ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/340829590

# Detection of some isolates of fusarium spp which produce T-2 toxin from maize grain in Iraq

**Article** · April 2007

CITATIONS
0

READS
37

**3 authors:**

Oadi Matny
University of Minnesota Twin Cities
**94** PUBLICATIONS **677** CITATIONS
SEE PROFILE

Khalid W. Ibade
University of Anbar
**42** PUBLICATIONS **16** CITATIONS
SEE PROFILE

Mohammed Abdullah Farhan
University of Anbar
**8** PUBLICATIONS **2** CITATIONS
SEE PROFILE

**Some of the authors of this publication are also working on these related projects:**



المبيدات View project



MDPI-Water Special Issue "Human, Animal, and Plant Infectious Microbes in Water: Risk Assessment, Monitoring, and Control" View project

All content following this page was uploaded by Khalid W. Ibade on 22 April 2020.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

# التحري عن عزلات للفطر *Fusarium spp* فارزة للسم T2-toxin والمعزولة من حبوب الذرة الصفراء في العراق

عدي نجم إسماعيل الحديثي* ، خالد وهاب عبادي** و محمد عبد الله فرحان**
* قسم وقاية النبات - كلية الزراعة / جامعة بغداد
** قسم وقاية النبات - كلية الزراعة / جامعة الأنبار

## الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة جامعة بغداد، للتحري عن عزلات للفطر *Fusarium spp* فارزة للسم T2 التي تم عزلها من حبوب الذرة الصفراء. جمعت عينات الذرة الصفراء من محافظات بابل و بغداد و صلاح الدين وواسط ،عقمت وزرعت على وسط الـ PDA وحضنت على درجة ٢٥± ٢ م مدة ٥ ايام ثم عزل الفطر *Fusarium spp* .اوضحت النتائج ان الفطر *F. moniliform* كان اكثر انواع الجنس تواجد في جميع عينات حبوب الذرة الصفراء بقيمة بلغت ٧٥% و ٧٨,٣% للـ *Fusarium spp* . نميت العزلات على وسط Starch-Czapeks Liquid media مدة ٢١ يوما، ثم استخلص السم وشخص باستخدام صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة TLC وبوجود المادة القياسية للسم T2 ، حيث وجدت ثلاث عزلات من الفطر *F. moniliform* فارزة للسم T2 وبتراكيز تراوحت بين 50 و184 ملغم/لتر.

# Detection of some isolates of *Fusarium spp* which produce T-2 toxin from maize grain in Iraq

**O. N. Al-Hadethy* , K. W. Abadi** and M. A. Farhan****
*** Dept. of Plant Protection - College of Agriculture / Unvi. of Baghdad**
**** Dept. of Plant Protection - College of Agriculture / Unvi. of Anbar**

## Abstract

The study was conducted at college of Agriculture University of Baghdad . Maize samples were collected frome different provinees, Babylon, Baghdad, Salah aldin, and Wast. Seeds were sterilized and cultureal on PDA and incubated on 25 ± 2C.

This aim of the study detect and diagnose Fusarium isolates which product T2-toxin in maize grain. Results idicated that *Fusarium moniliforme* was the most isolates fungi that found in the isolate test was 75% and 78.3% for *Fusarium spp*. The isolations were inoculated in Starch-Czapeks Liquid media for 21 day.The Thin layer chromatography (TLC) test showed three isolated of *F. moniliforme* produce T2-toxin at rates between 50 and 184 mg/l.

## المقدمة

تشكل الذرة الصفراء عنصرا أساسيا في علائق الحيوانات الزراعية حيث يتعرض للأصابة بالعديد من الفطريات والتي غالبا ما تبدأ في الحقل وتتطور في المخزن . ومما يساعد على تطورها ظروف الخزن السيئة والسائده في العراق، الكثير من هذه الفطريات تنتج مركبات سامه جدا للأنسان والحيوان منها سموم الأفلاتوكسينات. وعلى الرغم من اكتشاف السموم ١٩٦٠ الا أن حالات التسمم الكثيره للانسان وحيواناته المتسببه عن الفطريات قد سجلت قبل هذا التاريخ بكثير فقد سجل مرض Alimentry Toxic Aleukia (ATA) في الأتحاد السوفيتي قبل عام ١٩٠٠ في مقاطعه Oreburg أدى الى وفاة ١٠% من سكان المقاطعه نتيجه تناول غذاء ملوث بالفطر Fusarium ، ظهرت الأعراض بشكل نزف دموي وتقرحات واختزال كريات الدم البيضاء وتحطم نخاع العظم وتقرحات جلديه(١). ويعد سم T2-Toxin من أخطرها ، يعود السم الى مجموعة Type A- Trichothecene وهي مجموعة خاليه من مجاميع الكاربونيل (2).

يفرز السم من قبل العديد من الفطريات ومنها: Trichoderma ، Trichothecium ، Fusarium ، Myrthecium، Phomapsis ، Cephalosporium ، Stachybotrus ، Acremonium ، Cylindrocarpon (3). كما يفرزمن قبل عدة أنواع تابعه للجنس Fusarium منها *F. sporotrichioides* ، *F.poae* ، *F.graminearum* ، *F.culmorum* ، *F.moniliforme* (١ ، ٤ ، ٥). في الأتحاد السوفيتي سجلت حالات تسمم على الخيول في عام 1930 نتيجة تناولها علفا ملوثا بالفطر *Stachybotrys alternans* تمثلت الاعراض بالحساسيه وتبييج الشفاه والأنف والحنجره والجيوب الأنفيه مع ظهور تقرحات في الجهاز الهضمي . وتعد الترايكوثسينات واحده من أكثر السموم المفرزه إذ تشمل 75 مشتقا (6). ووجد في بولندا أن 99% من عينات الشوفان المفحوصه كانت ملوثه بـــ diacetoxyscipenol ، HT2-Toxin، T2-toxin بتراكيز 111,703,47مايكرو غرام/كغم على التوالي (7). أشار (11) الى تلوث الحبوب المخزونه المأخوذه من المخازن بسموم الـ T-2 وDON وNIV وHT2_Toxin وFusarenon_X .

في دراسه أجريت في العراق وجد (8) أن نسبة وجود الفطر *Fusarium spp* في حبوب الذرة الصفراء كانت 17.8% لـ11 محافظة من العراق وكان أكثرها تكرارا النوع *F. moniliforme* في محافظة بغداد بنسبة 82.9% . ويعد الفطر *F. moniliforme* من أكثر الفطريات تواجد في محصول الذره الصفراء ويصبح وبائيا في الحقل ويستمر الى المخزن مسببا تلفا للمحصول فضلا على أفرازه السموم (٩). وذكر (10) أن نسبة الأصابه بالفطر *F.moniliforme* وصلت الى 100 % في بعض عينات حبوب الذره الصفراء.

## المواد وطرائق العمل

**١- جمع العينات**

جمعت عينات الذره الصفراء من أربع محافظات : بغداد و بابل و صلاح الدين و واسط بواقع ثلاث عينات من كل محافظه بطريقة عشوائية للعروه الخريفيه من أكوام الذره الصفراء بمعدل ٥ كغم/عينة حيث درس مدى تلوث العينات وأصابتها بالفطريات . اخذ من كل عينه ٣٠٠ بذره بصوره عشوائيه لغرض عزل الفطريات المرافقة لها.

**٢- عزل الفطريات**

عقمت 200 بذره من كل عينه سطحيا بهايبوكلورات الصوديوم (1 % كلور حر) لمدة 3 دقائق. غسلت البذور بالماء المعقم لأزالة أثار الكلورثم جففت بورق ترشيح معقم وزرعت على وسط مستخلص البطاطا والسكروز PSA بواقع 10 بذور/طبق. حضنت الاطباق في درجة 25م± 2 لمدة خمسة أيام نقيت الفطريات المرافقه للبذور وحسبت نسبة تكرار كل فطر بعد تصنيفها الى مستوى الجنس بأعتماد المفاتيح التصنيفيه المتخصصه .

**٣ - أختبار قابلية عزلات الفطر Fusariumعلى أنتاج السم T2**

أختبرت قابلية 33 عزله للفطر Fusarium على أنتاجها للسم T2 . حيث أعطي لكل منها رقم أفتراضي ونميت على الوسط الزرعي Starch_Czapeks Liquid media المتكون من ٢غم NaNO3 و٠,٥غم MgSO4.7H2O و١غم K2HPO4 و٠,٥ مل Hcl و٠,١غم FeSO4 و ٢٥غم Starch . ذوبت المكونات في 1 لتر ماء مقطروضبط الأس الهيدروجيني على 6.5 (12) . وزع الوسط على دوارق زجاجيه سعة 300 مل بواقع 50 مل/دورق ،عقمت بالمؤصده على درجة 121 م وضغط 1.5 بار/سم٢ لمدة 20 دقيقه . لقح كل دورق بقرص قطره 1 سم من المستعمره الفطريه المنماه على وسط PSA بعمر أسبوع بواقع دورقين لكل عزله وحضنت في حاضنة على درجة 27 م لمدة أسبوع ثم حضنت على درجة 9 م لمدة 21 يوما.

**٤- أستخلاص وتنقيه السمT-2 من الوسط السائل**

أستخلص السم T-2 من المزارع الفطريه بأتباع طريقه Jones (1972) وعلى النحو الاتي :

خلطت مكونات الدورقين لكل عزله وأخذ 50 مل من راشح المزرعه وأضيف اليه 100 مل كلوروفوم في قمع فصل سعة 500 مل ،عرض الخليط للرج لمدة 3 دقائق مع طرد الغازات وأخذت الطبقه السفليه ،أضيف 50 مل كلوروفوم الى المتبقي في قمع الفصل ورجت المكونات مع طرد الغازات كلما دعت الحاجه وجمعت الطبقه السفليه ،مررت الطبقتان المجموعتان في (١و٢)عبر طبقة من كبريتات الصوديوم اللامائيه ٥غم على ورق ترشيح No.4 في قمع زجاجي ،جفف الراشح في جهاز المبخر الدوار وأذيب الراسب في 5 مل كلوروفوم، وكررت العمليه مرتين وجمعت العينه في قناني زجاجيه سعه 20 مل ثم جففت العينات في حمام مائي على درجة 40 م ثم غلفت القناني بورق المنيوم وغلقت بأحكام وحفظت في المجمده لحين أجراء الكشف.

**٥- طرائق الكشف عن السم T-2 :-**

**أختبار الصفائح الكروموتكرافي الرقيق TLC:**

أستعملت صفائح TLC المجهزه من شركة Whatman مطليه بهلام السليكا G٦٠ قياس 20 × 20 سم . تم الحصول على الماده القياسيه للسم T2 (Standard) المنتج من قبل شركة Chem.Fabrik .Fluka, CII.9470.Buch Switzerland من الدكتور أياد عبد الواحد الهيتي ، قسم وقاية النبات – كلية الزراعه /جامعة بغداد.

أذيب 5 ملغم من السم في 10 مل كلوروفوم للحصول على تركيز 500ملغم/لتر وعملت منه التخافيف للوصول الى تركيز 100 ملغم/لتر والذي أستعمل في أجراء الكشف . أستعملت محقنه دقيقه microsyring في عملية التبقيع (spotting) على صفائح الـ TLC بواقع 5 مايكروليتر للماده القياسيه و10 مايكروليتر للنماذج المراد اختبارها وبمسافة 2 سم بين بقعه وأخرى . رحلت النماذج بوضع الصفائح في نظام الفصل المتكون من (3:97) كلوروفوم : ميثانول في حاويه زجاجيه بحيث يكون محلول نظام الفصل تحت خط التبقيع (spotting). رفعت الصفيحه بعد وصول محلول الفصل الى مسافة 2 سم من نهايتها ورشت بمحلول الأظهار المتكون من 5 مل H2SO4 ، 0.5 مل P-anisaldehyde ، 10 مل Acetic acid glycol ، 400 مل Methanol برشاش دقيق . وضعت الصفائح في فرن كهربائي على درجة 110 م لمدة 15-20 دقيقه وفحصت تحت الأشعه فوق البنفسجيه حيث تظهر البقع بتألق أخضر فاتح مصفر (Greenish) (13).

## النتائج والمناقشة

**الفطريات المرافقه لحبوب الذره الصفراء:**

بينت نتائج عزل وتشخيص الفطريات من عينات ذره صفراء جمعت من مواقع مختلفه من محافظات القطر بابل، واسط، صلاح الدين، بغداد وجود الأنواع الأتيه من الفطريات: *Fusarium. Spp* ، *Alternaria alternate* ، *Aspergillus spp* ، *Cylindrocarpon spp* ، *Drechslera spp* ، *Mucor spp* ، *Rhizopus spp* ، *Trichaderma spp* ، *Penicillium spp* مرافقه لحبوب الذره الصفراء ، كان أكثرها تكرارا الأنوع التابعه للجنس Fusarium بنسبه تواجد ٧٨,٣%، وأن أكثر الأنواع التابعه لهذا الجنس تكرارا هو النوع *F.moniliforme* بنسبه بلغت٧٥ %جدول (١) . وقد جاءت الأنواع *A.flavus* و *Cylindrocarpon spp* و *Drechslera. spp* و *Penicillium* spp بالدرجه الثانيه من حيث تواجدها بالنسب 13.8,12.4,14.7,16.3 %على التوالي . أعقبها الأنواع *Alternaria alternate* ، *A.niger* ، *Aspergillus spp* ، *Mucor spp* ، *Rhizopus ssp* ، *Trichoderma* spp بنسبه 0.5,2.2,0.5,1.5,1.1,5 % على التوالي وتتفق هذه النتائج مع نتائج العديد من الدراسات التي أجريت في العراق والتي أشارت الى سياده الفطر *F. moniliforme* على الفطريات المرافقه لحبوب الذره الصفراء (8، 10، 14). وربما يعود هذا الى تزامن سقوط الأمطار مع موعد الحصاد في العروه الخريفيه مما أدى الى زياده محتوى الرطوبي للحبوب بالاضافة الى ظروف الخزن السيئه التي شجعت نمو الفطر أثناء الخزن، فضلا على الأصابات الحشريه والاضرار الميكانيكيه الناجمه عن عمليات الحصاد والنقل هيأت منافذ لدخول وأستيطان الفطر في الحبوب، أذ أن الفطرFusarium من الفطريات التي تصيب الذره الصفراء في الحقل أو أثناء الحصاد وتتطور الأصابه في المخزن لملائمه الظروف التي سبقت الأشاره اليها أعلاه.

جدول (1) الفطريات المرافقه لحبوب الذره الصفراء من عينات مأخوذه من مواقع مختلفه من بغداد وواسط وبابل وصلاح الدين

| اسم الفطر | رقم العينه التي عزل منها | أعلى نسبة تواجد | المعدل |
|---|---|---|---|
| *Fusarium moniliforme* | 12-1 | 84 | 75 |
| *Fusarium spp* | 11-9,6-1 | 12 | 3.3 |
| *Aspergillus flavus* | 12-7,5-1 | 55 | 25.1 |
| *A.niger* | 12,10,7,5,3 | 5 | 3 |
| *Aspergillus .spp* | 12,9,5,1 | 2 | 0.5 |
| *Cylindrocarpon spp* | 12-10,8-7,4,1 | 45 | 20 |
| *Drechslera spp* | 12-9,7-4,2,1 | 42 | 14.3 |
| *Alternaria alternata* | 11,8-6 | 17 | 4.1 |
| *Penecillium spp* | 12-1 | 47 | 13.4 |
| *Mucar spp* | 12 | 2 | 0.3 |
| *Rhizopus spp* | 6,1 | 7 | 1.1 |
| *Trichoderma spp* | 12,9,1 | 3 | 0.2 |

بغداد 10,5,1 - واسط12,6,3 - صلاح الدين9,7,4 - بابل 11,8,2

**أختبار قابلية عزلات الفطر Fusarium على انتاج السم T-2:**

بينت نتائج التحري عن مقدرة العزلات المختلفه للفطر Fusarium على أنتاج السم T-2 في الوسط الزرعي السائل Starch Czapeks Media ، تباين هذه العزلات في أنتاجيا للسم ،كما أظهرته نتائج الأختبار على طبقة الكروموتكرافي الرقيق TLC لـ 33 عزله من الفطر. وأستنادا الى حجم البقعه وشدة تألقها (بظهور اللون الأخضر الفاتح المصفر Greenish) وبمقارنتها مع عينات السم القياسيه تم أختيار أكثرها أفرازا للسم . وقد حددت ثلاثة عزلات من الفطر *F. moniliform* بعد تصنيفها الى النوع بأعتماد المفاتيح التصنيفية (Barnett وHunter ١٩٧٢) قابليتها الى أنتاج السم T2 بتراكيز تراوحت بين 50 و184 ملغم/كغم.

جدول (٢) عزلات الفطر Fusarium moniliforme الفارزة للسم T2-toxin المعزولة من الذرة الصفراء

| رقم العزلة | المحافظة | تركيز السم ملغم/لتر |
|---|---|---|
| ١ | بغداد | - |
| ٢ | بغداد | - |
| ٣ | بغداد | ٥٠ |
| ٤ | بغداد | - |
| ٥ | بغداد | - |
| ٦ | بغداد | - |
| ٧ | بغداد | - |
| ٨ | بغداد | - |
| ٩ | بغداد | - |
| ١٠ | بابل | - |
| ١١ | بابل | - |
| ١٢ | بابل | - |
| ١٣ | بابل | - |
| ١٤ | بابل | - |
| ١٥ | بابل | - |
| ١٦ | بابل | - |
| ١٧ | بابل | - |
| ١٨ | واسط | - |
| ١٩ | واسط | ١٨٤ |
| ٢٠ | واسط | - |
| ٢١ | واسط | - |
| ٢٢ | واسط | - |
| ٢٣ | واسط | - |
| ٢٤ | واسط | - |
| ٢٥ | واسط | - |
| ٢٦ | صلاح الدين | - |
| ٢٧ | صلاح الدين | ٦٠ |
| ٢٨ | صلاح الدين | - |
| ٢٩ | صلاح الدين | - |
| ٣٠ | صلاح الدين | - |
| ٣١ | صلاح الدين | - |
| ٣٢ | صلاح الدين | - |
| ٣٣ | صلاح الدين | |

1- European Mycotoxin Awareness Network.Fact Sheet8 Trichothecene. www. emanleath erheadfood. com.

2- Tamm, C. and M. Tori.1984. Mycotoxin, production, isolation, separation and purification, V.Betina (Ed). Elsevier. Sci. Publ. Amsterdam, Netherlands.

3- Sahay, R. 2003. Molds: Trichothecene mycotoxins A challenge for indoor environmental quality. Environmental diagnosticslaboratory. www. pureaircontral .com// abserve/ index.html.

4- Marasa, W, F, O. 1985. *Fusarium moniliform*: A mycotoxicological miasma. national research institute for nutritional diseases.a collection of invited papers presented at the sixth international 22-25 July 1985.

5- Vesnoder, R. F; Ellis. J, J. and Rahwedder, W, K. 1981. Swine refusal facters elaborated by Fusarium strain and identified as trichothecene. Appl. Environ .Microbiol.41: 323-324.

6- Shephord. M, J and J, Gilbert. 1986. Fusarium mycotoxins in cereals and other stored products. International. Biometeric. Supp.22: 61-69.

7- Perkowski J. and Basinski T. 2002. Natural contamination of oat with groups trichothecene mycotoxins in Poland. Food Addit Contam. 19 (5): 478-482.

٨- البيتي، أياد عبد الواحد. ١٩٧٧. الفطريات التي تهاجم حاصل الذره الصفراء في المخازن تشخيصها، تأثيراتها ،مقاومتها . رساله ماجستير .قسم وقاية النبات- كلية الزراعة- جامعة بغداد.

9- Marasas, W, F. O; Paul, E, and Nelsonand T, T, A. 1984. Toxigenic Fusarium species identity and mycotoxicology. The Pennsylvania State Univ Press. Univ Park and London. PP 328.

١٠-شهاب ، أحمد عباس . ١٩٩٨ . تلوث حاصل الذره الصفراء بالسم فيومنيزين B1 المنتج من قبل الفطر *Fusarium moniliforme* رساله ماجستير . قسم وقاية النبات-كلية الزراعة-جامعة بغداد.

11-Schollenberger M; Jara HT; Suchy S; Drochner W, and Muller HM. 2002. Fusarium toxins in wheat flour collected in an area in southwest Germany. Int J. Food. Microbiol. 72 (1-2): 85-89.

١٢-هاشم ،عبد الكريم جاسم. ١٩٨٩. دراسات عن سموم الترايكوثسين وكيمياء المناعه للسم الفطري T-2 . رسالة ماجستير .قسم علوم الحياة - كلية العلوم - جامعة بغداد.

13-Grabarcewicz_Szczesna, P. Golinski, J; Chlkowski and Samoiko. 1985. Mycotoxins cereal grain. PartXI simple multidetection procedure for determination of 11 mycotoxins in cereals. Dic Nahrung. 26(3): 229-240.

١٤-مغلس ،محمود عبد القادر .٢٠٠٤.الكشف عن الفيومنزين B1 وامكانية ازالة سميته في حبوب الذره الصفراء وتأثيراته الحيويه في الطيور الداجنة .رسالة دكتوراه. قسم وقاية النبات- كلية الزراعه- جامعة بغداد.

View publication stats