836"
                     /clone="MuBa-9"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>535
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 ggaacccccc gctgggcact gcttcacggc gtgcgcggcg ggccccgccc tgctgaatta
       61 ttcacccgtg tcttttgcgt acttcttgtt tcctgggtgg gctcgcccgc cctcaggacc
      121 aaccacaaac cttttgcaat agcaatcagc gtcagtaaca acgtaattaa ttacaacttt
      181 caacaacgga tctcttggtt ctggcatcga tgaagaacgc agcgaaatgc gatacgtagt
      241 gtgaattgca gaattcagtg aatcatcgaa tctttgaacg cacattgcgc cctttggtat
      301 tccaaagggc atgcctgttc gagcgtcatt tgtaccctca agctttgctt ggtgttgggc
      361 gtcttttgtc tccagttcgc tggagactcg ccttaaagtc attggcagcc ggcctactgg
      421 tttcggagcg cagcacaagt cgcgctcttt gccagccaag gtcagcgtcc agcaagcctt
      481 tttttcaacc tttgacctcg gatcaggtag ggatacccgc tgaacttaag catat
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
957 bits(1060)	0.0	533/535(99%)	0/535(0%)	Plus/Plus

Query 1   GGAACCCCCCGCTGGGCACTGCTTCACGGCGTGCGCGGCGGGCCCCGCCCTGCTGAATTA 60

Sbjct 22 ....**G**..**G**............. 81

Query 61   TTCACCCGTGTCTTTTGCGTACTTCTTGTTTCCTGGGTGGGCTCGCCCGCCCTCAGGACC 120

Sbjct 82 141

Query 121 AACCACAAACCTTTTGCAATAGCAATCAGCGTCAGTAACAACGTAATTAATTACAACTTT 180

Sbjct 142 201

Query 181 CAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGT 240

Sbjct 202 261

Query 241 GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTAT 300

Sbjct 262 321

Query 301 TCCAAAGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGC 360

Sbjct 322 381

Query 361 GTCTTTTGTCTCCAGTTCGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTCATTGGCAGCCGGCCTACTGG 420

Sbjct 382 441

Query 421 TTTCGGAGCGCAGCACAAGTCGCGCTCTTTGCCAGCCAAGGTCAGCGTCCAGCAAGCCtt 480

Sbjct 442 501

Query 481 tttttCAACCTTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATAT 535

Sbjct 502 556

ملحق رقم (11)

Penicillium griseofulvum **strain L1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MF034654.1Length: 980Number of Matches: 3
Range 1: 63 to 651GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Penicillium griseofulvum clone MuBa-10 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146185.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146185                 589 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Penicillium griseofulvum clone MuBa-10 internal transcribed spacer
            1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   ON146185
VERSION     ON146185.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Penicillium griseofulvum
  ORGANISM  Penicillium griseofulvum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Penicillium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 589)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..589
                     /organism="Penicillium griseofulvum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-10"
                     /isolation_source="millet"
                     /db_xref="taxon:5078"
                     /clone="MuBa-10"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>589
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 cgggcccgcc ttaactggcc gccggggggc ttacgccccc gggcccgcgc ccgccgaaga
       61 cagcctcgaa ctctgtctga agattgaagt ctgagtgaaa atataaatta tttaaaactt
      121 tcaacaacgg atctcttggt tccggcatcg atgaagaacg cagcgaaatg cgatacgtaa
      181 tgtgaattgc aaattcagtg aatcatcgag tctttgaacg cacattgcgc cccctggtat
      241 tccggggggc atgcctgtcc gagcgtcatc gctgccctca agcccggctt gtgtgttggg
      301 ccccgtcccc cgatctccgg gggacgggcc cgaaaggcag cggcggcacc gcgtccggtc
      361 ctcgagcgta tggggctttg tcacccgctc tgtaggcccg gccggcgctt gccgatcaac
      421 ccaaattttt atccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaagcaca
      481 tcaataagcg gagaaatacc gagtgagggc cctctgggtc caacctccca cccgtgttta
      541 ttttaccttg ttgcttcggc gggcccgcct taactggccg ccggggggc
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1049 bits(1163)	0.0	586/589(99%)	0/589(0%)	Plus/Plus

Query 1 CGGGCCCGCCTTAACTGGCCGCCGGGGGGCTTACGCCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGAAGA 60

Sbjct 63 122

Query 61 CAGCCTCGAACTCTGTCTGAAGATTGAAGTCTGAGTGAAAATATAAATTATTTAAAACTT 120

Sbjct 123 ..**C**... 182

Query 121 TCAACAACGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAA 180

Sbjct 183 242

Query 181 TGTGAATTGCAAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTAT 240

Sbjct 243 302

Query 241 TCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATCGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGG 300

Sbjct 303 ....**T**............................... 362

Query 301 CCCCGTCCCCCGATCTCCGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGGTC 360

Sbjct 363 422

Query 361 CTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGATCAAC 420

Sbjct 423 482

Query 421 CCAAATTTTTATCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCACA 480

Sbjct 483 ....**T**. 542

Query 481 TCAATAAGCGGAGAAATACCGAGTGAGGGCCCTCTGGGTCCAACCTCCCACCCGTGTTTA 540

Sbjct 543 602

Query 541 TTTTACCTTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCTTAACTGGCCGCCGGGGGGC 589

Sbjct 603 651

ملحق رقم (12)

***Aspergillus austwickii* strain SDF6 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: OM721775.1Length: 561Number of Matches: 1

Range 1: 23 to 559GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match

Aspergillus austwickii clone MuBa-11 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: ON146186.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       ON146186                537 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Aspergillus austwickii clone MuBa-11 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON146186
VERSION     ON146186.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus austwickii
  ORGANISM  Aspergillus austwickii
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 537)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..537
                     /organism="Aspergillus austwickii"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-11"
                     /isolation_source="apple"
                     /db_xref="taxon:2059439"
                     /clone="MuBa-11"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>537
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 aacctcccac ccgtgtttac tgtaccttag ttgcttcggc gggcccgcca ttcatggccg
       61 ccgggggctc tcagccccgg gcccgcgccc gccggagaca ccacgaactc tgtctgatct
      121 agtgaagtct gagttgattg tatcgcaatc agttaaaact ttcaacaatg gatctcttgg
      181 ttccggcatc gatgaagaac gcagcgaaat gcgataacta gtgtgaattg cagaattccg
      241 tgaatcatcg agtctttgaa cgcacattgc gccccctggt attccggggg gcatgcctgt
      301 ccgagcgtca ttgctgccca tcaagcacgg cttgtgtgtt gggtcgtcgt cccctctccg
      361 ggggggacgg gccccaaagg cagcggcggc accgcgtccg atcctcgagc gtatggggct
      421 ttgtcacccg ctctgtaggc ccggccggcg cttgccgaac gcaaatcaat ctttttccag
      481 gttgacctcg gatcaggtag ggatacccgc tgaacttaag catatcataa agccgga
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
960 bits(1064)	0.0	535/537(99%)	0/537(0%)	Plus/Plus

Query 1 AACCTCCCACCCGTGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCATTCATGGCCG 60

Sbjct 23 82

Query 61 CCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGAACTCTGTCTGATCT 120

Sbjct 83 142

Query 121 AGTGAAGTCTGAGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATCTCTTGG 180

Sbjct 143 202

Query 181 TTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGAATTGCAGAATTCCG 240

Sbjct 203 262

Query 241 TGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGT 300

Sbjct 263 322

Query 301 CCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCGTCGTCCCCTCTCCg 360

Sbjct 323 382

Query 361 ggggggACGGGCCCCAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCT 420

Sbjct 383 442

Query 421 TTGTCACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAATCAATCTTTTTCCAG 480

Sbjct 443 502

Query 481 GTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAAAGCCGGA 537

Sbjct 503 ....**AT**........ 559

ملحق رقم (13)

Aspergillus flavus **strain GXIMD 02503 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**

Sequence ID: MW510157.1Length: 563Number of Matches: 1
Range 1: 71 to 549GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus flavus clone MuBa-12 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146187.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146187                 479 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Aspergillus flavus clone MuBa-12 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON146187
VERSION     ON146187.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus flavus
  ORGANISM  Aspergillus flavus
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE   1  (bases 1 to 479)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..479
                     /organism="Aspergillus flavus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-12"
                     /isolation_source="eggplant"
                     /db_xref="taxon:5059"
                     /clone="MuBa-12"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>479
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 gccattcatg gccgccgggg gctctcagcc ccgggcccgc gcccgccgga gacaccacga
       61 actctgtctg atctagtgaa gtctgagttg attgtatcgc aatcagttaa aactttcaac
      121 aatggatctc ttggttccgg catcgatgaa gaacgcagcg aaatgcgata actagtgtga
      181 attgcagaat tccgtgaatc atcgagtctt tgaacgcaca ttgcgccccc tggtattccg
      241 gggggcatgc ctgtccgagc gtcattgctg cccatcaagc acggcttgtg tgttgggtcg
      301 tcgtcccctc tccgggggg acgggcccca aaggcagcgg cggcactgcg tccgatcctc
      361 gagcgtatgg ggctttgtca cccgctctgt aggcccggcc ggcgcttgcc gaacgcaaat
      421 caatcttttc caggttgacc tcggatcagg tagggatacc cgctgaactt aagcatatc
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
860 bits(953)	0.0	478/479(99%)	0/479(0%)	Plus/Plus

Query 1 GCCATTCATGGCCGCCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGA 60

Sbjct 71 130

Query 61 ACTCTGTCTGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAACTTTCAAC 120

Sbjct 131 190

Query 121 AATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGA 180

Sbjct 191 250

Query 181 ATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCG 240

Sbjct 251 310

Query 241 GGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCG 300

Sbjct 311 370

Query 301 TCGTCCCCTCTCCgggggggACGGGCCCCAAAGGCAGCGGCGGCACTGCGTCCGATCCTC 360

Sbjct 371 ....**C**.............. 430

Query 361 GAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAAT 420

Sbjct 431 490

Query 421 CAATCTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATC 479

Sbjct 491 549

ملحق رقم (14)

***Cladosporium cladosporioides* isolate Su-XII-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence**
Sequence ID: MF475930.1Length: 556Number of Matches: 1
Range 1: 75 to 542GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Cladosporium cladosporioides clone MuBa-13 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence
GenBank: ON146188.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146188                 468 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Cladosporium cladosporioides clone MuBa-13 internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete
            sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   ON146188
VERSION     ON146188.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Cladosporium cladosporioides
  ORGANISM  Cladosporium cladosporioides
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Cladosporiales;
            Cladosporiaceae; Cladosporium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 468)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..468
                     /organism="Cladosporium cladosporioides"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-13"
                     /isolation_source="corn"
                     /db_xref="taxon:29917"
                     /clone="MuBa-13"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>468
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, and internal transcribed spacer 2"
ORIGIN      
        1 caagttgacc ccggccctcg ggccgggatg ttcacaaccc tttgttgtcc gactctgttg
       61 cctccggggc gaccctgcct ccgggcgggg gccccgggtg gacatttcaa actcttgcgt
      121 aactttgcag tctgagtaaa tttaattaat aaattaaaac tttcaacaac ggatctcttg
      181 gttctggcac cgatgaagaa cgcagcgaaa tgcgataagt aatgtgaatt gcagaattca
      241 gtgaatcatc gaatctttga acgcacattg cgccccctgg tattccgggg ggcatgcctg
      301 ttcgagcgtc atttcaccac tcaagcctcg cttggtattg ggcgacgcgg tccgccgcgc
      361 gcctcaaatc gaccggctgg gtctttcgtc ccctcagcgt tgtggaaact attcgctaaa
      421 gggtgccgcg ggaggccacg ccgtaaaaca accccatttt aaggtgac
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
840 bits(931)	0.0	467/468(99%)	0/468(0%)	Plus/Plus

Query 1 CAAGTTGACCCCGGCCCTCGGGCCGGGATGTTCACAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTG 60

Sbjct 75 134

Query 61 CCTCCGGGGCGACCCTGCCTCCGGGCGGGGGCCCCGGGTGGACATTTCAAACTCTTGCGT 120

Sbjct 135 194

Query 121 AACTTTGCAGTCTGAGTAAATTTAATTAATAAATTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTG 180

Sbjct 195 254

Query 181 GTTCTGGCACCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCA 240

Sbjct 255 ....**T**.. 314

Query 241 GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTG 300

Sbjct 315 374

Query 301 TTCGAGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCGACGCGGTCCGCCGCGC 360

Sbjct 375 434

Query 361 GCCTCAAATCGACCGGCTGGGTCTTTCGTCCCCTCAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAA 420

Sbjct 435 494

Query 421 GGGTGCCGCGGGAGGCCACGCCGTAAAACAACCCCATTTTAAGGTGAC 468

Sbjct 495 542

ملحق رقم (15)

***Penicillium brevicompactum* isolate 2010F6 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MT558924.1Length: 562Number of Matches: 1
Range 1: 47 to 545GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Penicillium brevicompactum clone MuBa-15 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146190.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146190                 499 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Penicillium brevicompactum clone MuBa-15 internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   ON146190
VERSION     ON146190.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Penicillium brevicompactum
  ORGANISM  Penicillium brevicompactum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Penicillium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 499)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..499
                     /organism="Penicillium brevicompactum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-15"
                     /isolation_source="pomegranate"
                     /db_xref="taxon:5074"
                     /clone="MuBa-15"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>499
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 cctcccaccc gtgtttattt taccttgttg cttcggcgag cctgcctttt ggctgccggg
       61 ggacgtctgt ccccgggtcc gcgctcgccg aagacacctt agaactctgt ctgaagattg
      121 tagtctgaga ttaaatataa attatttaaa actttcaaca acggatctct tggttccggc
      181 atcgatgaag aacgcagcga aatgcgatac gtaatgtgaa ttgcagaatt cagtgaatca
      241 tcgagtcttt gaacgcacat tgcgccctct ggtattccgg agggcatgcc tgtccgagcg
      301 tcattgctgc cctcaagcac ggcttgtgtg ttgggctccg tcctccttcc gggggacggg
      361 cccgaaaggc agcggcggca ccgcgtccgg tcctcaagcg tatggggctt tgtcacccgc
      421 tttgtaggac tggccggcgc ctgccgatca accaaacttt tttccaggtt gacctcggat
      481 caggtaggga tacccgctg
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
901 bits(998)	0.0	499/499(100%)	0/499(0%)	Plus/Plus

Query 1 CCTCCCACCCGTGTTTATTTTACCTTGTTGCTTCGGCGAGCCTGCCTTTTGGCTGCCGGG 60

Sbjct 47 106

Query 61 GGACGTCTGTCCCCGGGTCCGCGCTCGCCGAAGACACCTTAGAACTCTGTCTGAAGATTG 120

Sbjct 107 166

Query 121 TAGTCTGAGATTAAATATAAATTATTTAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCCGGC 180

Sbjct 167 226

Query 181 ATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCA 240

Sbjct 227 286

Query 241 TCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCGGAGGGCATGCCTGTCCGAGCG 300

Sbjct 287 346

Query 301 TCATTGCTGCCCTCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGCTCCGTCCTCCTTCCGGGGGACGGG 360

Sbjct 347 406

Query 361 CCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGGTCCTCAAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGC 420

Sbjct 407 466

Query 421 TTTGTAGGACTGGCCGGCGCCTGCCGATCAACCAAACTTTTTTCCAGGTTGACCTCGGAT 480

Sbjct 467 526

Query 481 CAGGTAGGGATACCCGCTG 499

Sbjct 527 545

ملحق رقم (16)

***Fusarium proliferatum* strain Lahuf-F.pro internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MF099866.1Length: 959Number of Matches: 1
Range 1: 19 to 556GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Fusarium proliferatum clone MuBa-17 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146192.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146192                537 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Fusarium proliferatum clone MuBa-17 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON146192
VERSION     ON146192.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Fusarium proliferatum (Gibberella intermedia)
  ORGANISM  Fusarium proliferatum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Nectriaceae;
            Fusarium; Fusarium fujikuroi species complex.
REFERENCE   1  (bases 1 to 537)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..537
                     /organism="Fusarium proliferatum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-17"
                     /host="Zucchini"
                     /db_xref="taxon:948311"
                     /clone="MuBa-17"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>537
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 ccaacccctg tgacatacca attgttgcct cggcggatca gcccgctccc ggtaaaacgg
       61 gacggcccgc cagaggaccc ctaaactctg tttctatatg taacttctga gtaaaaccat
      121 aaataaatca aaactttcaa caacggatct cttggttctg gcatcgatga agaacgcagc
      181 aaaatgcgat aagtaatgtg aattgcaaaa ttcagtgaat catcgaatct ttgaacgcac
      241 attgcgcccg ccagtattct ggcgggcatg cctgttcgag cgtcatttca accctcaagc
      301 ccccgggttt ggtgttgggg atcggcgagc cctcgcggca agccggcccc gaaatctagt
      361 ggcggtctcg ctgcagcttc cattgcgtag tagtaaaacc ctcgcaactg gtacgcggcg
      421 cggccaagcc gttaaacccc caacttctga atgttgacct cggatcaggt aggaataccc
      481 gctgaactta agcatatcaa atcggaaaga aaattcatta ccaagtttac aactccc
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
928 bits(1028)	0.0	529/538(98%)	2/538(0%)	Plus/Plus

Query 1 CCAACCCCTGTGACATACCAATTGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGG 60

Sbjct 19 78

Query 61 GACGGCCCGCCAGAGGACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACTTCTGAGTAAAACCAT 120

Sbjct 79 138

Query 121 AAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC 180

Sbjct 139 198

Query 181 AAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC 240

Sbjct 199 ....**G**................................. 258

Query 241 ATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGC 300

Sbjct 259 318

Query 301 CCCCGGGTTTGGTGTTGGGGATCGGCGAGCCCTCGCGGCAAGCCGGCCCCGAAATCTAGT 360

Sbjct 319 ....**T**........................... 378

Query 361 GGCGGTCTCGCTGCAGCTTCCATTGCGTAGTAGTAAAACCCTCGCAACTGGTACGCGGCG 420

Sbjct 379 438

Query 421 CGGCCAAGCCGTTAAACCCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCC 480

Sbjct 439 498

Query 481 GCTGAACTTAAGCATATCAAATC--GGAAAGAAAATTCATTACCAAGTTTACAACTCC 536

Sbjct 499 ....................**A**.**GG**...**G**...**G**..**C**........**G**............ 556

ملحق رقم (17)

Aspergillus caespitosus strain DTO 325-C1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: KU866669.1Length: 752Number of Matches: 1
Range 1: 113 to 625GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus caespitosus clone MuBa-19 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146194.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146194                 513 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Aspergillus caespitosus clone MuBa-19 internal transcribed spacer
            1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   ON146194
VERSION     ON146194.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus caespitosus
  ORGANISM  Aspergillus caespitosus
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 513)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..513
                     /organism="Aspergillus caespitosus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-19"
                     /isolation_source="cashew"
                     /db_xref="taxon:176165"
                     /clone="MuBa-19"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>513
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 acctcccacc cgtgaatacc ttaccactgt tgcttcggcg aggagcccct tccggggggc
       61 gagtcgccgg ggaccacatg aacttcttga ttgtagagtt gcgtctgagc ctgaaatata
      121 aatcagtcaa aactttcaac aatggatctc ttggttccgg catcgatgaa gaacgcagcg
      181 aactgcgata agtaatgtga attgcagaat tcagtgaatc atcaagtctt tgaacgcaca
      241 ttgcgccccc tggcattccg gggggcatgc ctgtccgagc gtcattgctg cccttcaagc
      301 ccggcttgtg tgttgggtcg tcgtcccctc cgggggacgg gcccgaaagg cagcggcggc
      361 accgcgtccg gtcctcgagc gtatggggct ttgtcacccg ctcgataagg accggccggg
      421 cgccagccgg cgtctccaac cttttttct caggttgacc tcggatcagg tagggatacc
      481 cgctgaactt aagcatatca ataagcggag gaa
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
921 bits(1021)	0.0	512/513(99%)	0/513(0%)	Plus/Plus

Query 1 ACCTCCCACCCGTGAATACCTTACCACTGTTGCTTCGGCGAGGAGCCCCTTCCGGGGGGC 60

Sbjct 113 172

Query 61 GAGTCGCCGGGGACCACATGAACTTCTTGATTGTAGAGTTGCGTCTGAGCCTGAAATATA 120

Sbjct 173 232

Query 121 AATCAGTCAAAACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCG 180

Sbjct 233 292

Query 181 AACTGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCAAGTCTTTGAACGCACA 240

Sbjct 293 ....**G**................ 352

Query 241 TTGCGCCCCCTGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTTCAAGC 300

Sbjct 353 412

Query 301 CCGGCTTGTGTGTTGGGTCGTCGTCCCCTCCGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGC 360

Sbjct 413 472

Query 361 ACCGCGTCCGGTCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCGATAAGGACCGGCCGGG 420

Sbjct 473 532

Query 421 CGCCAGCCGGCGTCTCCAACCtttttttCTCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGATACC 480

Sbjct 533 592

Query 481 CGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA 513

Sbjct 593 625

ملحق رقم (18)

***Aspergillus flavus* isolate JJGG-26 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MK645222.1Length: 1514Number of Matches: 3
Range 1: 42 to 716GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus flavus clone MuBa-20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146195.1
FASTA Graphics
Go to:

```
LOCUS       ON146195                675 bp    DNA     linear   PLN 10-APR-2022
DEFINITION  Aspergillus flavus clone MuBa-20 internal transcribed spacer 1,
            partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
            spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   ON146195
VERSION     ON146195.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus flavus
  ORGANISM  Aspergillus flavus
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus; Aspergillus subgen. Circumdati.
REFERENCE   1  (bases 1 to 675)
  AUTHORS   Muna,J.A. and Ban,M.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
            Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
            Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
            Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..675
                     /organism="Aspergillus flavus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /isolate="MuBa-20"
                     /isolation_source="lay's gypsum"
                     /db_xref="taxon:5059"
                     /clone="MuBa-20"
                     /country="Iraq"
                     /collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
                     Alzobaid"
     misc_RNA        <1..>675
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 ccgtgtttac tgtaccttag ttgcttcggc gggcccgcca ttcatggccg ccgggggctc
       61 tcagccccgg gcccgcgccc gccggagaca ccacgaactc tgtctgatct agtgaagtct
      121 gagttgattg tatcgcaatc agttaaaact ttcaacaatg gatctcttgg ttccggcatc
      181 gatgaagaac gcagcgaaat gcgataacta gtgtgaattg cagaattccg tgaatcatcg
      241 agtctttgaa cgcacattgc gccccctggt attccggggg gcatgcctgt ccgagcgtca
      301 ttgctgccca tcaagcacgg cttgtgtgtt gggtcgtcgt cccctctccg ggggggacgg
      361 gccccaaagg cagcggcggc accgcgtccg atcctcgagc gtatggggct ttgtcacccg
      421 ctctgtaggc ccggccggcg cttgccgaac gcaaatcaat cctttccagg ttgacctcgg
      481 atcaggtagg gatacccgct gaacttaagc atatcataga cggggaggag atcattaccg
      541 agtgtagggt tcctagcgag cccaacctcc caccgggttt acggtacctt agttgcttcg
      601 gcgggcccgc cttcagggcc cggggggccc tacccggccg cgccgcccgg aaacccacga
      661 actctgtctg atctg
//
```

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1214 bits(1345)	0.0	674/675(99%)	0/675(0%)	Plus/Plus

Query 1 CCGTGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCATTCATGGCCGCCGGGGGCTC 60

Sbjct 42 101

Query 61 TCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGACACCACGAACTCTGTCTGATCTAGTGAAGTCT 120

Sbjct 102 161

Query 121 GAGTTGATTGTATCGCAATCAGTTAAAACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATC 180

Sbjct 162 221

Query 181 GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAGTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCG 240

Sbjct 222 281

Query 241 AGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCA 300

Sbjct 282 341

Query 301 TTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCGTCGTCCCCTCTCCgggggggACGG 360

Sbjct 342 401

Query 361 GCCCCAAAGGCAGCGGCGGCACCGCGTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCG 420

Sbjct 402 461

Query 421 CTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAACGCAAATCAATCCTTTCCAGGTTGACCTCGG 480

Sbjct 462 ....**T**.................. 521

Query 481 ATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAGACGGGGAGGAGATCATTACCG 540

Sbjct 522 581

Query 541 AGTGTAGGGTTCCTAGCGAGCCCAACCTCCCACCGGGTTTACGGTACCTTAGTTGCTTCG 600

Sbjct 582 641

Query 601 GCGGGCCCGCCTTCAGGGCCCGGGGGGCCCTACCCGGCCGCGCCGCCCGGAAACCCACGA 660

Sbjct 642 701

Query 661 ACTCTGTCTGATCTG 675

Sbjct 702 716

ملحق رقم (19)

***Aspergillus versicolor* isolate SS_46 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence**
Sequence ID: MT497452.1Length: 856Number of Matches: 2
Range 1: 51 to 657GenBankGraphicsNext MatchPrevious Match
Aspergillus versicolor clone MuBa-21 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence
GenBank: ON146196.1
FASTA Graphics
Go to:
LOCUS ON146196 607 bp DNA linear PLN 10-APR-2022
DEFINITION Aspergillus versicolor clone MuBa-21 internal transcribed spacer 1,
partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene,
partial sequence.
ACCESSION ON146196
VERSION ON146196.1
KEYWORDS .
SOURCE Aspergillus versicolor
ORGANISM Aspergillus versicolor
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
Aspergillus; Aspergillus subgen. Nidulantes.
REFERENCE 1 (bases 1 to 607)
AUTHORS Muna,J.A. and Ban,M.A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (02-APR-2022) Ministry of Higher Education University of
Karbala College of Education for Pure Sciences Department of Life
Sciences, Ministry of Education Karbala Education Directorate-Al
Jawahiri Primary School for Boys, Karbala 00964, Iraq
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..607
/organism="Aspergillus versicolor"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="MuBa-21"
/isolation_source="cashew"
/db_xref="taxon:46472"
/clone="MuBa-21"
/country="Iraq"
/collected_by="Muna Jaber Niema ALtamim, Ban Mousa Hassan
Alzobaid"
misc_RNA <1..>607
/note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
1 cccacccgtg aatacctaac actgttgctt cggcggggaa ccccctcggg ggcgagccgc
61 cggggactac tgaacttcat gcctgagagt gatgcagtct gagtctgaat ataaaatcag
121 tcaaaacttt caacaatgga tctcttggtt ccggcatcga tgaagaacgc agcgaactgc
181 gataagtaat gtgaattgca gaattcagtg aatcatcgag tctttgaacg cacattgcgc
241 cccctggcat tccgggggc atgcctgtcc gagcgtcatt gctgcccatc aagcccggct
301 tgtgtgttgg gtcgtcgtcc cccccggggg acgggcccga aaggcagcgg cggcaccgtg
361 tccggtcctc gagcgtatgg ggctttgtca cccgctcgac tagggccggc cgggcgccag
421 ccgacgtctc caaccatttt tcttcaggtt gacctcggat caggtaggga tacccgctga
481 acttaagcat atcataaggc cgggggaaaa tcattaccga gtgcgggctg cctccgggcg
541 ccaacctcca ccgtgaaata ctaacactgt tgcttcggcg gggaacccct cgggggcgag
601 cgccggg
//

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1091 bits(1209)	0.0	606/607(99%)	0/607(0%)	Plus/Plus

Query 1 CCCACCCGTGAATACCTAACACTGTTGCTTCGGCGGGGAACCCCCTCGGGGGCGAGCCGC 60

Sbjct 51 110

Query 61 CGGGGACTACTGAACTTCATGCCTGAGAGTGATGCAGTCTGAGTCTGAATATAAAATCAG 120

Sbjct 111 170

Query 121 TCAAAACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAACTGC 180

Sbjct 171 230

Query 181 GATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGC 240

Sbjct 231 290

Query 241 CCCCTGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCCCGGCT 300

Sbjct 291 350

Query 301 TGTGTGTTGGGTCGTCGTcccccccGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGCGGCACCGTG 360

Sbjct 351 410

Query 361 TCCGGTCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCACCCGCTCGACTAGGGCCGGCCGGGCGCCAG 420

Sbjct 411 470

Query 421 CCGACGTCTCCAACCATTTTTCTTCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGA 480

Sbjct 471 530

Query 481 ACTTAAGCATATCATAAGGCCGGGGGAAAATCATTACCGAGTGCGGGCTGCCTCCGGGCG 540

Sbjct 531 ....**T**...................... 590

Query 541 CCAACCTCCACCGTGAAATACTAACACTGTTGCTTCGGCGGGGAACCCCTCGGGGGCGAG 600

Sbjct 591 650

Query 601 CGCCGGG 607

Sbjct 651 65

Summary

This study aimed to isolate and identify fungi that produce mycotoxins from some foodstuffs in Karbala Governorate. The study was conducted in the laboratories of the College of Education for Pure Sciences for the academic year 2021-2022 for the purpose of evaluating the effectiveness of aqueous and alcoholic extracts of cloves, studying the effect of plant growth regulators Giberellic acid and Indol aacetic acid, and making a combination between plant extracts and growth regulators on aflatoxin-producing fungi.

The results of isolation and purification of fungi associated with foodstuffs, nuts, legumes, meat, dairy, vegetables, fruits, indomie, cheese, biscuits, noodles, tomato paste, sesame, rice, pasta, millet and bread, which were isolated from some foodstuffs traded in the local markets in the city of Karbala, showed that they were contaminated with fungi and that all the fungi that were isolated were Aflatoxin-producing, as evidenced by the use of coconut medium with ammonia solution.

Fungi were diagnosed phenotypically and molecularly by using Polymerase Chain Reaction (PCR) technique, which succeeded in duplicating NS8 and NS1 with primers (ITS). Biotechnology Information (NCBI) has been deposited in the Biofungi database.

The isolated fungi are *Penicillium oxalicum, Penicillium Cladosporium Uredinicola expansum, Aspergillus flavus, Aspergillus sydowii, Aspergillus Oryzae, Aspergillus Tamarii, Aspergillus nomius, Alternaria triticina, Penicillium griseofulvum, Cladosporium. Aspergillus flavus Aspergillus austwicki Fusarium brevicompatum Penicillium cladosporioides, proleferatum, Aspergillus caespitosus, Aspergillus* versicolor. All these snags have been recorded in the genetic bank and given funniest numbers .MT03303 ,AF033479 ,M235787 JN088229, LC094427 , MH66405, MT25485, MK45036, JX418360, MF03465 . OM72177, MW51015, MF47593, MT55892, HQ44324, KU866669 MK64522, MT49745. Respectively, the results showed that there is a similarity of 99-100% between these isolates and global isolates.

The percentage of occurrence of the toxin-producing country species was calculated in the samples that were studied, and the percentage of appearance of the fungus *Aspergillus* was 55.56%, as it appeared in ten isolates, while the fungus *Penicillium* appeared in four isolates and its percentage was 22.22%, while the percentage of appearance of the fungus

Cladosporium was 11.11%. It appeared in only two isolates. As for the genus *Alternaria* and the genus *Fusarium*, the incidence rate for each of them was 5.56%, as each of them appeared in one isolate. As for the percentage of frequency, the fungus *Aspergillus flavus* was frequent three times from different isolates, which are apple, eggplant and cashew.

The frequency of cashews was 16.67%, while the rest of the species belonging to the genera of fungi, the frequency of each type in one isolate, and the frequency was 5.56%.

Alcoholic and aqueous extracts at concentrations of 20, 2,5,10,5,15 mg ml were used to evaluate the effectiveness of the extracts in inhibiting the fungi included in the study, calculate the percentage, and determine the value of the minimum inhibitory concentration. The results of the statistical analysis showed the superiority of the alcoholic extract over the aqueous extract of the clove plant, and the increase in the sperm count for perfusion with increasing concentration.

The study showed the effect of growth regulators on the growth of the studied fungi, as there was a significant decrease in the diameter of the colony at concentrations 20, 15, 2.5, 5, 10 mg ml, and determining the value of the minimum inhibitory concentration. Inhibitory susceptibility to gibberellins and the increase in the percentage of inhibition with increasing concentration.

The results showed the ineffectiveness of the combination between the German extract of clove plant and growth regulators in inhibiting the studied fungi by mixing the minimum inhibitory concentration of the aqueous extract 17, 18, 19, 20 mg ml with the minimum inhibitory concentration value of the growth regulators gibberellin 17, 18, 19 mg ml and indole acetate. Asad 12, 13, 14 were less effective in inhibiting aflatoxin-producing fungi, which indicates that the ability of each of the aqueous extract and growth regulators to inhibit the growth of toxin-producing fungi is higher if used separately.

The results showed the effectiveness of the combination between the alcoholic extract of cloves and growth regulators in inhibiting toxin-producing fungi by mixing the minimum inhibitory concentration of the alcoholic extract 0.5, 1, 1.5, 2 mg AML with the minimum inhibitory concentration value of the growth regulators gibberellin 17, 18, 19 mg AML, and indole acetate. Asad 12, 13, 14 mg amal, the result was a

combination of high efficacy in inhibiting aflatoxin-producing fungi at lower concentrations.

The results of the detection of the active substances of the clove plant showed the presence of a number of effective chemical compounds, as the results showed that the flower buds of the clove stability contain all of the flavones, glycosides, phenols, terpenes, resins, volatile oils, saponins, steroids and fluids.

Karbala Universit

Ministry of Higher Education and Scientific Research,

University of Karbala

College of Education for Pure Sciences

Department of Life

Effect of aqueous and alcoholic extract of clove plant and plant growth regulators and their interaction against some fungi isolated from some foodstuffs

Introduction message

To the Council of the College of Education for Pure Sciences / University of Karbala, which is part of the requirements for obtaining a master's degree in life sciences / botany - fungi

By

Muna Jaber Neahme

, Bachelor of Life Sciences / College of Education for Pure Sciences

Karbala University -2007

Supervised by

Prof. Dr. Ban Musa Hassan Al-Zubaidi

Karbala University / College of Education for Pure Sciences

2022 A.D 1444 A.H