عزل وتعريف الفطريات المصاحبة لبذور الفول السوداني المحلية والمستوردة

*سعاد محمد أبوالغيث * أحلام القمودي زعيط

المستخلص: أجريت هذه الدراسة المعملية ربيع 2021 بمعمل الصحة الحيوانية بالزاوية، حيث استهدفت عزل وتعريف الفطريات المرافقة لبذور الفول السوداني المحلية والمستوردة (الليبية والمصرية والصينية). وقد تم جمع بذور الفول السوداني من مدينة الزاوية ومصراتة وصبراتة ومن خلال هذه الدراسة تم الحصول على عدد 350 عزلة تعود لسبعة أجناس فطرية. حيث بلغت عدد العزلات من الفطر *Rhizopus stolonifer* 150 عزلة، و*Aspergillus niger* 105عزلة، و38 عزلة .*Sclerotinia*spp بينما كان عدد العزلات من الفطر *Aspergillus flavus* 37 عزلة، في حين كان عدد العزلات لفطر. *Penicillium* spp 15 عزلة، وكان عدد العزلات لكل من فطر *Alternaria alternata* و.*Fusarium*spp عزلتين، وفطر.*Mucor*spp عزلة واحدة فقط.

الكلمات الدالة, *Aspergillus niger, Penicillium , Rhizopus*، الفول السوداني، فطريات تخزين البذور.

المقدمة:

يعد محصول الفول السوداني .*Arachis hypogaea* L من أهم المحاصيل الزيتية في العالم، ويحتل المرتبة الخامسة من بين المحاصيل الصناعية(Al-Arabi *et al.*, 2017) ويعتبر كمصدر غذاء للإنسان وذلك لاحتوائها على العناصر الغذائية مثل البروتين والمعادن والفيتامينات وعناصر أخرى، وتعتبر هذه المحاصيل أكثر تعرضاًللإصابة بالسموم الفطرية ربما يرجع ذلك لارتباطها بالأفلاتوكسين الذي يعد من أهم السموم الفطرية خطورة وانتشاراً والتي تصيب المحاصيل الزيتية خاصةً (قطب،2009a). حيث تتعرض هذه الحبوب للإصابة بالأحياء الدقيقة المسببة للأمراض قبل الحصاد وبعد التخزين، وتهاجم فطريات المخازن البذور المخدوشة بشكل أسرع من البذور السليمة، ذات الرطوبة العالية (ميخائيل، 2000). وتتوزع الأحياء الدقيقة ضمن ثلاث مجموعات تبعاً لأصلها ولطبيعة تطورها في المخزن، منها المجموعة الحقلية وتضم مجموعة الكائنات الحية الدقيقة الممرضة للنبات وتصل للبذور قبل الحصاد، مثل *Alternaria , Cladosporium, Fusarium* وتفضل الرطوبة العالية فتبقى في حالة سكون عند التخزين الجيد للحبوب، بينما تضم مجموعة الأنواع التخزينية العديد من الأحياء المتخصصة في مهاجمة الحبوب بعد الحصاد فقط، وتوجد في مخازن الحبوب، حيث تتطور بشكل رمي عند توفر الرطوبة المرتفعة، وتتميز بقدرتها العالية على تحمل الأوساط الجافة مثل .*Aspergillus* spp. *Penicillium*spp وبما أنها رمية ولا تستطيع مهاجمة الأنسجة الحية فتنمو على الخلايا الميتة بأسطح البذرة فتنتج مواد سامة وتسبب في تحلل البذور (خلف والرجبو، 2006) والمجموعة الوسطية تضم العديد من الأنواع القادرة على التطور حقلياً، والتي تنتقل مع الحبوب إلى المخازن وتتطور من جديد إذا توفرت لها الرطوبة الكافية مثل .*Mucor*spp., *Rhizopus* spp (نمور، 1995).

يعد تلوث المحاصيل البقولية بالفطريات والسموم الفطرية من المشاكل التي تهدد العديد من الدول النامية ولا سيما تلك التي تفتقر لظروف الخزن الغذائي الجيد وتعد مصدر قلق كبيراً جدا مما دعا تلك الدول إلى توفير مصادر غذائية صحية لتحقيق أمنها الغذائي كما إن للسموم الفطرية تأثيرات كبيرة على الصحة العامة حيث تسبب تسمم الكلى وتثبيط المناعة ومسخا لأجنة وتشوهات خلقية وهذه السموم قادرة على إحداث تأثيرات حادة ومزمنة في الإنسان والحيوان تتراوح بين الموت أو اضطراب في

* محاضر، تخصص أحياء دقيقة، قسم علم النبات، كلية العلوم، جامعة الزاوية ah.zaet@zu.edu.ly
* محاضر، تخصص أحياء دقيقة، قسم علم النبات، كلية العلوم، جامعة الزاوية

الجهاز العصبي المركزي والقلب والأوعية الدموية والنظم الرئوية (العبودي وآخرون، 2015)، كما أشارت العديد من الدراسات إلي دور البذور البقولية مثل الفاصوليا، الحمص، الفول، البازلاء، والعدس، في حمل الفطريات *مثل , Aspergillus niger , Aspergillus flavus, Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp., *Sclerotinia* sp., *Botrytis* sp. (مُحَمَّد وآخرون، 2013). كذلك أشار(الغرياني وآخرون، 2017) في دراسة أظهرت نتائجها عزل العديد من الفطريات المصاحبة لبذور بعض المحاصيل البقولية المخزنة (الفول والفول السوداني والفاصوليا والحمص) *Penicillium, Rhizoctonia, Aspergillus niger, Fusarium, Aspergillius flavus,*.

وتعتبر إمراض أعفان الثمار من أهم الأمراض المسببة لفقد كمي ونوعي للمحصول إلى جانب تلوث الثمار بالأفلاتوكسين حيث يمثلان معاً إحدى اكبر المعوقات التي تواجه منتجي ومصدري الفول السوداني، حيث من الصعب اكتشاف الثمار الملوثة بالأفلاتوكسين إلا بالتحاليل الكيميائية، إذ لا تظهر عليه أي إعراض واضحة، وينتج الأفلاتوكسين على بذور الفول السوداني عن طريق أربع أنواع من جنس *Aspergillus* هم*A. flavus, A. parasiticus, A. nomius, A.tamari*حيث تحمل الجين المسئول عن الإفراز ويعتبر فطري ,*A.flavus,A.parasiticus*أهمها وأكثرها انتشاراً، وتتم عملية الإفراز في مرحلة ما قبل الحصاد وتستمر تحت الظروف السيئة في المخازن وإثناء الشحن للتصدير، وتعتبر ارتفاع الرطوبة للبذرة اعلي من 1 ودرجة الحرارة ما بين 30-35 درجة مئوية انسب الظروف الملائمة لعملية الإفراز، ويعد الافلاتوكسين من أهم السموم الفطرية لما لها من أضرار على صحة الإنسان والحيوان حيث يؤدي تراكمها بداخل الجسم تلف الكبد بالإضافة إلى أنها مسرطنة (قطب،b2009).

الهدف من الدراسة:

تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتعريف الفطريات المصاحبة لبذور الفول السوداني المحلية والمستوردة.

المواد وطرق العمل:

مصدر البذور وجمع العينات:

جمعت 24 عينة لبذور الفول السوداني من مصادر مختلفة (إنتاج محلي وبذور مستوردة من مصر والصين) وأُخذت هذه العينات من ثلاث مدن ليبية مختلفة (الزاوية-صبراتة-مصراتة) بواقع 250 جرام لكل عينة من أسواق مختلفة لغرض الحصول على عزلات فطرية وتعريفها.

عزل وتشخيص الفطريات المرافقة للبذور:

تم أخذ 10 بذور من الفول السوداني من كل العينات، وغسلت بالكحول بتركيز 75% لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المقطر المعقم مرتين لمدة دقيقتين في كل مرة، بعدها وضعت على ورق ترشيح للتخلص من الرطوبة، وزرعت على الوسط الغذائي(Potatodextrose agar (PDAوالوسط الغذائي (Malt Extract AgarMEA)، حيث حُضرت الأوساط تبعا لتعليمات الشركة المصنعة (OXOID) مع إضافة المضاد الحيوي الكلورامفينيكول بتركيز 250 مليجرام/ لتروحضنت تحت درجة حرارة 25±2 °م لمدة من 3 إلى 5 أيام، وتم فحص النمو الفطري وتنقيته باستخدام Single sporeوحساب عدد مستعمرات كل فطر من الفطريات المعزولة من البذور المختبرة.

شخصت العزلات الفطرية اعتماداً على المظهر الخارجي للمستعمرة Morphological feature مثل الشكل واللون وأيضاً اعتماداً على الصفات المجهرية Microscopic feature مثل شكل وحجم ولون وتركيب الحوامل والأبواغ والتراكيب الأخرى باستخدام المفاتيح التصنيفية الواردة في المصادر التي تناولت تصنيف ودراسة الفطريات قيد الدراسة الحالية وهي (Domsch *et al.*, 1980)و (Gilman, 1957).

كذلك تم حساب النسبة المئوية للتردد ولظهور الفطريات بإتباع المعادلات التي ذكرها(العبودي وآخرون، 2015).

$$\text{النسبة المئوية للتردد\%} = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{\text{العدد الكلي لعزلات جميع الانواع}} \times 100$$

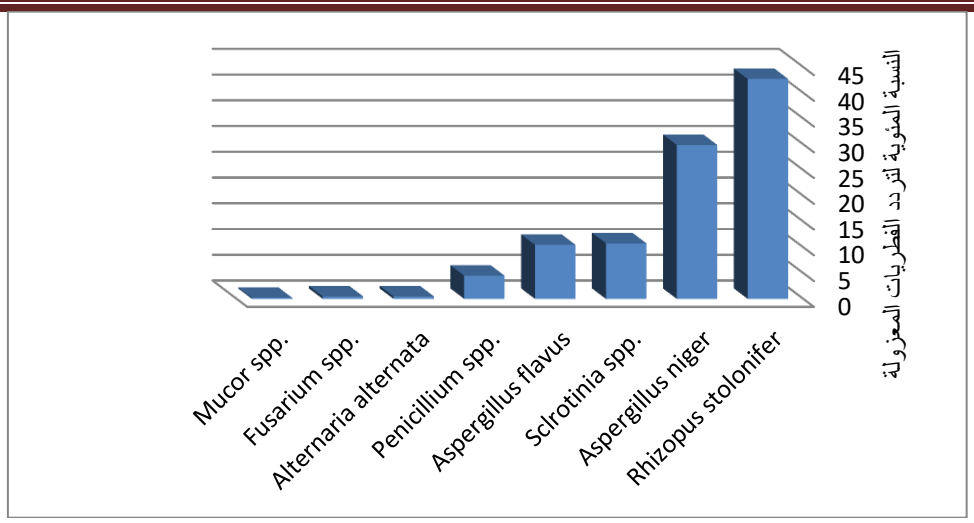
$$\text{النسبة المئوية للظهور\%} = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها النوع الواحد}}{\text{عدد العينات الكلية}} \times 100$$

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج العزل للفطريات كما هو مشار إليه في الجدول (1)بأنه قد تم الحصول على 350 عزلة تعود لسبعة أجناس فطرية حيث كانت عدد عزلات الفطر *Rhizopus stolonifer* 150 عزلة و *A. niger* 105عزلة و38 عزلة *Sclerotinia*spp. بينما كان فطر *A. flavus* 37 عزلة في حين كان فطر *Penicillium spp.* 15 عزلة وكان كل من*Alternaria alternata* و*Fusarium*spp. عزلتين و*Mucor* spp.عزلة واحدة فقط. وهذا يتوافق مع الدراسة التي قام بها (القاضي والجالي، 2020) بأن فطر *A.niger* كان من بين الفطريات الأكثر تردد على بذور الفول السوداني وكذلك *A.flavus*.

جدول (1) الفطريات المعزولة من بذور الفول السوداني وعدد العزلات لكل فطر والنسبة المئوية % لتردد الفطر

ت	الفطريات المعزولة	عدد العزلات	% لتردد الفطر
1	*Rhizopusstolonifer*	150	42.86
2	*Aspergillus niger*	105	30
3	*Sclerotinia*spp.	38	10.86
4	*Aspergillus flavus*	37	10.57
5	*Penicillium*spp.	15	4.29
6	*Alternaria alternata*	2	0.57
7	*Fusarium*spp.	2	0.57
8	*Mucor*spp.	1	0.28
المجموع		350	



الشكل (1) النسبة المئوية (%) لتردد الفطريات المعزولة من الفول السوداني

من الرسم البياني الشكل (1) تبين أن فطر *Rhizopusstolonifer* كان الأكثر تردد بين كل الفطريات المعزولة بنسبة 42.86%، يليه فطر *Aspergillus niger* ب نسبة تردد 30%، وتعزى النسب العالية لتردد هذان الفطران إلى قابليتهم على النمو والتكيف في بيئات مختلفة وقابليتهم الإنزيمية العالية التي تمكنهم من السيادة عن بقية الفطريات(حميد، 2015)، أما فطر *Mucor*spp. كان الأقل تردد بنسبة 0.28%.

جدول(2) يوضح النسبة المئوية (%)لظهور الفطريات المعزولة من مصادر مختلفة

المكان	المصدر	Rh	A.n	Sc	A.f	Pe	Al	Fu	Mu
الزاوية	ليبيا	50	50	23.3	6.6	6.6	6.6	0	0
	مصر	56	36	43	33	0	0	0	33
	الصين	60	40	36.6	36.6	3.3	0	0	0
صبراتة	ليبيا	53.3	56.6	0	10	6.6	0	0	0
	مصر	53.3	73.3	33.3	23.3	3.3	0	0	0
	الصين	96.6	13.3	0	16.6	6.6	0	0	0
مصراتة	ليبيا	93.3	86.6	0	0	16.6	0	0	0
	الصين	63.3	3.3	0	3.3	10	0	0	0

(Rh)Rhizopus, (A.n) Aspergillus niger, (Sc)Sclerotinia*spp., *(A. f) Aspergillus flavus, (Pe)Penicillium*spp., *(Al)Alternaria, (Fu)Fusarium, (Mu)Mucor.

كما أظهرت نتائج هذه الدراسة وكما هو موضح بالجدول (2) أن الفطريات *Penicillium*spp.,*Rhizopus stolonifer* ,*Aspergillus flavus, Sclerotinia*spp.,*Aspergillus niger,* متلازمة وبنسبة مئوية عالية مع جميع البذور مقارنة بفطر *Alternaria* متواجد على بذور الفول السوداني ليبية المصدر وفطر *Mucor* متواجد على بذور الفول السوداني مصرية المصدر، وهذا ما أكدته الدراسة التي قام بها (الغرياني وآخرون، 2011) بأن معدل تكرار الفطر *Penicillium, Alternaria Fusarium,* كان عاليا على بذور الفاصوليا والفول السوداني مقارنة بباقي البذور الأخرى المختبرة، بينما تكرار فطر *Aspergillus niger Aspergillus flavus,* على جميع البذور المستخدمة فكان أعلى تكرار على بذور الحمص والفول السوداني يليه البازلاء. بالإضافة إلى ما توصلت إليه الدراسة التي قام بها(رمضان وآخرون، 2013)بان الفطر *A.niger* كان أكثر الفطريات تواجدا في البذور الزيتية وثمار الزيتون وبلغ مجموع العزلات هذا الفطر 244 ، كما بينت

أن فطر*A.flavus* تواجد في جميع العينات عدا البندق والزيتون، بالإضافة إلى ما أشارت إليه الدراسة التي قام بها (Lashger *et al.*, 2018) على بذور الفاصوليا بأن أهم الفطريات المعزولة *Aspergillus niger, Aspergillusflavus, Penicillium, Alternaria,Fusarium* وهذا يتفق مع نتائج هذه الدراسة، كما تتفق هذه النتائج مع الدراسة التي قام بها (شعبان وابوزيان، 2017) على بذور الفاصوليا بان أكثر الفطريات تواجدا على حبوب القمح والذرة *Aspergillus* spp.*Penicillium,* وهي تعتبر من الفطريات المسئولة عن إفراز السموم الفطرية في سلسلة غذاء الإنسان والحيوان حيث أن فطر *Aspergillus flavus* المسئول عن إنتاج الافلاتوكسين في الحبوب خاصة الذرة والقمح والفول السوداني وبذور القطن وغيرها.وهذا أيضا ما أكدته الدراسة(Zohri andAbdel-Gawad,1993 ; Azize and Moussa, 2002) بان الفطريات مولدة للسموم ولاسيما *Aspergillus* هي من الملوثات الرئيسية في الفواكه المجففة وإن الفطرين *Aspergillus niger Aspergillus flavus,* هما أكثر الأنواع التي تم عزلها من المشمش والتمر والخوخ، وتشير الدراسات إلى أن مثل هذه الفطريات اغلبها تنتقل بالبذور مسببة أمراض عديدة مثل مرض التعفن والذبول وما إلى ذلك من الأمراض الفطرية المحمولة بالبذور على نباتات العائلة البقولية والتي تسبب لها خسائر كبيرة (الجالي، 1996 وأبوبكر، 2000) و(Islam *et al.*,2009&Domijan*et al.*,2005) كما أشار (El-Gali,2003) في دراسته بان فطر *Aspergillus flavus* كان أكثر الفطريات المعزولة من بذور الفاصوليا، كما أكدت الدراسة التي قام بها (شاكر وآخرون، 2012)ان سبب ظهور فطر *Aspergillus* في المواد الغذائية هو امتلاك هذا الجنس القدرة على إفراز عدد كبير من الانزيمات المحللة للمواد الغذائية التي يستفاد منها في التغذية والنمو وكذلك سعة الانتشار.

الخاتمة:

أوضحت الدراسة أن بذور الفول السوداني المحلية والمستوردة والموجودة في الأسواق الليبية تحتوي على بعض فطريات التخرين. حيث تم عزل وتعريف مجموعة من الفطريات وهي *Aspergillus niger, Aspergillusflavus, Penicillium, Alternaria,Fusarium* وتوصي هذه الدراسة بإجراء المزيد من البحوث لمعرفة المحتوى السمي لهذه الفطريات ومدى تأثير هذه الفطريات على القيمة الغذائية لبذور الفول السوداني المخزنة.

الشكر والتقدير:

أتوجه بالشكر الجزيل إلى كل أعضاء مركز الصحة الحيوانية بالزاوية واخص بالذكر الدكتور علي ميلاد الذي كان له الفضل الكبير في إتمام وإنجاز هذا البحث المتواضع. واسأل الله العظيم رب العرش العظيم أن يجعله عملاً صالحاً وخالصاً لوجه الله الكريم...

Isolation and identification offungi associated with local and imported peanut seeds

Soad Mohamed aboalgeat Ahlam algamodi zaet

Abstract: This laboratory study was carried aut in spring of 2021 at the Animal Health Laboratory in Al-zawiya, where it aimed to isolation and identification the fungi associated with local and imported (Libyan, Egyptian and Chinese) peanut seeds. Peanut seeds were collected from Zawiya, Misurata and Sabratha, and through this study, 351 isolates belonging to seven fungal genera were obtained. The number of isolates of the fungus *Rhizopus stolonifer* was 150 isolates, *Aspergillus niger* 105 isolates, and 38 isolates of *Sclerotinia* spp. While the number of isolates of *Aspergillus flavus* was 37, while the number of isolates of *Penicillium* spp. was 15, and the number of isolates for each *Alternaria alternata* and*Fusarium* spp. two isolates, and *Mucor* spp. only one isolate.

Keywords:*Aspergillus niger, Penicillium, Rhizopus*, peanut, seed storage fungi.

المراجع:

1.أبوبكر، نجاح سليمان، (**2000**). **عزل وتعريف الممرضات الفطرية المحمولة على بذور بعض الأنواع البقولية وطرق مكافحتها**، رسالة ماجستير، قسم وقاية النبات كلية الزراعة،جامعة عمر المختار،البيضاء، ليبيا

2.الجالي، زهرة **إبراهيم** (**1996**). **تلوث بذور بعض المحاصيل بسموم الافلاتوكسين في منطقة الجبل الأخضر**، رسالة ماجستير، قسم وقاية النبات كلية الزراعة، جامعة عمر المختار

3.العبودي، سارة عبد الكريم مخيف؛ الحسيني، ابتهال معز عبد المهدي؛ عبيد، حسين جاسم (**2015**). **عزل وتشخيص الفطريات المنتجة لسموم اللافلاتوكسين B1 من بعض الأغذية المحلية في أسواق محافظة بابل**. مجلة جامعة بابل- العلوم الصرفة والتطبيقية- 3(23)

4.الغرياني، نجاة خليفة؛ النجار، هناء مُحَمَّد؛ الشبعان، سهير سالم؛ كرة، حلومة مُحَمَّد (**2011**). **عزل وتعريف الفطريات المصاحبة لبعض بذور المحاصيل البقولية والحشرات المرافقة لها**. قسم وقاية النبات – كلية الزراعة- جامعة طرابلس- المجلة الليبية للعلوم الزراعية -16 (1،2)

5.القاضي، ماجدة يونس؛ الجالي، زهرة إبراهيم (**2020**).**عزل وتعريف فطريات التخزين في بذور صنفين من الفول السوداني (*Arachishypogea* L.)واختبار قابليتها على افراز السموم**. المجلة السورية للبحوث الزراعية- 9(4)

6.حميد، مروان سالم. (**2015**). **اختبار قابلية بعض الأنواع الفطرية على النمو في أوساط ملوثة بالنفط الخام**. مجلة تكريت للعلوم الصرفة -جامعة تكريت- العراق. 20(5)

7.خلف، احمد صالح؛ الرجبو، عبدالستار سمير (**2006**). **تكنولوجيا البذور**. دار ابن الاثير للطباعة والنشر- جامعة الموصل

8.رمضان، نديم احمد؛ عبد، فاتن نوري ملا؛ الترجمان، جنان قاسم خورشيد(**2013**)**عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لبعض البذور الزيتية وثمار الزيتون**.Journal of Kirkuk University for Agricultural Sciences. جامعة الموصل- 2(4)

9.شاكر، رنة جلال؛ ثلج، كركز مُحَمَّد؛ بديوي، امين سلمان (**2012**). **عزل وتشخيص الأعفان المنتجة للسموم الفطرية من الأغذية الأكثر استهلاكا في الأسواق العراقية**. مجلة جامعة تكريت-1(13):39-44.

10. شعبان، منيرة احمد؛ ابوزيان،سمية عمر (**2017**). **عزل وتعريف الفطريات وتقدير محتوى الرطوبة لحبوب القمح والذرة من بعض أسواق مدينة مصراتة**. المؤتمر السنوي الأول حول نظريات وتطبيقات العلوم الأساسية والحيوية- جامعة مصراتة.

11. قطب، عماد الدين يوسف محمود (**a2009**). **المحاصيل الزيتية وتلوثها بالسموم الفطرية ومدى تأثيرها على الصحة العامة وعملية التصدير**. مقالة علمية، معهد أمراض النبات – مركز البحوث الزراعية. مصر.

12. قطب، عماد الدين يوسف محمود (**b2009**). **الفول السوداني واهم مشاكله التصديرية**. مقالة علمية. معهد أمراض النبات- مركز البحوث الزراعية. مصر.

13. مُحَمَّد، نوارة علي؛ بونصيرة، فوزية مفتاح؛ إبراهيم، نجوى عبدالستار (**2013**). **حصر الفطريات المحمولة في بذور البقوليات وفصل سمومها**. مجلة المختار- 28(2)

14. ميخائيل، سمير حسني (**2000**). **أمراض البذور**. منشأة المعارف بالإسكندرية- الطبعة الثالثة-ص428.

15. نمور، دمر هاشم (**1995**). **وقاية المواد المخزونة نظري– عملي**. جامعة تشرين- كلية الزراعة- الجمهورية العربية السورية.

16. **Al-Arabi, S.; Almasri, M.; Al-baka, R.; Al farawati, F. and Albasaleh, M. (2017).** Efficency of Some Biotical-Fungi against Parasitic Nematode on Peanut Rhizosphere. Syrian Journal of Agricultural Research -1(4)

17. **Azize, N. H. and Moussa, L. A. A. (2002)**.Innfluence gamma radiation on mycotoxin producing mould and mycotoxine in fruits food Control - 13

18. **Domijan, M. Peracia, M. Zlender, V. Cvjetkovic, B. Jurjevic, Z;Topolvec-Pintari, S. and Ivic, D.(2005).** Seed-born fungi and ochratoxin Acontamination of drybeans(*Phaseolus vulgaris* L.) in the Republic of Croatia. Food and Chemical Toxicology- 43

19. **Domsch, K. H.; W. Gams and Anderson,T.H. (1980).** Compendium of Soil Fungi Academic Press.

20. **Gilman, J. C. (1957).** A manual of soil fungi. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, USA

21. **El-Gali, Z. l. (2003).** Histopathological and biochemical studies on Phaseolus vullegumes. Triends in Life Science.TLS- (2)

22. **Islam, S. M.; Masum, M. M. L. and Fakir, M. G. (2009).** Prevalence of seed- borne Fungi in Sorghum of different location of Bangladesh. Scientific Research and Essay- 4

23. **Lashger, I. M.; El-gali, Z. I. and Khalifa, H. A. (2018).** Isolation and identification of seed borne fungi on dry bean and determination of their Location on seed coats. Al-Mukhear Journal of Sciences -33(1).

24. **Zohri,A.A.and Abdel-Gawad,K.M. (1993).**Survey of microflora and mycotoxiens of some dried fruits in Egypt. Journal of Basic Microbiology-33(4