جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

التحريّ عَن السُّمُوْمِ الفِطْرِيَّةِ في عَصِيْرِ الزَّبِيْبِ المَحَلِّيّ

مي أَكرم كرمو خلف الخالتي

رسالة ماجستير

علوم الحياة/علم النبات

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور مها أكرم محمد علي الرجبو

1446هـ 2024م

الخلاصة:

أُجريت الدراسة في مختبرات قسم علوم الحياة كلية العلوم / جامعة الموصل / خلال المُدَّة من شهر كانون الاول2023 إلى شهر نيسان 2024 وكان الهدف منها التحري عن **الفطريات** وسمومها الملوثة لعصير الزبيب في مدينة الموصل تضمنت الدراسة جمع (40) عينة من الزبيب من جانبي مدينة الموصل(الأيمن والأيسر) وضواحيها؛ إذ شملت منطقة بعشيقة, الحمدانيَّة, برطلة, الشيخان, عقرة ودهوك ، باستخدام الأوساط الزرعية Potato Dextrose Agar و Sabouraud Sucrose Agar. أخذت معلومات كل عينة من حيث مصدر الزبيب وتاريخ صنع العصير والموقع، وشخصت العزلات جميعاً اعتمادًا على صفاتها المظهرية والكيموحيوية.

تم الحصول على 121عزلة فطريَّة مختلفة الأجناس بنسبة تلوث (100%)؛ إذ أعطت . *Candida spp* و *Apergillus spp* أعلى نسبة(27.3%)على التوالي، بينما بلغت نسبة التلوث لعصير الزبيب الطازج بالفطر *Wickerhamomyces anomalus* (12.39%) وكان التلوث بالخميرة *Saccharomyces cervisiae* بنسبة (11.57%) وتلوث بنسبة (8.26%) للخميرة. *Rhotodorula sp* وبنسبة (3.3%) للفطر *Penicillium sp*. و *Exophiala dermatitidis* إذ كانت أربع عزلات فطريَّة لكل منهما، يليها الأنواع الفطريَّة الآتية:*Geotrichum sp.* و *Fuzariums sp.* و *Epidermophytes floccosum* بنسبة تلوث بلغت (0.82%)، أمَّا الفطر *Cladosporium oxysporum* فكانت نسبة التلوث (2.47%) والفطر *Trichophyton mentagrophyton* بنسبة تلوث (1.65%) .لوحظ أنَّ 26 عينة كانت ملوثة بالفطريات الخيطية والخمائر بنسبة 65% والفطرِ *A.niger* أكثر الفطريات انتشارًا وتلوثًا للعينات، سجلت الخميرة *Candida oleophila* MAYKAIY وبرقم تعريفي PP961930 المعزولة من عينة R15 والمأخوذة من مدينة الموصل الجانب الأيمن وأيضًا لأول مرة كسلالة جديدة في بنك الجينات العالمي أيضًا سجل الفطر *Wickerhamomyces anomalus* MKARWAN المعزول من عينة عصير الزبيب R33 المأخوذ من الموصل الجانب الأيسر برقم تعريفي PP961931. أُنشئت شجرة تطورية للسلالتين المحلّيتين *Candida oleophila* MAYKAIY و *Wickerhamomyces anomalus* MKARWAN ومقارنتها مع أقرانهم في موقع الـ NCBI وأظهرت النتائج أنَّ السلالتين لها علاقة تطورية متقاربة مع السلالات العالمية في موقع NCBI. كُشِف عن السم الفطري Aflatoxin في (28) عينة و Ochratoxin A(OTA) في (6) عينة من أصل (14) عينة وكُشِف عن وجود Cyclopiazonic acid(CPA)في (25) عينة من أصل (28)عينة وكذلك وجود القلويدات الأُخرى في (4) عينات من أصل (28) عينة باستخدام الطريقة المحورة لكاشف Ehrlich لعصير الزبيب الطازج وبشكل عشوائي من جانبي مدينة الموصل الأيمن والأيسر وضواحيها باستخدام

فكانت جميع العينات ملوثة (ELISA) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay بـAflatoxin وكانت من ضمن الحدود المسموح بها دوليًا باستثناء عينتان فقطR31 وR37 كانت الحد هو المسموح به وبتركيز 0.002 نانوغرام / لتر هناك تباين في التلوث بـ Ochratoxin A (OTA)؛ إذ ظهرت 7 عينات حاوية على سم OTA فكانت العينة R20 احتوت على أَعلى نسبة تلوث بتركيز 1.088 نانوغرام / مل المعزولة من مدينة الموصل الجانب الأَيسر ووجد تباين في تلوث العينات بـ Cyclopiazonic acid (CPA) وكان أَعلى تركيز في العينات R2 وR3 وR5 وR7 وR8 وR9 وR12 وR13 وR15 وR19 وR20 وR34 وR35 وR37 وR38 واقل تركيز في العينات R1 وR6 وR17 وR22 وR23 و R39 وR 40. تضمنت الدراسة أَيضًا تقيم الفعاليه التثبيطية للمستخلص المائي والكحولي لأَوراق نبات النعناع بطريقة الأَقراص تجاه *C.albicans* و *C. krusei* و *C. parapsilosis* و *C.tropical* و *Rhotodorula mucilaginosa* بالتراكي5% و 10% و20% و30% ملغم / مل المستخلص المائي أَعطى أَعلى نسبة تثبيط بقطر 12.67 ملم عند تركيز 30% تجاه *C.parapsilosis* أَمَّا المستخلص الكحولي فقد أَعطى أَعلى نسبة تثبيط بقطر18.67عند تركيز 30%. وتم تثبيط الفطر *Aspergillus niger* بنسبة 100% عن التركيز 20% و30 % من المستخلص المائي و الكحولي لأَوراق نبات النعناع فكان المستخلصان ذات تثبيط فعال لنمو الفطر. وجد أَنَّ المضاد الفطري Amphotricin B لديه أَعلى نسبة تثبيط بقطر 16 ملم تجاه خميرة *C.tropicalis* في حين لم يظهر أَي تثبيط تجاه الخميرة *C. albicans*، بينما كانت أَعلى نسبة تثبيط بقطر16 mm للمضاد الفطري Griseofulvin تجاه خميرة *C.krusei*؛ إذ لم يظهر فعاليته التثبيطيه تجاه خميرة *C.albicans* أَمَّا المضاد الفطري Nystatin فقد أَظهر أَعلى نسبة تثبيط بقطر 13.33 ملم ضد خميرة *C.parapsilosis* و بقطر أَقل بنسبة 9.3 ملم تجاه خميرة *Rhotodorula mucilaginosa* فقد أَظهرت المضادات الفطريَّة نسبة تثبيط أَقل من المستخلص الكحولي .

Abstract

The current study, which was conducted in Nineveh Governorate, included collecting (40) random raisin samples from both sides of Mosul city (right and left) and its suburbs, including the areas of Bashiqa, Al-Hamdaniya, Bartella, Al-Shekhan, Aqra and Dohuk for a period from December 2023 to April 2024. The samples were tested using Potato Dextrose Agar and Sabouraud Sucrose Agar culture media in order to determine the extent of fungal and yeast contamination Each sample was given specifics about its origin, the time and place of the juice-making process, and the morphological and biochemical traits of the isolates were used to identify them all. 121 fungal isolates of different genera were obtained with a contamination rate of 100% distributed as follows: The highest contamination rate for fungal species was *Candida spp*. 33/121(27.3%)and *Apergillus spp* 33/121(%27.3) respectively, while the contamination rate of fresh raisin juice with the *Wickerhamomyces anomalus* 15/121 (12.39%) and *Saccharomyces cervisiae*14/121(11.57%) and *Rhotodorula spp*.12/121(8.26%) and (3.3%) for each of *Penicillium ssp*. and *Exophiala dermatitidis*, there were four fungal isolates for each of them, followed by the following fungal species: *Geotrichum* spp., *Fusarium spp*. and *Epidermophytes. floccosum* with a contamination rate of (0.82%) respectively, while the contamination rate with fungi *Cladosporium oxysporum*4/121 (2.47%) and *Trichophyto mentagrophyton 2*/121(1.65%). The results of the study showed that (26) samples of raisin juice were heavily contaminated with filamentous fungi and yeasts at a rate of (65%), while the other samples were contaminated with fungi at a low rate, and *A. niger* was the most widespread and contaminated fungus. *Candida oleophila* isolated from sample R15 taken from Mosul city was registered for the first time as a new strain in the global gene bank at the National Center for Biotechnology Information (NCBI), where it was registered under the name *Candida oleophila* MAYKAIY and with the identification number PP961930. *Wickerhamomyces anomalus* isolated from raisin juice

sample R33 was also registered as a new strain in the global gene bank under the name *Wickerhamomyces anomalus* MKARWAN with the identification number PP961931. An evolutionary tree was constructed between the two local strains *Candida oleophila* MAYKAIY with ID number PP961930 and *Wickerhamomyces anomalus* MKARWAN with ID number PP961931 and compared with other strains *Candida oleophila* strain T-B37TC and *Wickerhamomyces anomalus* strain SSL32 on the NCBI website. The results showed that the two strains have a 99% close evolutionary relationship with the global strains on the NCBI website. The study also included the detection of Aflatoxin in (28) samples and the mycotoxin Ochratoxin A in (14) samples of fresh raisin juice randomly from the right and left sides of Mosul city and its suburbs using the Enzyme-Linked Immunosorbent (ELISA) Assay technique. The results showed that all samples were contaminated with Aflatoxin and exceeded the maximum internationally permissible limit, with the exception of only two samples R31 and R37, which were within the permissible limit at a concentration of 0.002 ng/ml. The percentage of contamination with Ochratoxin A varied, as 7 samples appeared to contain OTA and sample 20R contained the highest percentage of contamination at a concentration of 1.088 ng/ml isolated from the left side of Mosul city. The possibility of detecting the production of the mycotoxin Cyclopiazonic acid (CPA) was also investigated in 28 samples of fresh raisin juice using the modified Ehrlich reagent method based on the color and speed of the appearance of the violet halo. The results of the study showed that there were contaminated samples that secreted CPA and there were samples with a low percentage of contamination, as the highest concentration was in samples R2, R3, R5, R7, R8, R9, R12, R13, R15, R19, R20, R34, R35, R37, and R38, and the lowest concentration was in samples R1, R6, R17, R22, R23, R39, and R40. The study also included evaluating the inhibitory activity of the aqueous and alcoholic extracts of mint leaves against selected fungi using the disc diffusion method, namely *C.albicans, C.krusei*, *C.parapsilosis, C.tropical*

and *Rhotodorula* yeast at the following concentrations: 5%, 10%, 20% and 30% mg/ml. The aqueous extract inhibited the highest inhibition rate with a diameter of 11.67 mm at a concentration of 10% against *C.albican*s yeast, while the alcoholic extract inhibited the highest rate with a diameter of 13.33 mm at a concentration of 30%. The study also included testing the inhibitory effect of the aqueous and alcoholic extract against *Aspergillus niger* using the following concentrations: 5%, 20% and 30%. The results showed complete inhibition of fungal growth by 100% for the aqueous and alcoholic extract at a concentration of 20% and 30%. The aqueous and alcoholic extract was very effective against A.niger. The study also conducted the effect of antibiotics against fungi, including the following yeasts: *C.albicans, C.krusei, C.tropicalis, C.parapsilosis* and *Rhotodorula.* The results showed that the antibiotic Amphotricin B had the highest inhibition rate with a diameter of 16 mm against *C.tropicalis* yeast, while it showed a lower inhibition rate with a diameter of (0 mm) against C.albican yeast. As for th]e antibiotic Nystatin, it showed the highest inhibition rate with a diameter of 13.33 against *C.parapsilosis* yeast.

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and
Scientific Research
Mosul University / College of Science
Department of Biology

Investigation of mycotoxins in local Raisin juice

This Thesis submitted by

May Akram Krmo Khalaf Al-khalati

MSc. Thesis

Biology / Botany

Supervised by

Asst. Prof

Dr.Maha Akram Mohammad Ali Al_Rejaboo

1446 A.H. **2024 A.D.**