دراسة التأثيرات السمية للفطر *Aspergillus flavus* على بعض المعايير الكيموحيوية لدى إناث الجرذ الأبيض وامكانية السيطرة الحيوية في الحد من تلك التأثيرات

أ.د. سامي عبد الرضا الجميلي
كلية العلوم / جامعة الكوفة

م.م. بيداء عبود حسن الجنابي
كلية العلوم / جامعة الكوفة

الخلاصة :
أجري البحث في مختبرات قسم علوم الحياة – كلية العلوم والتي تناولت دراسة التأثيرات السمية لعزلتي من الفطر *Aspergillus flavus* أحداهما منتجة للافلاتوكسينات والاخرى غيرمنتجة على بعض المعايير الكيموحيوية لدى إناث الجرذ الأبيض ، فضلاً عن تقويم كفاءة المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus subtilis* في حماية الأعلاف الحيوانية من الأصابة بالفطر أعلاه . أثبتت نتائج هذه الدراسة أن طريقة Saito و Machida (1999) كانت كفوءة في تحديد عزلات الفطر *A. flavus* حيث تم الحصول على (6) عزلات منتجة للافلاتوكسينات من المجموع الكلي للعزلات المشخصة (16 عزلة) والتي كان مصدرها (11 عزلة) من فستق الحقل و (5) عزلات مصدرها الذرة الصفراء ، كما أثبتت الدراسة كفاءة المستحضر الحيوي لبكتريا *B. subtilis* في تثبيط نموعزلتي الفطر وبنسبة 100 % عند إستعماله بتركيز (1 غم / لتر) . كما حدث أنخفاض معنوي في تركيز الهرمون المحفز للجسم الأصفر LH و الهرمون المحفز للجريبات FSH إذ بلغت (4.1 و 4.8) نانوغرام / مل على التوالي أما بالنسبة للعزلة غيرالمنتجة للافلاتوكسينات فكانت تراكيز الهرموني (9.3 و9) نانوغرام / مل على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة البالغة (14.5 و 13) نانوغرام / مل على التوالي كما حدث أرتفاع معنوي في مستوى إنزيمي الكبد ALT وAST الى (22.3 و 14.4) وحدة دولية / لتر على التوالي ، أما بالنسبة لعزلة الفطرغيرالمنتجة للافلاتوكسينات فكان مستوى الإنزيمين (10.4 و 10.1) وحدة دولية / لتر على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة البالغة (8.3 و 8.2) وحدة دولية / لتر على التوالي . من جانب أخر جاءت نتائج أضافة المستحضر الحيوي الى العليقة الحيوانية إيجابية على الحيوانات المعاملة بها متمثلة بأرتفاع تراكيز الهرمونين LH وFSH في مصل دم الحيوانات الى (9.8 و 9.5) نانوغرام / مل على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة والبالغة (6.7 و 7) نانوغرام / مل على التوالي، وأنخفض مستوى الإنزيمين ALT و AST الى (15.1 و 11) وحدة دولية / لتر على التوالي .

المقدمة : يعد الفطر *A. flavus* احد أكثر الفطريات أنتشارا في الطبيعة إذ توجد أبواغ الفطر في التربة والهواء ، وينمو الفطر على أوساط غذائية مختلفة و يستطيع النمو على البقايا النباتية والحيوانية الرطبة ، فضلاً عن قدرته في النمو على كثير من الفواكه والخضار والحبوب في أثناء تسويقها وخزنها مسببًا لها خفضًا في قيمتها الاقتصادية والأخطر منِ ذلك هو قدرة هذا الفطر بالاضافة الى فطريات اخرى على إنتاج مركبات ايضية ثانوية تسمى بالافلاتوكسينات (Aflatoxins) . وشخص لحد الأن اكثر من (17) مركبًا سامًا ينتمي لهذه المجموعة من السموم الفطرية وأبرزها الافلاتوكسين (B1 وB2 وG1 وG2) ، إن تلوث الأغذية والاعلاف الحيوانية بهذه المركبات المولدة للسرطان Carcinogenic قد يتسبب في إحداث سرطانات مختلفة لدى الانسان والحيوان ولاسيما سرطان الكبد بالاضافة الى امراض اخرى مثل الالتهاب الرئوي (Pulmonar aspergillosis) ، و التهاب السحايا (Meningitis) وغيرها (Duthie و Denning ، 1995 ؛ Gillespie وO′malley ، 2000) .

طرائق العمل :

1 -عزل الفطر *A. flavus* من بذور فستق الحقل والذرة الصفراء وتشخيصه: تم جلب عينات من الاسواق المحلية لحاصل فستق الحقل والذرة الصفراء ، وعقمت البذور للمحصولين سطحياً بمحلول هايبوكلوريت الصوديوم وبتركيز (2%) ولمدة خمس دقائق ، وغسلت بعدها بماء معقم ثم زرعت في اطباق بتري معقمة وحاوية على أغار البطاطا والدكستروز (PDA) مع اضافة 40 ملغم / لتر من الامبيسيلين ، وذلك لمنع نمو البكتريا ، حيث وضعت خمس بذورفي كل طبق اربع محيطية والخامسة في منتصف الطبق . حضنت الاطباق بدرجة حرارة (25 ± 2) مْ ولمدة سبعة ايام . بعد انتهاء مدة التحضين تم تنقية عزلات الفطر *A. flavus* ؛ وذلك بنقل قرص من كل مستعمرة وزرعه في طبق (PDA) جديد ، وكررت العملية مرات عدة ، شخصت العزلة اعتماداً على الصفات التصنيفية التي وضعها كل من Raper وFennell (1965) .

2- الكشف عن قدرة عزلات الفطر *A. flavus* على انتاج الافلاتوكسينات : تم الكشف والتمييز بين العزلات السامة والعزلات غير السامة للفطر ، وذلك وفقاً للطريقة التي ذكرها (Saito و Machida ، 1999) باستخدام وسط أجار مستخلص جوز الهند (Coconut Extract (CEA وبقطر(Agar ، ثم صب الوسط في اطباق بتري وزرعت اقراص من عزلات الفطر *A. flavus* 0.5) ملم وبمعدل خمسة اطباق لكل عزلة ثم حضنت الاطباق بالحاضنة بدرجة (25 ±2) مْ ولمدة اسبوع . وبعدها جرى الكشف عن قدرة العزلات النامية من الفطر *A. flavus* على إنتاج الافلاتوكسينات من خلال استخدام محلول الامونيا وبتركيز 20 % إذ وضعت اوراق ترشيح مبللة بالامونيا في غطاء الطبق الحاوي على الفطر النامي على وسط (CEA) ثم حضنت الاطباق بصورة مقلوبة ولمدة (7- 14) يوم وبدرجة حرارة (25 ± 2) مْ . فحدوث تغيير في لون قواعد المستعمرة من اللون الشفاف الى اللون الأحمر يدل على ان العزلة النامية قادرة على إنتاج الافلاتوكسينات وان درجة اللون الأحمر تدل على كفاءة العزلة بإنتاج هذه السموم .

3- اختبار كفاءة المستحضر الحيوي لبكتريا *B. subtilis* في تثبيط النمو الشعاعي لعزلتي الفطر *A. flavus* المنتجة وغيرالمنتجة للافلاتوكسينات : حضر الوسط الزرعي (PDA) ووزع في ثلاثة دوارق سعة 500 مل وبمعدل 250 مل لكل دورق ، عقمت الدوارق في جهازالمؤصدة (Autoclave) ثم تركت قليلاً لتبرد ، وبعدها اضيف الى الدورق الاول والثاني المستحضر الحيوي لبكتريا *B. subtilis* وبتركيز 0.5 و 1 غم / لتر على التوالي ، وترك الدورق الثالث من دون أضافة للمقارنة ، ثم صبت محتويات الدوارق الثلاثة في اطباق بتري بواقع 10 طبق (لكل تركيز) . وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 30 ± 2 مْ ولمدة 24 ساعة (Leben واخرون ، 1987) . لقحت نصف عدد الاطباق الحاوية على المستحضر الحيوي من كل تركيز بعزلة الفطر *A. flavus* المنتجة لسموم الافلاتوكسين ، والنصف الثاني بعزلة الفطر *A. flavus* غير المنتجة للافلاتوكسين وذلك بوضع قرص واحد قطره 5 ملم ماخوذ من طرف مستعمرة نامية بعمر أسبوع واحد لكلتا العزلتين في منتصف كل طبق ، حضنت الاطباق بدرجة حرارة (25 ±2) مْ ولمدة 7 ايام . بعدها تم حساب مقدار التثبيط للنموالشعاعي لكل عزلة من عزلات الفطر *A. flavus* ؛ وذلك باخذ معدل قطرين متعامدين وبتطبيق معادلة Abbott الواردة في كتاب المبيدات (شعبان و الملاح ، 1993) .

4 - تأثير تغذية إناث الجرذ الابيض على علائق مصابة بلقاح عزلتي الفطر *A. flavus* المنتجة وغيرالمنتجة للافلاتوكسينات على المعايير الكيموحيوية : - تم تهيئة (12) انثى من الجرذ الأبيض ، وبأوزان تراوحت بين (200 – 225) غم / حيوان .ثم لُوث (4) كغم من العليقة القياسية بلقاح عزلتي الفطر *A. flavus* المنتجة وغيرالمنتجة للافلاتوكسينات كلاً على حده ؛ وذلك بأضافة 50 مل من لقاح كل عزلة (1.4×10^6 بوغ / مل) لكل كيلو غرام من العليقة بعد وضع العليقة في كيس نايلون نظيف ومن ثم اضافة اللقاح مع الرج لغرض توزيع اللقاح على جميع اجزاء العليقة ،حضنت العلائق الحيوانية الملوثة بلقاح عزلتي الفطر كلاً على حده بدرجة حرارة (30 ± 2) مْ لمدة أسبوع .بعد الأنتهاء من الحضن تم معاملة الحيوانات بعد تقسيمها على ثلاث مجاميع ، كل مجموعة تضم اربعة حيوانات وكما يأتي :

المجموعة الاولى : تضم (4) حيوانات عُوملت بالعليقة الملوثة بلقاح العزلة المنتجة للافلاتوكسينات وبكمية 25 غم / حيواناً كل 48 ساعة ولمدة شهر واحد . المجموعة الثانية : تضم (4) حيوانات عُوملت بالعليقة الملوثة بلقاح العزلة غير المنتجة للافلاتوكسينات وبالكمية نفسها ولمدة شهر واحد .المجموعة الثالثة (المقارنة) : تضم (4) حيوانات عُوملت بالعليقة القياسية غير الملوثة بلقاح أي من عزلتي الفطر *A. flavus* وبالكمية نفسها يومياً ولمدة شهر . قبلها تم التعرف على انتظام الدورة الشبقية من خلال اجراء المسحات المهبلية يومياً من جدار المهبل بوساطة ناقل معدني Loop معقم ، وذلك بتسخينه حتى الاحمرار ثم ترك ليبرد، نشرت المسحة بعد اخذها على شريحة زجاجية ثم تركت لتجف وصبغت بصبغة المثيل الازرق لمدة (3 – 5) دقائق ، وغسلت بعد ذلك بالماء الجاري وفحصت تحت المجهر، وتم اختبار الحيوانات المنتظمة في دورتها الشبقية وتحديداً التي كانت في طور Proestrus بعدها تم تضحية الحيوانات بعد أن خدرت بالكلوروفورم ، وشرحت عن طريق فتح التجويف البطني وتم سحب الدم عن طريق طعنة القلب (Heart puncture) ، اذ وضع الدم المسحوب في انابيب اختبار ووضعت في جهاز الطرد المركزي للحصول على المصل Serum لأجراء بعض الاختبارات الكيموحيوية (محسن 2006) لحين أجراء الخطوات اللاحقة .

قياس المعايير الكيموحيوية:

1- تقدير فعاليتي إنزيمي الكبد (ALT و AST) : تم تقدير فعاليتي هذين الانزيمين باستخدام العدّة (Kit) المخصصة لهذا الغرض ، واعتمادًا على الطريقة اللونية المقدمة من قبل Reitman و Frankel (1957) ، التي تعتمد على قياس كمية Oxaloacetate و Pyruvate المتحررين بوساطة التفاعل من Hydrazine و Nitrophenel . **2 - تقدير الهرمون المحفز للجريبات (FSH) :** تم تقدير كمية هذا الهرمون في مصل الدم باستخدام العدّة المجهزة لهذا الغرض ، حيث اتبعت طريقة Immunoenzymatic colorimetric

method لتقدير كمية هذا الهرمون في مصل الدم (Tietz ، 1995) التي تعتمد على مبدأ الارتباط المتزامن (Simultaneous binding) للهرمون الحويصلي بنوعين من Monoclonal antibodies احدهما يكون غير متحرك وموجود على سطح الحفرة والاخر يكون مقترناً بالانزيم المسمى (Horseradish peroxidase (HRD . **3 - تقدير الهرمون المحفز للجسم الاصفر (LH) :** تم تقدير كمية هذا الهرمون في مصل الدم بأستخدام العدّة المجهزة لهذا الغرض ، واتبعت الطريقة نفسها التي استخدمت لتقدير الهرمون المحفز للجريبات .

5 - تقويم كفاءة المستحضر الحيوي لبكتريا *B. subtilis* في حماية إناث الجرذ الابيض من الأثار السامة لعزلتي الفطر *A. flavus* على بعض المعايير الكيموحيوية : حضرت كمية مقدارها (16 كغم) من العليقة القياسية الخاصة بحيوانات الجرذ الابيض وقسمت هذه الكمية على جزئيين متساويين (كل جزء يتكون من 8 كغم) ، لُوث الجزء الاول (8 كغم) من العليقة القياسية بالعالق البوغي لعزلة الفطر *A. flavus* المنتجة للافلاتوكسين وبمعدل 50 مل من العالق البوغي للعزلة المنتجة للافلاتوكسينات (1.4×10^6 بوغ / مل) لكل كغم من العليقة ، وضعت العليقة في كيس نايلون نظيف ثم اضيف العالق البوغي للفطر المخصص ، وعلى دفعات الى العليقة مع تحريك الكيس باستمرار حيث تم توزيع العالق البوغي على اجزاء العليقة جميعاً ، بعدها تم اجراء الخطوات السابقة نفسها على الجزء الثاني من العليقة (8 كغم) باستثناء اضافة العالق البوغي لعزلة الفطر *A. flavus* غير المنتجة للافلاتوكسينات ، بعد ذلك قسمت هذه الأجزاء من العلائق على اجزاء ثانوية متساوية وبواقع (2 كغم) ، وبذلك يكون عدد الاجزاء الثانوية ثمانية اجزاء وعُوملت بالمستحضر الحيوي لبكتريا *B. subtilis* وكما يأتي :

رقم المعاملة	التوصيف
1	عليقة مصابة بالعالق البوغي للفطر (NT) ومعاملة B5
2	عليقة مصابة بالعالق البوغي للفطر (NT) ومعاملة B10
3	عليقة مصابة بالعالق البوغي للفطر (NT) ومعاملةB20
4	عليقة مصابة بالعالق البوغي للفطر(NT) وغير معاملة B
5	عليقة مصابة بالعالق البوغي للفطر(T) ومعاملة B5
6	عليقة مصابة بالعالق البوغي للفطر (T) ومعاملة B10
7	عليقة مصابة بالعالق البوغي للفطر (T) ومعاملة B20
8	عليقة مصابة بالعالق البوغي للفطر (T) وغير معاملة B

Bacillus = B ، Toxogenic = T ، Non- toxogenic = NT
B10 = تركيز المستحضر الحيوي 10 غم / كغم عليقة حيوانية ، B20 = تركيز المستحضر الحيوي 20 غم / كغم عليقة حيوانية . B5 = تركيز المستحضر الحيوي 5 غم / كغم عليقة حيوانية . تم أستخدم (32) حيوان وقسمت بالتساوي على المعاملات المذكورة بحيث كل مجموعة تحتوي على (4) حيوانات وأعطي كل حيوان من حيوانات كل من المجاميع اعلاه كمية من العليقة بمقدار 25 غم كل 48 ساعة ولمدة شهر واحد

التحليل الأحصائي Statistical analysis :
نفذت التجارب جميعاً وفقاً للتصميم كامل العشوائية C.R.D (Complete Random) Design كتجارب أحادية و ثنائية العامل ، وتمت مقارنة المتوسطات بأحتساب أقل فرق معنوي L.S.D (Less Signification Differences) وتحت مستوى معنوية 0.05 (الراوي وخلف الله ، 1980)

النتائج والمناقشة :

1 :عزل الفطر *A. flavus* من بذور فستق الحقل والذرة الصفراء وتشخيصه :

تم الحصول على (16) عزلة من الفطر *A. flavus* من بذور الفستق والذرة الصفراء حيث كان عدد العزلات (11) عزلة من الفستق و (5) عزلات من الذرة الصفراء شخصت العزلات وفقاً للصفات التي ذكرها كلٌ من Raper و Fennell (1965) إذ ظهرت مستعمرات الفطر بلون اخضر شعاعية نمت بسرعة على وسط (PDA) فوصل النمو الى حافة الطبق بعد مرور اسبوع من حضنها بدرجة حرارة (25 ± 2) مْ ، وبينت نتائج الفحص المجهري ان مستعمرات الفطر *A. flavus* تكون خضراء مصفرة مخملية او ملساء ، متمنطقة الرؤوس البوغية ، شعاعية او عمودية مفككة تتباين في المواصفات من عزلة الى اخرى وهذا ما أكده (Kown – Chung و Bennett ، 1992) .

2 : اختبار كفاءة عزلات الفطر *A. flavus* على انتاج الافلاتوكسينات :

اوضحت نتائج الكشف الكيمياوي بأستعمال وسط جوز الهند والأمونيا قدرة عدد من عزلات الفطر *A. flavus* على انتاج الافلاتوكسينات ، إذ ظهر تغير واضح في لون قواعد المستعمرات وظهور اللون الاحمر وبدرجات مختلفة) وهذا التدرج في اللون ربما يعود الى اختلاف قدرة العزلات على انتاج الافلاتوكسينات وهذا ما ذكره Saito و Machida (1999) حيث ذكرا أن درجة اللون الاحمر تعزى الى الكميات المنتجة من الافلاتوكسينات ، فالعزلة ذات اللون الأحمر الغامق تدل على قدرتها على إنتاج كميات كبيرة من الافلاتوكسينات ، وبلغت نسبة العزلات المنتجة 37.5 % .

3 : اختبار كفاءة المستحضر الحيوي لبكتريا *B. subtilis* في تثبيط النمو الشعاعي لعزلتي الفطر *A. flavus* المنتجة وغيرالمنتجة للافلاتوكسينات : اوضحت النتائج قدرة المستحضر الحيوي لبكتريا *B. subtilis* في تثبيط نمو عزلتي الفطر المنتجة وغيرالمنتجة للافلاتوكسينات حيث بلغت نسبة التثبيط 100 % لكليهما عند التركيز 1 غم / لتر في حين اظهرت عزلة الفطر *A. flavus* المنتجة للافلاتوكسينات مقاومة ضعيفة لفعل المستحضر الحيوي عند التركيز 0.5 غم / لتر، اذ بلغت نسبة التثبيط 92.35 % في الوقت الذي كانت نسبة التثبيط للعزلة غيرالمنتجة للافلاتوكسينات وبالتركيز نفسه 93.74 % . وهذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات ، وقد نسبت القدرة التثبيطية لبكتريا *B. subtilis* الى قدرتها على انتاج العديد من الأنزيمات الحالة Lytic enzymes التي تقوم بتحليل العديد من المركبات البوليمرية كالمركبات البروتينية والدهون والمركبات النشوية والكايتينية مثل انزيم Chitinase المحلل لمادة الكايتين التي تعد المكون الأساس لجدران خلايا معظم الفطريات الراقية ، ومنها الفطريات الناقصة (Prakash و Podiel، 1995) ، وأنزيم Lecithinase الفعال في تحليل الدهون الفوسفاتية (Gill ، 1982) .

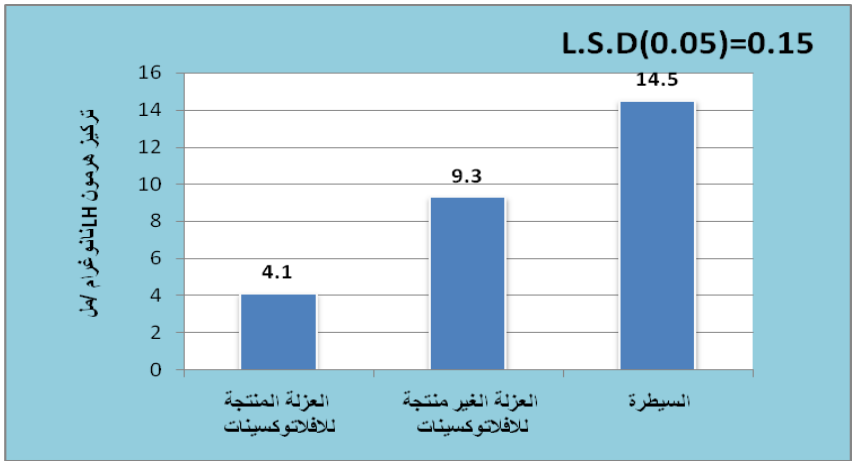
الجدول (1) : تأثير المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus subtilis* في تثبيط النمو الشعاعي لعزلتي الفطر *Aspergillus flavus* .

طبيعة العزلة	التركيز (غم / لتر)	معدل قطر مستعمرة الفطر	نسبة التثبيط (%)
عزلة الفطر *A. flavus* المنتجة للافلاتوكسينات	0 0.5 1	9 0.68 0	0 92.35 100
عزلة الفطر *A. flavus* غير المنتجة للافلاتوكسينات	0 0.5 1	9 0.56 0	0 93.74 100
L.S.D(0.05)			7.85

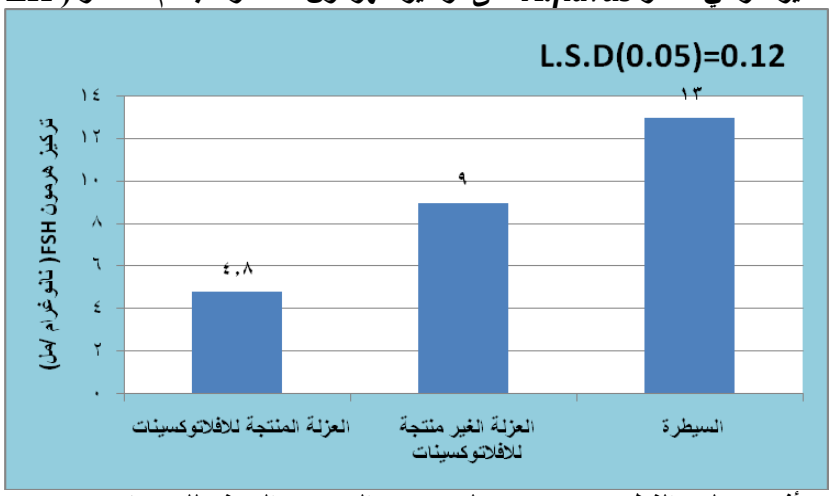
5 : تـأثير العلائـق المصـابة بعزلتـي الفطـر *A. flavus* المنتجـة وغيرالمنتجـة للافلاتوكسـينات علـى المعـايير الكيموحيوية لدى إناث الجرذ الأبيض :

1 : تركـيز هرموني (LH و FSH) في مصل الدم لإنـاث الجرذ الابيـض :

اظهرت النتائج الموضحة في (الشكل 1) ان عزلة الفطر *A. flavus* المنتجة لسموم الافلاتوكسينات قد سببت حدوث انخفاض معنوي لتركيز الهرمون المحفز للجسم الاصفر (LH) وتركيز الهرمون المحفز للجريبات (FSH) في مصل الحيوانات التي تم تغذيتها على علائق مصابة بتلك العزلة حيث وصل مستوى الهرمون المحفز للجسم الاصفر (LH) الى 4.1 نانوغرام / مل مقارنة بمعاملة السيطرة لهذا الهرمون والتي بلغت 14.5 نانوغرام / مل ، اما الهرمون المحفز للجريبات (FSH) فقد انخفض مستواه الى 4.8 نانوغرام / مل مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت 13 نانوغرام / مل (الشكل 2) اما بالنسبة لعزلة الفطرغيرالمنتجة للافلاتوكسينات هي الأخرى سببت انخفاض بمستوى الهرمونين في مصل الحيوانات التي تم تغذيتها على علائق مصابة بهذه العزلة الى (9.3 و 9) نانوغرام / مل لهرمون (LH و FSH) على التوالي .



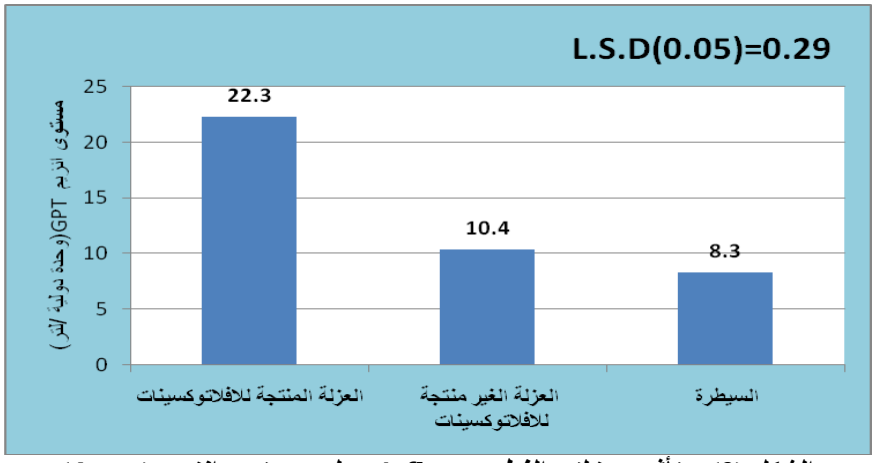
الشكل (1) تأثير عزلتي الفطر *A.flavus* على تركيز الهرمون المحفز للجسم الأصفر (LH)



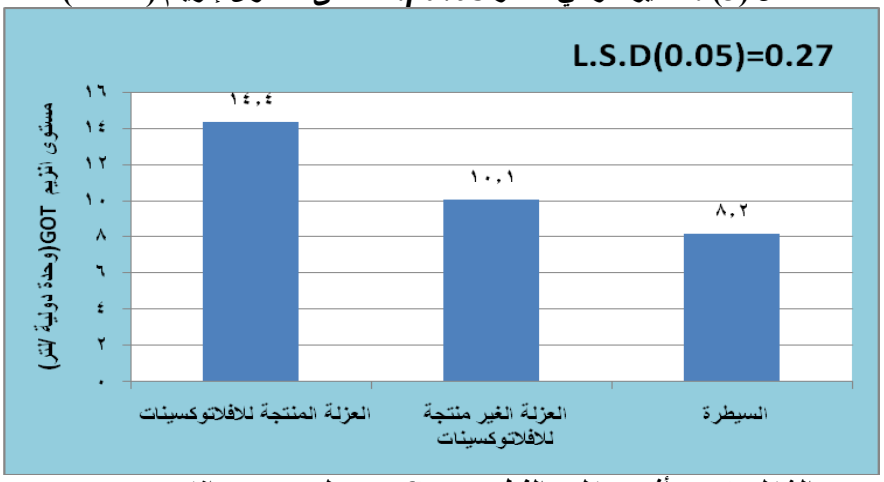
الشكل (2) تأثير عزلتي الفطر *A.flavus* على تركيز الهرمون المحفز للجريبات (FSH)

2 : مستوى إنزيمي الكبد A.L.T و A.S.T في مصل الدم لإناث الجرذ الابيض :

سببت عزلة الفطر *A. flavus* المنتجة للافلاتوكسينات ارتفاعاً معنوياً لمستوى انزيمي الكبد ALT و AST في الحيوانات التي تم تغذيتها على علائق مصابة بهذه العزلة إذ وصل مستوى انزيم الكبد ALT الى 22.3 وحدة دولية / لتر مقارنة بمعاملة السيطرة حيث كان مستوى الانزيم 8.3 وحدة دولية / لتر (الشكل 3) ، اما مستوى انزيم AST فقد ارتفع الى 14.4 وحدة دولية / لتر ، ومقارنة بمعاملة السيطرة حيث بلغت 8.2 وحدة دولية / لتر (الشكل 4) . كما زاد مستوى الانزيمين في مصل دم الحيوانات التي غُذيت على عليقة مصابة بعزلة الفطر غيرالمنتجة للافلاتوكسينات ولكن بنسبة أقل من العزلة المنتجة للافلاتوكسينات حيث بلغت (10.4 و 10.1) وحدة دولية / لتر لإنزيمي ALT و AST على التوالي .



الشكل (3) : تأثير عزلتي الفطر *A.flavus* على مستوى إنزيم (ALT)



الشكل (4) : تأثير عزلتي الفطر *A. flavus* على مستوى إنزيم (AST)

6 : تقويم كفاءة المستحضرالحيوي لبكتريا *B. subtilis* في حماية إناث الجرذ الأبيض من التأثيرات السامة لعزلتي الفطر *A.flavus* :

1: تأثير تراكيز المستحضر الحيوي لبكتريا *B. subtilis* على الفعالية السمية لعزلتي الفطر *A. flavus* في هرموني (FSH و LH) : توضح النتائج المبينة في الجدول (2) أن المستحضر الحيوي بتراكيزه جميعاً أدى الى زيادة مستوى هرموني (LH و FSH) وكانت الزيادة طردية مع زيادة تركيز المستحضر الحيوي في العليقة الحيوانية حيث بلغ مستوى هرمون (LH) 9.8 وهرمون (FSH) 9.5 نانوغرام / مل مقارنة بمستوى الهرمونين في عليقة السيطرة التي لم يتم معاملتها بالمستحضر الحيوي إذ بلغ مستوى الهرمونين (6.7 و 7) نانوغرام / مل على التوالي ، وهذا يعني أن المستحضر الحيوي قد خفض من التأثير السمي للأفلاتوكسينات على الهرمونين (LH و FSH) ، وقد يكون هذا التأثير الأيجابي ناتجاً عن قدرة البكتريا *B. subtilis* على التأثير في نمو الفطر في العليقة الحيوانية حيث تمكنت البكتريا من تحجيم نمو الفطر *A. flavus* مما أظهر على قدرات الفطر في إنتاج كميات أقل من الأفلاتوكسينات وبالتالي قلتْ أضرار تلك السموم على مستويات الهرمونات المحرضة للقند لدى إناث الجرذ الأبيض ، وما يعضد هذا الأستنتاج هو نتائج تجربة التضاد للمستحضر الحيوي ضد الفطر *A. flavus*

الجدول (2) تأثير التراكيز المختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus subtilis* على مستوى هرموني (LH و FSH) لدى إناث الجرذ الأبيض .

تركيز المستحضر الحيوي غم / كغم	تركيز الهرمونات في مصل الدم (نانوغرام / مل)	
	الهرمون المحفزللجسم الأصفر LH	الهرمون المحفز للجريبات FSH
0	6.7	7
5	7.7	7.8

8.5	9.1	10
9.5	9.8	20
0.13	0.14	L.S.D(0.05)

2-6-4 : تأثير تراكيز المستحضر الحيوي في الحد من الأثار السامة لعزلتي الفطر *A. flavus* في إنزيمي الكبد (ALT و AST) :

أثرت تراكيز المستحضر الحيوي ايجابياً في خفض مستويات إنزيمي ALT و AST و بالتراكيز المستعملة جميعاً في هذه الدراسة إذ بلغ مستوى الأنزيمين في مصل دم الحيوانات (15.1 و 11) وحدة دولية / لتر على التوالي عند أستعماله بتركيز 20 غم / كغم من العليقة ، في الوقت الذي كان مستوى الانزيمين في مصل دم الحيوانات التي غُذيت على عليقة خالية من المستحضر الحيوي (16 و 12.5) وحدة دولية / لتر على التوالي . ويمكن تعود هذه النتيجة الى الاسباب نفسها المذكورة في الفقرة السابقة .

الجدول (3) : تأثير التراكيز المختلفة من المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus subtilis* على مستوى إنزيمي (ALT و AST) لدى إناث الجرذ الأبيض .

تركيز المستحضر الحيوي غم / كغم	مستوى الأنزيمات في مصل الدم (وحدة دولية / لتر)	
	ALT	AST
0	16	12.5
5	15.7	12.3
10	15.3	12.2
20	15.1	11
L.S.D(0.05)	0.15	0.14

المصادر :

شعبان ، عواد و نزار مصطفى الملاح ، 1993 . المبيدات . دار الكتب للطباعة و النشر ، جامعة الموصل . ص 520 .

الراوي ، خاشع وعبد العزيز خلف الله ، 1980 . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل . ص 488 .

محسن ، عذراء حرجان ، 2006 . دراسة التأثيرات السمية لحبوب الحنطة الملوثة بالفطريين *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* في الجهاز التناسلي لأناث الجرذ الابيض وأمكانية السيطرة عليها في المخزن رسالة ماجستير ، كلية التربية للبنات – جامعة الكوفة . ص 69 .

Duthie, R. & Denning, D.W. (1995) . *Aspergillus fungemia* : Report of two cases and review. Clin. Infect. Dis. 20 : 598 – 605 .

Gill, D.M. (1982) . Bacterial toxins table of lethal amounts Microbiol. Rev. 96 : 86 – 94 .

Gillespie, M.B., & O′malley, B.W. (2000) . An algorithmic approach to the diagnosis and management of invasive fungal rhinosinusitis in the immunocompromised patient. Otolaryngol Clin. N. Amer. 33 : 323 – 334 , IX.

Kown- Chung, K.J. & Bennett, J.E. (1992). Medical Mycology . Lea & Febiqer. 745 pp .

Leben, S.D. ; Wadi, J.A., & Easton, G.D. (1987) . Effects of *Pseudomonas fluorescens* on potato plant growth and control of *V. deliae* . Phttopathol. 77 : 1592 – 1595 .

Prakash, A.P. & Podile, A.R. (1995) . Lysis and Biological control of *A.niger* by *B. subtilis* AF1 .

Raper, K.B. & Fennell, D.I. (1965) . The genus *Aspergillus* . Williams & Wikins Company, Baltimore. 686 pp.

Reitman,s.Frankel, S.A. (1957) . Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetate and glutamic pyruvic transaminase. Am. J. Clin. Path., 28 : 56 – 59 .

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

Tietz, N.W. (Eds.) (1995) .Clinical guide to laboratory tests, 3rd edn., W.B.Saunders, Co., Philadelphia: 1096 pp.

Study of toxic effects of *Aspergillus flavus* on some biological parameters of females of white rat and biol9ogical control possibility to control of these effects

Sami . A.Ali Baedaa Abood

College of Science / University of Kufa

This study is conducted in th3e laboratories of the department of biol9ogy college of science which involve study of toxic effects of two isolates frome *Aspergillus flavus* one toxic isolate and one their non-toxogenic on some biochemical parameters of females of white rat. As well as to evolution of effiencey of Bioformulation of bacteria *Bacillus subtilis* to protect of animal feed.The result show that the machida and saito method (1999) was effienecty to determinal the toxogenic and non toxogenic isolate of *Aspergillus flavus*.

This study proved biocid (*Bacillus subtilis*) gave 100% inhibition effect against the growth of *Aspergillus flavus* isolates at (1 gm/L) concentration of bio acide.As well as the LH and FSH reducsd to (4.1 and 4.8) ng / ml in blood of rates which its feed on contaminationted food with toxogenic isolate. While it were (9.3 and 9) ng/ml for the feed contamined with non toxogenic isolate. The ALT and AST increased to reached 22.3 and 14.4/ul companed with control treatment were (8.3 and 8.2) ul respectively.Bio acid was addition to feed case increased the LH and FSH in blood serum of rates to (9.8 and 9.5) ng /l while the ALT and AST reduced to (15.1 and 11) ul respecting