

اختزال التأثيرات السمية لسّم افلا B1 من قبل رواشح

خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae*

د. شذى علي شفيق

د. حمزية علي عجة

م.م سهام علي قاسم

قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية

الخلاصة

اظهرت رواشح خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* المركزة لمرة واحدة ولمرتتين القدرة على اختزال النمو الخضري وانتاجية سم افلا B1 للفطر *Aspergillus flavus* المعزولة من حبوب الرز الملوثة ، كما لوحظ تأثير الرواشح المركزة لمرتتين على الفئران المختبرية بتركيز 1مل / كغم من وزن الحيوان يوميا ولمدة (7) ايام بعد تغذيتها بعليقة ملوثة بسم افلا B1 ظهور اختزال معنوي في اوزان الكبد والطحال مقارنة بحيوانات المعاملة بغذاء ملوث بسم افلا B1 فقط .

المقدمة

سموم الافلا مركبات ايضية ثانوية secondary metabolite ذات اوزان جزيئية صغيرة تتراوح بين (286-346) كيلو دالتون لذا تكون مقاومة للعوائل البيئية وغير محفزة للجهاز المناعي Non- immunogenic على انتاج الاجسام المضادة (1) تنتج من قبل الفطرين *Aspergillus parasiticus* , *Aspergillus flavus* . تستهدف سموم الافلا الكبد Hepatotoxin اذ تحتاج الى تنشيط ايضي لاحداث الصور الثلاث للتحطيم الوراثي الذي يشمل التطهير Mutagenicity ، تشوهات الاجنة Teratogenicity والتسرطن Carcinogenicity (2) ويطلق على عملية التسمم بسموم الافلا مصطلح Aflatoxicosis والذي يحدث للانسان والحيوان نتيجة استهلاك منتجات غذائية ملوثة بسموم الافلا مسببا ضررا في خلايا الكبد والكلية مع نزيف في الجهاز الهضمي ، كما يؤثر في الانشطة الانزيمية للدم ومكوناته وسرعة تجلظه (3)

احتزال التآثيرات السمية لسما افلا B1 من قبل رواشح خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae*.....

د. شذى علي شفيق ، د. حمزية علي محبة ، م.م سهام علي قاسم

اتجهت الدراسات الى تقليل او منع تاثير سم افلا B1 على صحة الحيوان والانسان باستخدام الخمائر كخميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* في مجال للسيطرة والمكافحة الحيوية biological control ضد الفطريات الممرضة للنبات وكذلك في عمليات حفظ الاغذية والاعلاف (4) ، اذ تمتلك خميرة الخبز القدرة على تثبيط الفطريات وبصورة فعالة من خلال انتاجها لانزيمات لهضم الجدران الخلوية للفطريات فقد بين كل من (5) و (6) قدرة خميرة الخبز على تثبيط فعل السموم المنتجة من قبل الفطر *A. flavus* بسبب طبيعة جدارها الخلوي وبالاخص وجود السكريات الاحادية mannanoligosaccharides لما تمتلكه من فعل مؤثر في ابطال السم من خلال تحويله فضلا عن الى القدرة التثبيطية في انتاج مواد مثبطة في نمو بعض الفطريات الممرضة للنبات كالفطر *Fusarium equiseti* , *Botrytis faba* , *Phoma foveata* , *Botrytis cinerea* (7) والفطريات الممرضة للانسان مثل *Candida albicans* و *Cryptococcus sp.* وعفن ال *Trichophyton sp.* (8) .

لذا اتجه الباحثون للكشف عن تلك المواد واستغلالها لحفظ الاغذية والعلائق من الفساد والتلف والحد من التلوث بالفطريات وسمومها المنتجة من جهة ولغرض التوصل الى وسائل حفظ امينة نتجنب بها تلك الخسائر البشرية والاقتصادية بالاضافة الى الحيوانية .

المواد وطرائق العمل

اختبار الفعالية التثبيطية لرواشح خميرة الخبز *S. cervicia* تجاه عزلة الفطر *A. flavus*المنتجة لسما افلا B1 حضرت رواشح عزلة خميرة الخبز بتتميتها في انابيب اختبار تحتوي على وسط السابرويد السائل Sabaroud broth وبنسبة لقاح 1% ثم حضنت الانابيب بحرارة 25 ± 2 ولمدة (48) ساعة بعد الحضن عرضت الانابيب على جهاز الطرد المركزي 3000 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق للحصول على سائل الخلايا الحرة للمزروع والذي رشح من خلال المرشحات Millipore filters بقطر (0.22) مايكروميتر ، للكشف عن الفعالية التثبيطية للراشح خميرة الخبز استخدمت طريقة الخلط مع الوسط الزرعى حيث اضيفت رواشح خميرة الخبز الى وسط اكار البطاطا والدكستروز المعقم Potato Dextrose Agar (PDA) وبنسبة 10 % ، صب الوسط في اطباق معقمة ولقح كل طبق بقرص فطري قطره 6 مل من مزارع فنية لعزلات *A. flavus* وبعمر (5-7) ايام ، حضنت الاطباق بحرارة $25=2$ ولمدة 7 ايام وقيست اقطار المستعمرات الفطرية ونسبة التثبيط % (9) . اتبعت نفس الخطوات السابقة باستخدام رواشح

احتزال التأثيرات السمية لسما افلا B1 من قبل رواشح خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae*.....

د. شذى علي شفيق ، د. حمزية علي حجة ، م.م. سهام علي قاسم

مركزة مرة واحدة ومرتين وتمت المقارنة بين الفعالية التثبيطية بينهما . حصل على العزلات من قسم علوم الحياة كلية العلوم الجامعه المستنصرية .

اختبار الفعالية التثبيطية لرواشح خميرة الخبز تجاه انتاجية عزلة الفطر *A. flavus* المنتجة لسما افلا B1

خلطت الرواشح غير المركزة والمركزة (مرة واحدة ومرتين) مع الوسط الزراعي السائل (Yeast Extract Sucrose (YES) المعقم في دوارق زجاجية سعة 250 مل كلا على انفراد وبنسبة 10% ، لقحت الدوارق باقراص من المزارع الفطرية الفتية للفطر *A. flavus* المنتج لسما افلا B1 بمعدل 3 اقراص وبقطر 6 مل ، رجت الدوارق بوساطة الهزاز ولفترة 10 دقائق وحضنت بدرجة حرارة 25 ± 2 ولمدة 14 يوم مع مراعاة الرج اليومي يدويا . اتبعت طريقة Okazaki (10) في استخلاص سما افلا B1 من المزارع الفطرية المعاملة برواشح خميرة الخبز وغير المعاملة وجفف الراشح باستخدام المجفف الشعر وحفظت النماذج بالمجمدة لحين اجراء الكشف او استخدامه مباشرة لغرض اجراء الكشف الكيميائي بطريقة Thin Layer Chromatography (TLC) .

تأثير التداخل بين رواشح خميرة الخبز والعليقة الملوثة بالفطر المنتج لسما افلا B1 في الفئران البيض

حضر الغذاء الاساس لفئران التجارب وذلك باضافة مسحوق الرز الملوث بالفطر المنتج لسما الافلا B1 الى العليقة وتمت تغذية الفئران بكميات غير محددة من الغذاء حسب طريقة التكريري (11) وزنت الحيوانات المختبرة قبل وبعد التجربة وباستخدام جرعه من رواشح المركزة لمرتين من خميرة الخبز بتركيز (1 مل / كغم) من وزن الحيوان يوميا ولمدة اسبوع وفي نهاية التجربة شرحت الحيوانات المختبرة لملاحظة التغيرات المظهرية في مجموعة من الاحشاء الداخلية المتمثلة بالكبد والطحال من حيث الحجم والشكل واللون مقارنة بالاحشاء الداخلية لحيوانات السيطرة .

النتائج والمناقشة

يظهر الجدول (1) التأثير المثبط لرواشح خميرة الخبز على الفطر *A. flavus* في درجة حرارة (25+2) م وعلى وسط اكار البطاطا والدكستروز (PDA) ولمدة اسبوع اذ ان جميع الرواشح المستخدمة بتركيز (1%) قد اظهرت فعالية متفاوتة في تثبيط نمو الفطر وكان اكثرها تأثيرا الرواشح المركزة لمرتين اذ ثبت نمو الفطر الى 49% زيادة عن تاخر في ظهور السبورات و

احتزال التأثيرات السمية لسم افلا B1 من قبل رواشح خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae*.....

د. شذى علي شفيق ، د. حمزية علي حجة ، م.م سهام علي قاسم

تعزى فعالية خميرة الخبز في تثبيط نمو الفطر وتأخر ظهور السبورات بقدرتها على انتاج انزيمات محللة للجدار الخلوي للفطر *A. flavus* (6) .

الجدول (1) التأثير المثبط لرواشح خميرة الخبز في نمو الفطر *A. flavus* بدرجة حرارة (2+25) م على وسط (PDA) ولمدة اسبوع

المعاملات	متوسط اقطار المستعمرات (سم)	نسبة التثبيط %
راشح غير مركز	6.1	14
راشح مركز لمرة واحدة	5.6	21
راشح مركز لمرتين	3.6	49
السيطرة	7.1	0

$$\text{نسبة التثبيط \%} = \frac{\text{قطر مستعمرة السيطرة} - \text{قطر مستعمرة التثبيط}}{\text{قطر مستعمرة السيطرة}} \times 100$$

و يبين الجدول (2) نتائج معاملة رواشح خميرة الخبز الى وجود انخفاض واضح في شدة التالق عند الرواشح المركزة لمرة ولمرتين اذ مثلت شدة التالق (++) و(+) على التوالي مقارنة بشدة التالق للسيطرة التي مثلت (++++) يعود سبب الانخفاض في انتاجية السم لتلك الرواشح المركزة الى تراكم او تجمع تلك المواد المثبطة كالسكريات الاحادية mannanoligosaccharides الموجودة ضمن المكون الكيميائي للجدار الخلوي للخميرة (6) واعتمادا على هذه النتائج ذكر Al-Shanon (12) ان استخدام خميرة الخبز بتركيز 0.3 % ادى الى ازالة سم افلا B1 بتركيز 2000 ppm في علائق الدواجن الملوثة بهذا السم .

الجدول (2) تأثير رواشح خميرة الخبز على انتاج الفطر *A. flavus* لسم افلا B1 بدرجة حرارة (2+25) م ولمدة اسبوعين

المعاملات	شدة التالق تحت الـ UV مقارنة بالسم القياسي
راشح غير مركز	++
راشح مركز لمرة واحدة	++
راشح مركز لمرتين	+
السيطرة	++++

اختزال التآثيرات السمية لسم افلا B1 من قبل رواشح خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae*.....

د. شذى علي شفيق ، د. حمزية علي حجة ، م.م سهام علي قاسم

أختزال في مقدار التضخم الحاصل بفعل المعاملة برواشح مركزة لخميرة الخبز في الطحال والكبد يظهر الجدول (3) اختزالا واضحا في مقدار التضخم الحاصل في كل من الطحال والكبد للفئران المعاملة برواشح خميرة الخبز فكانت اوزان هذين العضوين لدى هذه الحيوانات تقل بشكل معنوي عند احتمالية ($P < 0.05$) عن اوزانها لدى سيطرتها من الفئران غير المعاملة التي ارتفع متوسط اوزانها الى (1.78 , 0.2) غم على التوالي وتاتي هذه النتائج لتؤكد لراشح خميرة الخبز تاثيرا مماثلا باستخدام مواد اخرى يعول عليها في تلافي التضخم الحاصل من جراء تاثير السم (13) (14) ومما ينبغي الاشارة اليه ان استجابة الكبد لتاثير الراشح كانت اكثر من استجابة الطحال وقد يعود سبب ذلك الى وصول السم الى الكبد بكمية اكبر من الطحال موثرا على عمليتي تصنيع الدهون والبروتين في خلايا الكبد (15)(16) . واطهرت نتائج الباحث Raju (7) لدى معاملة الفئران الى نتائج مماثلة تتضمن استجابة الكبد معللا ذلك لقدرة الكبد على التعبير الجيني لمستضدات التوافق النسيجي الثاني والذي يعتمد على الخلفية الوراثية لهذه الفئران .

الجدول (3) تأثير التداخل بين الرواشح المركزة لمرتين من خميرة الخبز والعليقة الملوثة بالفطر *A. flavus* المنتج لسم افلا B1 على معدل النمو واوزان الاحشاء الداخلية الطحال والكبد للفئران البيض .

المعاملات	الوزن قبل المعاملة (غم)	الوزن بعد المعاملة (غم)	اوزان الاحشاء الداخلية (غم)	
			الطحال	الكبد
السيطرة السالبة	22.72 ± 5.22	23.07 ± 3.97	0.14 ± 0.01	1.15 ± 0.01
السيطرة الموجبة	22.41 ± 3.94	23.90 ± 4.10	0.098 ± 0.0	* 1.0 ± 0.03
راشح مركز مرتين	22.29 ± 4.00	22.98 ± 31.0	0.22 ± 0.05	1.78 ± 0.02

كل قراءة تمثل الوسط الحسابي ± الانحراف المعياري

معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$)

المصادر

احتزال التأثيرات السمية لسوا Afla B1 من قبل رواسع خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae*.....

د. شذى علي شفيق ، د. حمزية علي حجة ، م.م سهام علي قاسم

- 1- Qureshi , M.A ; Brake , J.; Hamilton , P.B.; Hagler , W.M. and Nesheim , S. (1998). . Dietary Exposure of Broiler Breeders to Afltoxin Results in immune Dysfunction in progeny chicks . Poultry science 77:812-819.
- 2- Mcglynn , K. A. ; Human , K. ; Levoyer , T. ; Roush , J. ; Wise , P . ; Michielli , R. A. ; Shen , F. M. ; Evns , A. A. (2003) . Susceptibility to Aflatoxin B1 related primary Hepatocellular carcinoma in Mice and Humans. Cancer Res . , 63 (15) 4694-4601.
- 3- Marnewick, J. L. ; Wentzel , C. A. ; Joubert , E. (2000) . An investigation on the antimutagenic properties of South African herbals teas, Mutata .Res. 471 , 157-166.
- 4- Palpacelli , V. Cinai , M. and Rosinin , G. (1991) . Activity of different killer yeast On strains of yeast species undesirable in the food industry. FEMS . Microbiol. Lell ., 68(1) : 75- 80 .
- 5- Celyk , K. , Denly , M. and Savas , T., (2003) . Reproduction of toxic effects of Aflatoxin B1 by using baker yeast *Saccharomyces cerevisiae* in growing broiler chicks diets . , R. Bras . Zootec. 32 (3) : 615-619.
- 6 -Bakutis , B. ; Baliukoniene, V. and Paskevicius , A. 2005 . Use of biological method for detoxification of mycotoxins ., Botanica lithuanica , 1(7) : 123-129 .
- 7- Shalaby , M. S. and El – Nady , M. F. (2008) . Application of *Saccharomyces cerevisiae* as a biological agent against *Fusarium* infection of sugar beet plants ., Acta Biological Szegedients , 52 (2) : 271- 275 .
- 8- Maria , E. , Cardenes , M. ; Cristing , C. and Joseph , H. (1999) . Antifungal activities of antineoplastic agents *Saccharomyces cerevisiae* as a odel system to study drug action . Clinical Microbiol. Rev. , 12(4) : 583- 611.
- 9- Tantaoui , E. And Beraoud , L. (1994) . Inhibition and aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus* by essential oils at selected plant materials . J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncel. , 13 (1) : 67-77.
- 10- Okazaki , H. and Saito , M.1992 . population levels of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in field soils in two areas of Kyushu distrit . phyto . path . soci .Japan .58:208-213.
- 11- Al- Tikriti , N. Alhakem . (2005). Study of some chromosomal variation caused by Ochratoxin A contamination in mice.. M.Sci- coll. Sci.- coll. Sci. – Al- Nahrain university .
- 12- Al- Shanon , A. F. (2001) . Ability of various isolates of *Saccharomyces cerevisiae* on removal of Aflatoxin in broiler feed

احتزال التأثير السمي لسو افلا B1 من قبل رواسع خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae*.....

د. شذى علي شفيق ، د. حمزية علي حجة ، م.م سهام علي قاسم

stuff – thesis of master of Science . College of Science – Al- Nahrine university

- 13- Kusumaningtyas , E. ; Widiastuti , R . and Maryam , R. (2006) . Reduction of Aflatoxin B1 in chicken feed by using *Saccharomyces cerevisiae* , *Rhizopus oligosporus* and their combination. Mycologia , 162 (4) : 307- 311.
- 14- Stanley , V. G. ; ojo , R. ; Woldonsenbet , S. And Hutchinson, D. H. (1993) . The use of *Saccharomyces cerevisiae* to suppress the effect of aflatoxicosis in broiler chicks .Poultry Sci. 72, 1867- 1872 .
- 15 – Yildiz , A. O. ; parlat , S. S. and Yildirim , I . 2004 . Effect of dietary addition of live yeast (*Saccharomyces cervisiae*) on some performance parameters of adult Japanese quail (*Coturnix Coturnix Japonica*) induced by aflatoxicosis . Med Vet . , 155(1) : 38-41 .
- 16-Edward , J. K. ; Erickson , K. E. 2001 . Expression of human microsomal epoxide hydrolase in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a functional role in Aflatoxin B1 detoxification . toxicological Science , 65: 35-42 .
- 17- Raju , M. V. and Devegowda , G. 2000 . Influence of esterified glucomannan on performance and organ morphology , serum biochemistry and haematology in broiler exposed to individual and combined mycotoxicosis . Br . Poultry . Sci. , 41 : 640-650 .

Reduction of toxic effects for Aflatoxin B1 by filtrates baker yeast *Saccharomyces cerevisiae*

Dr
Shatha ,A. Shafiq ;

Dr
Hamzia A. Ajaa ;

Ass. Lecturer
Siham Ali kasim

Department of Biology , College of Science , Al- Mustansirya
university .

The filtrates of baker yeast *Saccharomyces cerevisiae* which concentrated for once and twice showed the ability of reduction the vegetative growth and the toxic production of *Aspergillus flavus* which is isolated from contaminated rice . and also showed the filtrates of twice concentrate on males mice at the concentration (1ml/ kg) from weight body daily for (7) days after feeding them with contaminated diet of Aflatoxin B1 were recorded significant reduction in weight of liver and spleen compared with the treatment mice only with contaminated diet