دراسة تأثير عصير حب الرمان في الحد من تأثير المنتجات الايضية للفطر *Aspergillus flavus* على اثني عشري الأرانب البيضاء .

بهيجة عبيس حمود /مدرس/كلية الطب /جامعة القادسية

الخلاصة

تم عزل 15 عزلة من الفطر ***A.flavus*** من ثمار التفاح التي ظهرت عليها علامات الاصابة بالفطر،وبينت نتائج الدراسة ان 13 عزلة (86 %) من هذه العزلات له القابلية على انتاج الافلاتوكسينات كما اظهرت نتائج هذه الدراسة ان المنتجات الايضية للفطر ***A. flavus***المنتج للافلاتوكسينات سببت تاثيرات واضحة وبدرجات متفاوتة حسب الجرعة المستخدمة على نسيج ألاثني عشري في الأرانب البيضاء اذ ادت الجرعة 100 مايكروليتر/كغم الى تجمع بؤري لخلايا التهابية (Focal Aggregate Inflammatory cells) من نوع (Mast cells) داخل زغابات الاثني عشري وانتفاخ لخلايا الزغابات ، وأدت الجرعة 200مايكروليتر/كغم الى حصول تجمع للخلايا الالتهابية وانتفاخ خلايا الزغابات وتنخر خلوي (Necrosis) و أحتقان وعائي (Vascular congestion) في الطبقة المخاطية ،اما الجرعة 300 مايكروليتر/كغم فكانت اكثر تاثيرا من الجرعتين السابقتين اذ ادت الى حصول أحتقان وعائي في الطبقة المخاطية وتحلل وتساقط تام للزغابات.

وعند تجريع الراشح اعلاه بنفس الجرع لمجموعة اخرى من الحيوانات واعطاؤها جرع مختلفة من عصير ثمار الرمان توصلت الدراسة الى ان عصير الرمان بكافة الجرع المستخدمة ادى الى خفض التاثير السمي للمنتجات الايضية للفطروكان تاثير العصير يزداد بزيادة الجرعة المستخدمة حيث ان الجرعة 200 مايكروليتر/كغم منعت انتفاخ خلايا الزغابات التي سببها الراشح الفطري عند تجريعه للحيوانات بجرعة مقدارها 100 مايكروليتر /كغم في حين بقيت الخلايا الالتهابية متجمعة داخل الزغابات ،اما الجرعتين (400 و 800) مايكروليتر /كغم من العصير منعت كافة التاثيرات التي سببها الراشح الفطري عند تجريعه للارانب بجرع مقدارها200 و 400 مايكروليتر /كغم.

Abstract

Fifteen ***A.flavus*** isolates were isolated from apple fruits which appear on it symptoms of infection ,the results of our study showed 13 isolates (86%) from these isolates had ability to produce aflatoxins .The results showed that this metabolic products had substantial effects on duodenum of albino rabbit ,e.g. cause Focal Aggregate Inflammatory cells (Mast cells) in villi of duodenum and swelling of villi cells at 100µL/Kg. Similar tendency took place at concentration 200 µL/Kg, in addition to necrosis and Vascular Congestion in mucosa layer, while at 300 µL/K dose more effect were happen than above doses e.g. Vascular Congestion in mucosa layer and complete degradation in villi .

When another group of animals are treated with doses of metabolic product together with different doses of Punica juice ,the toxicity effects of metabolic products of ***A.flavus*** was reduced at all levels of doses, where the effect of juice was increased by arising doses amount ,the results showed that the (200) µL/Kg of juice prevent the swelling of villi cells, while aggregation of inflamintray cells remain in villi was not recovered with same concentration , but when the dose increased to (400 ,800) µL/Kg lead to prevent all toxic effect were caused by metabolic product in (200 and 400) µL/Kg .

المقدمـــــــة Introduction

الفطريات كائنات دقيقة غير ذاتية التغذية تعيش بصورة تطفلية أو ترممية أو تكافلية ولبعض أجناسها صفات تمكنها من المعيشة بصورة جيدة في بيئاتها. وهي كائنات نشطة في إنتاج العديد من نواتج الأيض الثانويةالمشتملة على العديد من السموم الفطرية السامة للأنسجة والخلايا الحيوانية والتي شكلت مشكلة كبيرة في الاونة الاخيرة نتيجة لصعوبة اكتشافها من جهة ولشدة التاثيرات التي تحدثها عند تناولها مع الغذاء الملوث بها دون ادراك المستهلك لها (**10**).

السموم الفطرية مركبات سامة تنتج عن عفن المواد الغذائية المختلفة سواء مواد غذائية طبيعية اومصنعة نتيجة نمو أنواع محددة من الفطريات التى تستطيع أن تنتج السموم تحت ظروف محددة، ويمكن أن تنتج هذه السموم فى الحقل قبل الحصاد أو بعد الحصاد وأثناء تخزين المواد الغذائية المختلفة وتعد السموم الفطرية مركبات ثابتة لايحدث لها تحلل أو تكسير أثناء عمليات تصنيع المواد الغذائية وخلطها معا ولذا لابد من العمل على تقليل نسبة أصابة الفطريات لهذه الأغذية حتى نحافظ على سلامتها وتقليل مخاطر تلوثها بهذه السموم وتعد فطريات *Aspergillus* و *Fusarium* و *Penicillium* من أهم الفطريات التى تنتج السموم الفطرية المختلفة فالفطر *Aspergillus* ينتج الأفلاتوكسين (Aflatoxin) وفطر *Fusarium* ينتج كل من الـ Zearalenone ومركب Deoxynivalenol (DON) وT-2 Toxin و Fumonisin و فطر *Penicillium* ينتج مركب Ochratoxin (**7**).

أظهرت الدراسات عند تغذية الحيوانات على علائق تحتوى سموم فطرية فأن معدل النمو يقل أو يتوقف تماما وينخفض إنتاج الحيوان وحدوث إسهال متقطع وتكون الحيوانات أكثر عرضة للإصابة بالأمراض ولا تستجيب للعلاج باستخدام العقاقير الطبية (**13**) ونتيجة لماتسببه السموم الفطرية من اثارسلبية وعدم وجود مضادات حياتية اوعقاقير تحد من تاثيراتها فقد تم البحث في الاونة الاخيرة عن مستخلصات نباتية من الممكن ان تلعب دورا فعالا في التخفيف من حدة تاثيرات السموم الفطرية فقد اشار (**17**), الى امكانية استخدام الثوم في الحد من تاثيرات سموم الاوكراتوكسين على المعايير الدموية في الفئران البيض.

الرمان هو ثمار شجرة *Punica granatum* ويسمى بالانكليزية pomegranate ويعود إلى العائلة الرمانية punicaceae موطنه الأصلي جنوب غرب آسيا ويزرع في معظم المناطق العربية خصوصاً حوض البحر الأبيض المتوسط والعراق وبلاد الشام (**9و12**).

تحتوي عصارة الرمان على 8.2-19.7 % سكريات منها 4.8-10.9 كلوكوز وعموماً كل 100غم من حب الرمان يحتوي على 81.3 % ماء و 0.8 غم بروتين و 0.7 غم دهون و 0.5 غم رماد و 2 % ألياف و 8.2 –19.7 % سكريات و 10ملغم كالسيوم و 24 ملغم فسفور و 0.6 ملغم حديد و 0.07ملغم ثيامين و 0.02 ملغم رايبوفلافين و 0.9 ملغم نياسين و 8 ملغم فيتامين سي (11) كما تحتوي عصارة الرمان 0.46 – 3.6 % حامض الستريك (**28**) ،وان استخدام تقنية الكروماتوكرافي عالي الكفاءة أظهر احتواء بذور الرمان على مركبات ايستروجينية (**25**) كما لوحظ ان كل أجزاء النبات تحتوي على العفصات tannins من نوع gallotannins وان القشور والبذور والسيقان والجذور تحتوي على ما لا يقل عن 20% من العفصات وقد عزلت منها اربع أنواع من القلويدات هي قلويد pelleltierine الذي يسمى punicine أيضا وقلويد isopelletierine وقلويد ethyl pelletierine وقلويد Pseudo pelletierine الذي يسمى methylgrantanine (**6**) وقد وردت ثمار ولحاء الساق والقشور والجذور كعلاج في دستور الأدوية الأمريكي (USP) للاعوام من 1820 ولغاية 1950 وأشير إلى إن قشور الرمان والساق والجذور تحتوي pelletierine بنسبة 5.2 % و pseudopelletierine بنسبة 17.9% و isopelletierine بنسبة 0.15% فضلاً عن methylisopelletierine (**16**).

كماان شراب عصير الرمان شراباً منعشاً ومغذياً يحتوي على منسوب مرتفع من الطاقة ومنسوب عالي من الفيتامينات والاملاح خصوصاً فيتامين سي (**11 و22**) فضلاً عن ذلك فقد وجد ان عصارة ثمار الرمان لها فعلاً قاتلاً ضد البكتريا والفطريات (**25**) وقد اعطيت خلاصات ثمار الرمان فعالية ضد أنواع من البكتريا بتخفيف 1: 60 كماأن قشور الرمان لها فعلا تثبيطيا ضد بعض البكتريا والفطريات المرضية(**25**) ،كذلك وجد أن لـلمستخلصات المائية والكحولية للرمان فعالية تثبيطية ضد الفطريات خصوصا *T.rubrum,T.mentagrophytes*،*Trichophyton tonsurans* (**3**) ،ولاحتواء قشور الرمان وشحمه (الاغشية بين الفصوص) وعصارته على كمية عالية من التانينات فأنها تسخدم لعلاج قرح الجهاز الهضمي إذ أن منسوب التانينات العالي يؤدي إلى تغير طبيعة بروتينات الجراثيم وقتلها كما انه يدبغ ظهارة المعدة حيث يرسب بروتينات الطبقة الظهارية فيعمل منها طبقة واقية يقع تحتها بناء النسيج التالف لذا فأنها تستخدم لعلاج قرحة المعدة والأمعاء (**20**).

وبالنظر لكثرة تلوث ثمار التفاح بالفطر ***Aspergillus flavus*** واستخدامها من قبل الناس من ذوي الدخل المحدود في احتياجاتهم من هذه الفاكهة دون ادراك الخطر الصحي من وراء هذا الاستخدام ارتاينا القيام بهذه الدراسة التي تهدف الى :

1-عزل وتشخيص الفطر ***A. flavus*** من ثمار التفاح التي ظهرت عليها اعراض الأصابة به والمتوافرة في الاسواق المحلية في محافظة القادسية .
2-دراسة تاثير راشح الفطر اعلاه على انسجة امعاء الارانب البيضاء.
3-دراسة تاثيرعصير الرمان على انسجة امعاء الارانب المجرعة براشح الفطر اعلاه.

طرائق العمل Methods

1 .عزل الفطر*Aspergillus flavus* من ثمار التفاح .

تم جلب(15) عينة من ثمار التفاح المستوردة والمحلية من الأسواق المحلية و التي ظهر عليها أعراض وعلامات الإصابة بالفطر***A.flavus*** ووضعت في طبق بتري حاوي على هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1.5 % لمدة دقيقتين بعدها تم تحضير قطع صغيرة بطول 2ملم من هذه الثمار(تشمل قشرة الثمرة واللب) نقلت القطع المعقمة إلى أطباق حاوية على ماء مقطر معقم ولمدة دقيقة واحدة ثم نقلت مباشرة إلى أطباق بتري حاوية على ورق نشاف لغرض تجفيفها بعد ذلك زرعت في أطباق قطرها 9 سم حاوية على وسطP.D.A وبواقع أربع قطع عند محيط الطبق وقطعة خامسة في مركز الطبق ،حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25 ±2 مْ لمدة أسبوع وبعد انتهاء مدة الحضن تم تنقية عزلات الفطر بنقل قرص قطره 5ملم من كل مستعمرة وزرع في طبق جديد كررت العملية عدة مرات للحصول على عزلات نقية للفطر ومن ثم تم تشخيصها بالاعتماد على الصفات التشخيصية والمتمثلة بالصفات المظهرية والمجهرية التي أوردها كل من

(26و 19و18.)

2.الكشف عن قدرة عزلات الفطر *A. flavus* على إنتاج الافلاتوكسينات .

تم أعتماد طريقة **(21)** للكشف عن قدرة العزلات الفطرية للفطر اعلاه على انتاج السموم ،حيث استخدم وسط جوز الهند **Coconut Extract Agar (CEA)**)المجهز من شركة Fluka/Switzerland ،أذ صب الوسط في اطباق بتري زرعت عليه اقراص من عزلات الفطر ***A.flavus*** وبقطر 5 ملم وبمعدل خمسة اطباق لكل عزلة ثم حضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة (25 ±2)مْ لمدة اسبوع.

بعدها تم الكشف عن قدرة العزلات النامية من الفطر اعلاه على انتاج الافلاتوكسينات من خلال استخدام محلول الامونيا بتركيز 20 % حيث وضعت اوراق ترشيح مبللة بالامونيا في غطاء الطبق الحاوي على الوسط (CEA) والنامي عليه الفطر ***A. Flavus***،ثم حضنت الاطباق بصورة مقلوبة بدرجة حرارة (25 ±2)مْ لمدة (7 -14)يوم ،عند حوث تغير في لون قواعد المستعمرة من اللون الابيض الى اللون الاحمر فانه دليل على ان العزلة النامية قادرة على انتاج الافلاتوكسينات .

3.اختبار تأثير راشح الفطر *A. flavus* على نسيج الاثنى عشري في الأرانب البيضاء.

لغرض التحري عن قدرة الفطر أعلاه على إنتاج السموم الفطرية تم تهيئة (3) دوارق زجاجية سعة 500 مل وأضيف لكل دورق 300 مل من وسط مستخلص الخميرة السائل وبعد تعقيمها وتبريدها لقح الوسط الزرعي في دورقين منها بأقراص من عزلة الفطر أعلاه في حين ترك الدورق الثالث بدون تلقيح كمجموعة سيطرة.

حضنت جميع الدوارق بدرجة حرارة 25 مْ لمدة (21) يوم و بعد انتهاء مدة الحضن تم فصل الراشح عن مكونات جسم الفطر باستعمال أوراق ترشيح (Milliporefilter) 0.22 ،**(5)**، أخذ الراشح ووضع في قناني زجاجية معتمة ومحكمة الغلق وحفظ في الثلاجة لمدة تتراوح بين (2-5) دقائق وهي فترة غير كافية لحصول تغير كيميائي في محتويات الراشح **(27).**

درست طبيعة التأثيرات لهذه النواتج من خلال تهيئة (36) ذكر من الأرانب البيضاء ذات الأعمار المتماثلة قسمت إلى ثلاثة مجاميع كل مجموعة ضمت (12)حيوان وعوملت كما يأتي:

أ-المجموعة الأولى: تم معاملتها بالنواتج الايضيه للفطر وبثلاث جرع هي(100 ،200 ،300) مايكروليتر/كغم من وزن الجسم وذلك بتجريعها عن طريق الفم وبواقع أربعة حيوانات لكل تركيز.

ب-المجموعة الثانية:عوملت الحيوانات بالوسط الزرعي مستخلص الخميرة السائل بدون أي نمو وبنفس التراكيز والأسلوب المشار إليه في الفقرة أ.واعتبرت معاملة سيطرة أولىA.

ج- المجموعة الثالثة: أعطيت الحيوانات الماء المقطر فقط وبنفس الجرع والأسلوب المشار إليه في الفقرة أ.واعتبرت معاملة سيطرة ثانية B.

تم تجريع جميع الحيوانات بجرعة واحده(من الراشح الفطري أو وسط مستخلص الخميرة أو الماء المقطر) تركت الحيوانات لمدة أسبوعان وتم خلال هذه المدة متابعتها يومياً وملاحظه حركتها وتغذيتها بعد انتهاء المدة المقررة خدرت الحيوانات بمادة الكلوروفورم وشرحت عن طريق فتح التجويف البطني ثم أخذت الأمعاء من الأرانب المقتولة وحفظت في الفورمالين10 % لدراسة التغيرات النسجية فيها **(15).**

حضرت المقاطع النسجية بأتباع طريقة **(14)**

4-أختبارتأثير عصيرثمار الرمان على أنسجة امعاء الحيوانات المعاملة براشح الفطر *A.flavus*

لتنفيذ هذه التجربة تم اتباع الخطوات التالية :

1--تحضير عصير حب الرمان:

تم جلب ثمار الرمان من الاسواق المحلية ووضعت في محلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 1.5 % لمدة دقيقتين بعدها غسلت بالماء المقطر المعقم ،ثم تم ازالة قشور الثمارواخذت الحبوب فقط ووضعت في خلاط كهربائي وخلطت لمدة 15 دقيقة ثم رشح العصير بأستخدام مشبك معدني للتخلص من بقايا الحبوب بعد ذلك اخذ العصير ورشح باستخدام ورق ترشيح Millipore 0.45 بعدها وضع قي قنينة معقمة وحفظ في الثلاجة لمدة تتراوح بين (2 -5) دقائق وهي فترة غير كافية لحصول تغير كيميائي في محتويات العصير(**23**).

2-معاملة الحيوانات براشح الفطر*A. flavus* وعصير حب الرمان

لتنفيذ هذه الخطوة تم اعادة التجربة الواردة في الفقرة (2) مع التحوير الآتي :

تم تهيئة (36) ذكر من الأرانب البيضاء ذات الأعمار المتماثلة قسمت إلى ثلاث مجاميع كل مجموعة ضمت (12)حيوان وعوملت كما يأتي:

أ-المجموعة الأولى: تم معاملتها براشح الفطر أعلاه وبثلاث جرع هي (100 ،200 ،300) مايكروليتر/كغم من وزن الجسم وذلك بتجريعها عن طريق الفم وبواقع أربعة حيوانات لكل جرعةواعطيت نفس المجموعة وبنفس الوقت ونفس الأسلوب ثلاثة جرع من عصير ثمار الرمان وهي (200 ،400 ،800)مايكروليتر/كغم من وزن الجسم .

ب-المجموعة الثانية :أعطيت الحيوانات الماء المقطر فقط وبنفس الجرع والأسلوب المشار إليه في الفقرة أ.واعتبرت معاملة سيطرة اولى A.

ج- المجموعة الثـــــــالثة: أعطيت الحيوانات عصير ثمار الرمان فقط واعتبرت معاملة سيطرة ثانية B.

أيضا تم تجريع الحيوانات بجرعة واحده (من الراشح الفطري وعصير حب الرمان والماء المقطر) تركت لمدة أسبوعان واتبعت نفس الخطوات الواردة في الفقرة (2)من طرائق العمل من حيث متابعة الحيوانات وتشريحها ودراسة التأثيرات النسجية فيها .

النتائج والمناقشة Results and Discussion

1 .عزل الفطر*Aspergillus flavus* من ثمار التفاح واختبار قدرته على انتاج الافلاتوكسينات .

تم الحصول على (15) عزلة من الفطر***A. flavus*** من ثمار التفاح التي ظهرت عليها اعراض الاصابة بالفطر وشخصت هذه العزلات بالاعتماد على الصفات التشخيصية الواردة في(**26 و 19و**18.)

بالنسبة لاختبار قدرة عزلات الفطر اعلاه على انتاج الافلاتوكسنات فقد أظهرت نتائج الفحص ان 13 عزلة أي بنسبة (86 %) من العزلات لها القدرة على انتاج الافلاتوكسينات جدول (1) وهذه نسبة عالية جدا اذا ماقورنت بنتائج دراسة **(2)** حيث بلغت نسبة قابلية عزلات الفطر ***A. flavus*** المعزولة من فستق الحقل والذرة الصفراء (30.8 %) في حين ذكر (4) ان 80 % من عزلات الفطر ***A. flavus*** المعزولة من الفواكه المجففة تنتج الافلاتوكسينات .

جدول (1) عزلات الفطر *A. flavus* المنتجة وغير المنتجة للافلاتوكسينات

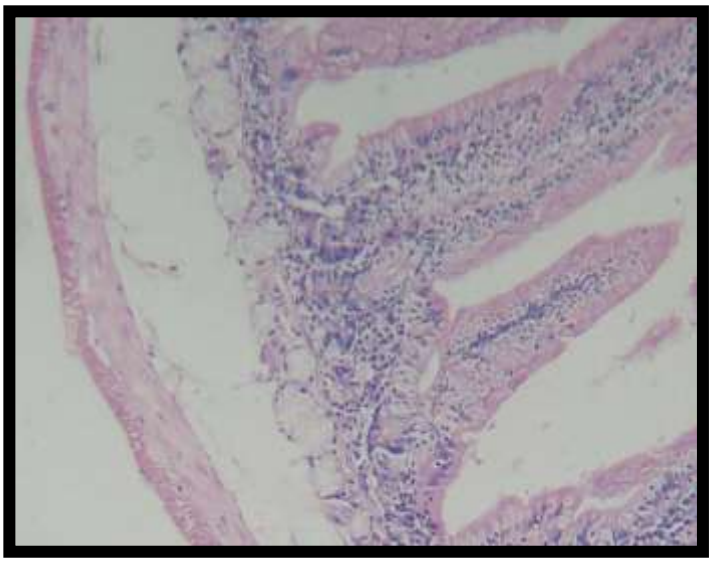
رمز العزلة	القدرة على إنتاج الافلاتوكسينات
Af .1	+
Af .2	+
Af .3	+
Af .4	-
Af .5	+
Af .6	+
Af .7	+
Af .8	+
Af .9	+
Af .10	+
Af .11	-
Af .12	+
Af .13	+
Af .14	+
Af.15	+

Aspergillus flavus = Af **،+ =عزلة منتجة للافلاتوكسينات ،- =عزلة غير منتجة للافلاتوكسينات.**

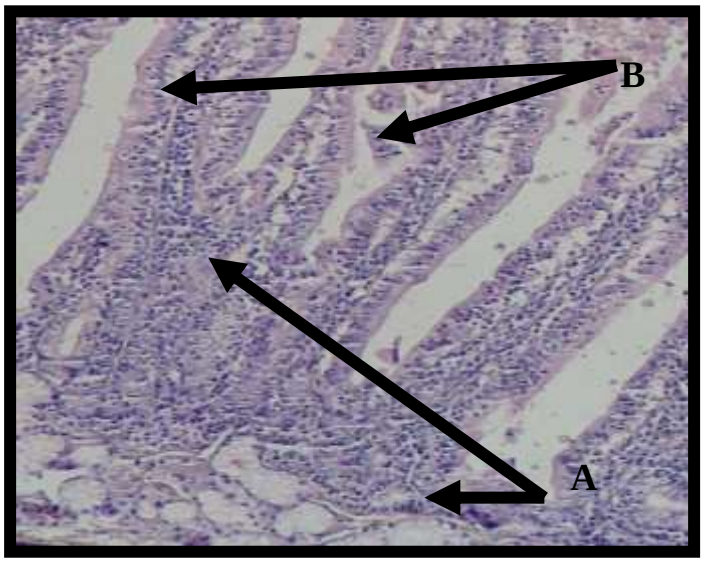
2.اختبار تأثير راشح الفطر *A. flavus* على نسيج الاثنى عشرى فى الأرانب البيضاء.

اظهرت نتائج هذه الدراسة ان الراشح الفطري لعزلة الفطر ***A. flavus*** المنتجة للافلاتوكسينات سبب تاثيرات واضحة وبدرجات متفاوتة حسب الجرعة المستخدمة على نسيج الامعاء في الحيوانات المعاملة به،اذ ادت الجرعة 100 مايكروليتر/كغم الى تجمع بؤري لخلايا التهابية (Focal Aggregate Inflammatory cells) من نوع (Mast cells) داخل زغابات الاثني عشري وانتفاخ لخلايا الزغابات (صورة 2) وأدت ا الجرعة 200مايكروليتر/كغم الى حصول تجمع بؤري للخلايا الالتهابية وانتفاخ خلايا الزغابات وتنخر خلوي (Necrosis) وأحتقان وعائي Vascular congestion في الطبقة المخاطية (صورة 3) اما الجرعة 300 مايكروليتر/كغم فكانت اكثر تاثيرا من الجرعتين السابقتين اذ ادت الى حصول أحتقان وعائي في الطبقة المخاطية وتحلل وتساقط تام للزغابات (صورة 4) في حين لم تلاحظ أي تأثيرات في مجموعتي السيطرة (صورة 1).

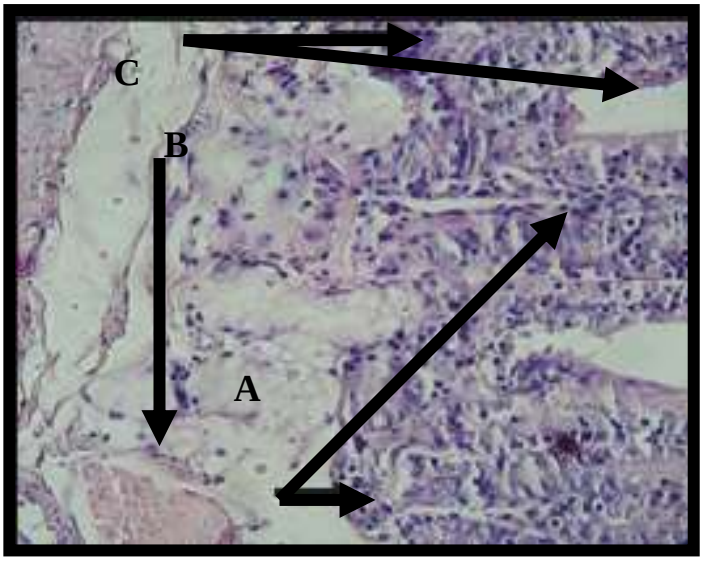
وقد تعزى هذه التأثيرات إلى أن الفطر ***A.flavus*** له القدرة على انتاج السموم الفطرية المعروفة بالافلاتوكسينات وخاصة B1 وB2 والتي عرفت بتأثيراتها على الأنظمة الحيوية للمستهلك عند تواجدها في الأغذية **(6)**،إذ تؤثر الافلاتوكسينات على الغشاء البلازمي للخلية مؤديةإلى فقدان خاصية النفاذية الاختيارية للغشاء وهذا يعلل سبب نضوح الماء من داخل الخلايا المعوية وانحلالها ،اوقد ترتبط السموم الفطرية بالانزيمات التي تشترك في نقل الالكترونات في السلسلة التنفسية مما يؤدي الى تثبيط عملها وتقليل كمية الاوكسجين الواصلة الى الخلايا ومن ثم موت تلك الخلاياوتحللها **(8)** كما ان للافلاتوكسينات تاثيرات على الجينات والاستنساخ وبناء الاحماض الامينية وبالتالي تثبيط عملية تصنيع البروتين وتحلل الخلايا **(24)** وتتفق نتائج البحث هذا مع ماتوصلت اليه **(2)** اذ اشارت الى ان الراشح الفطري للفطر ***A. flavus*** المعزول من فستق الحقل والذرة قد تسبب في سقوط زغابات الجزء الامامي من الامعاء وتجمع لخلايا التهابية داخل الزغابات .



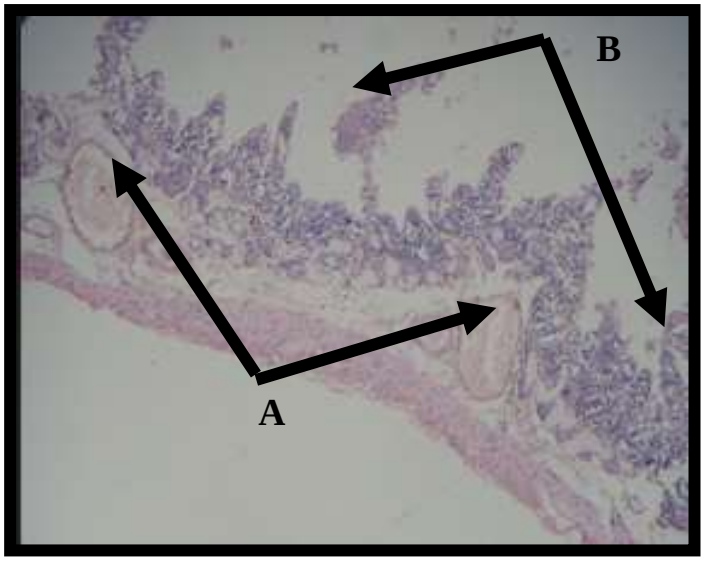
صورة (1)مقطع عرضي في الاثنى عشري للارانب ،يظهر التركيب الطبيعي للاثني عشري (مجموعة السيطرة)



صورة (2)مقطع عرضي في الاثنى عشري للارانب المعاملة ب100 مايكروليتر /كغم من الراشح الفطري للفطر *A.flavus*
A.:تجمع الخلايا الالتهابية داخل الزغابات .
B :انتفاخ خلايا الزغابات



صورة (3)مقطع عرضي في الاثنى عشري للارانب المعاملة ب200 مايكروليتر /كغم من راشح الفطر *A.flavus* .
A:تجمع الخلايا الالتهابية داخل الزغابات .
B: احتقان وعائي .
C: تنخر خلوي (Necrosis).



صورة (4)مقطع عرضي في الاثنى عشري للارانب المعاملة ب300 مايكروليتر /كغم من راشح الفطر *A.flavus*
A: احتقان وعائي
B:تحلل وتساقط الزغابات .

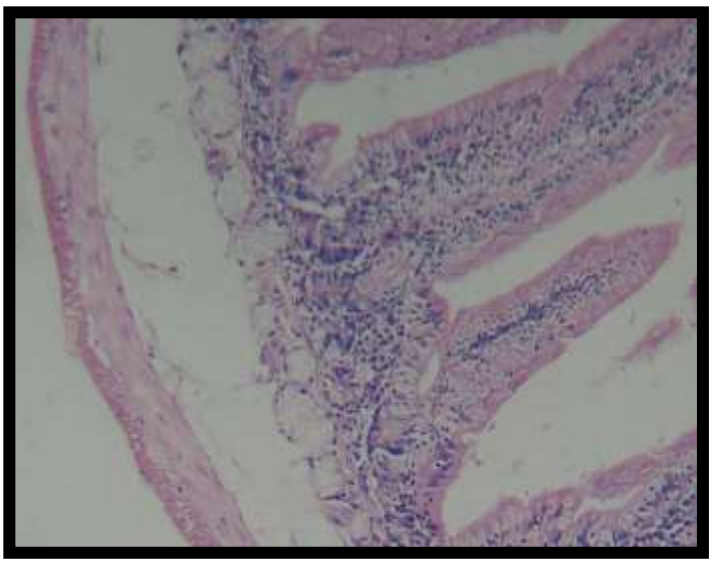
3.معاملة الحيوانات براشح الفطر*A. flavus* وعصير حب الرمان .

فيما يخص معاملة الحيوانات بعصير حب الرمان بعد معاملتها براشح الفطر ***A.flavus*** فقد اظهرت نتائج الدراسة ان عصير حب الرمان بكافة الجرع المستخدمة ادى الى خفض التاثير السمي للراشح الفطري وكان تاثير العصير يزداد بزيادة الجرعة المستخدمة حيث ان الجرعة 200 مايكروليتر/كغم منعت انتفاخ خلايا الزغابات التي سببها الراشح الفطري عند تجريعه للحيوانات

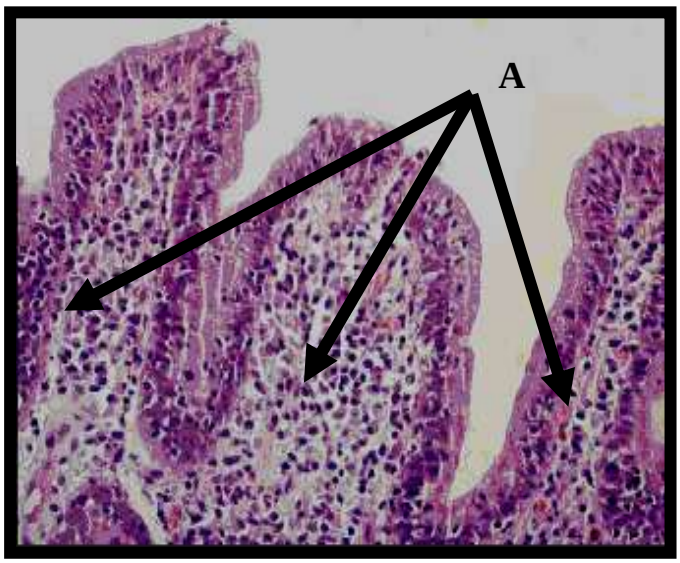
بجرعة مقدارها 100 مايكروليتر /كغم في حين بقيت الخلايا الالتهابية متجمعة داخل الزغابات(صورة 2) اما الجرعتين (400 و 800) مايكروليتر/كغم من العصير فقد منعت كافة التاثيرات التي سببها الراشح الفطري عند تجريعه للارانب بجرع مقدارها 200 و400مايكروليتر /كغم.(الصور 3 و4).

أن هذا التاثير الايجابي لعصير حب الرمان قد يكون ناتجا عن قدرة المركبات التي يحتويها مثل قلويد p unicine ، وقلويد isopelletierine وقلويد pelletierine ethyl وقلويد methylgrantanine (28) لها القابلية على الارتباط بالسم الفطري ومنعه من التاثير على نسيج الاثني عشر في الحيوانات المعاملة به ،كما اشار (22)الى ان عصير الرمان يحتوي على نسبة عالية من الاملاح والفيتامينات وخاصة فيتامين Cو B فقد تشترك هذه المركبات مع السموم الفطرية محولة اياها الى مركبات عديمة الفعالية ويعرف هذا التفاعل بالتحوير البيولوجي(Bio-Mediation) **(28)** ، كما أن شراب الرمان ونقيع ومسحوق القشور والساق والجذور يستخدم في علاج الاسهال والدزنتري لانه يعمل على تغير طبيعة بروتينات الأمعاء ويقلل من ارتشاح السوائل فضلاً من انه يقتل الجراثيم ويدمص السموم الجرثومية **(13 و9)**.ولاتوجد دراسة مماثلة لدراستنا من حيث استخدام الرمان كمستحضر نباتي في الحد من تاثيرات السموم الفطرية ليتسنى لنا مقارنة نتائجنا معها ،ولكن هناك مستحضر يدعى التيوترتيوكس وهو المستحضر الأمثل الذي أثبت فعالية واضحة للوقاية من مشاكل السموم الفطرية وهوغير متوافر في المنتجات المتاحة حاليا ويتكون المستحضر من مجموعة انزيمات وإفرازات بيولوجية مركزة وهي نواتج عملية تخمير بيولوجي متقدمة (L from Fermentation Technology)**(1).**

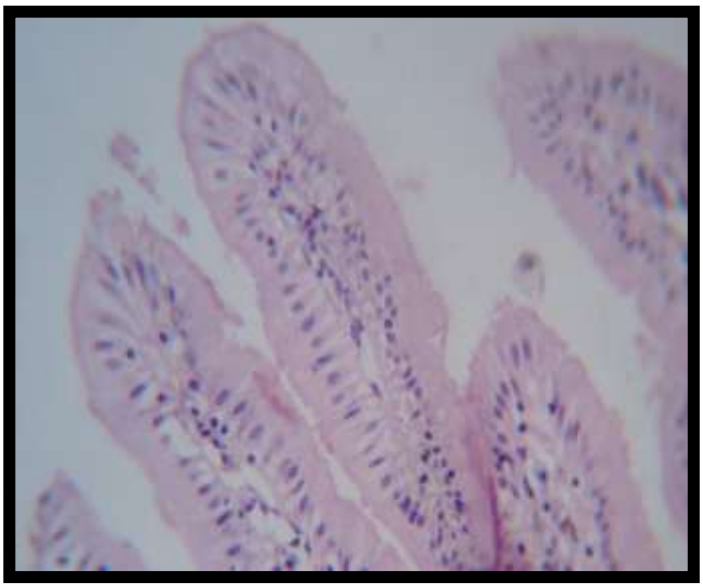
وبهذا نستنتج من دراستنا هذه ان لعصير حب الرمان فعالية عالية في الحد من تأثير السموم الفطرية عند تواجدها في الغذاء وممكن استخدامه في هذا المجال كمستحضر طبيعي فعال وذو نتائج مضمونة دون أن يترك آثارا جانبية على المستهلك .



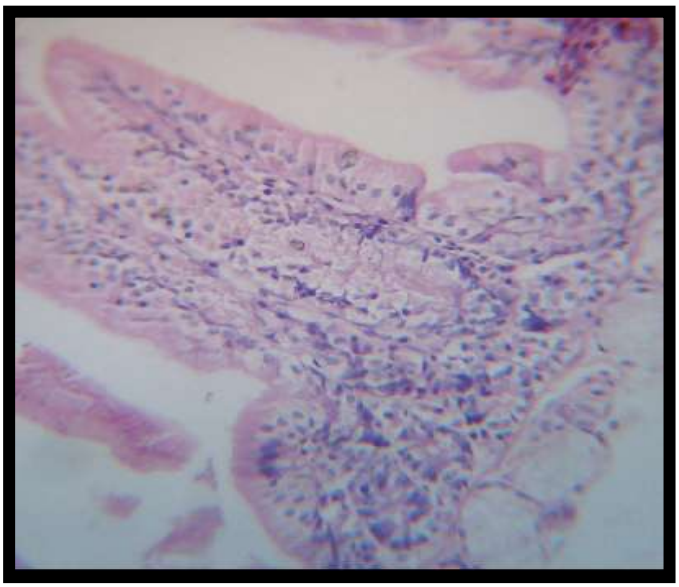
صورة (1) مقطع عرضي في الاثنى عشري للارانب ،يظهر التركيب الطبيعي للاثني عشري (مجموعة السيطرة)



صورة (2) مقطع عرضي في الاثنى عشري للارانب المعاملة ب100 مايكروليتر /كغم من الراشح الفطري للفطر *A.flavus* +200 مايكروليتر/كغم من عصير حب الرمان.
A:تجمع الخلايا الالتهابية داخل الزغابات .



صورة (3) مقطع عرضي في الاثنى عشري للارانب المعاملة ب100 مايكروليتر /كغم من الراشح الفطري للفطر *A.flavus* +400 مايكروليتر/كغم من عصير حب الرمان.يظهر التركيب الطبيعي للأثنى عشري



صورة (4) مقطع عرضي في الاثنى عشري للارانب المعاملة ب100 مايكروليتر /كغم من الراشح الفطري للفطر *A.flavus* +800 مايكروليتر/كغم من عصير حب الرمان. يظهر التركيب الطبيعي للأثنى عشري

المصـــــــــادر References

المصادر العربية

1-أبو بكر، صديق سالم، نبيل ،محمود عبد المنعم (1989): "التلوث، المعضلة والحل "، مركز الكتب الثقافية- بيروت.

2 -الجنابي ،بيداء عبود حسن (2009) دراسة التاثيرات السمية للفطر ***Aspergillus flavus*** في بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية والنسيجية لدى اناث الجرذ الابيض وامكانية السيطرة على الاضرار الناجمة عنها. رسالة ماجستير-كلية العلوم- جامعة الكوفة.

3 -الجنابي ،علي عبد الحسين صادق (1996) تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الانسان . رسالة ماجستير ، كلية العلوم الجامعة المستنصرية .

4 -الورشان ،سالم حسن واسماعيل عباس الدليمي وكمال برزان ندا (2002) التحري عن الفطريات السامة الملوثة للفواكه المجففة في الاسواق المحلية .مجلة القادسية –العلوم الصرفة ،المجلد7 ،العدد 1 .صفحة 7.

5 -الربيعي،عبير فوزي مراد.2007) التاثيرات السمية للفطرين ***Penicillium italicum*** و***Penicillium digitatum*** في بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية والنسجية لذكور الجرذ الابيض وامكانية السيطرة عليهما في المخزن.اطروحة دكتوراه.كلية العلوم –جامعة بابل.

6 -توفيق ، سعد محمد شادى (1998) "السموم الفطرية ومشاكل العصر الصحية والغذائية "، نشرة فنية رقم (4) صدرت عن الإدارة العامة للثقافة الزراعية- وزارة الزارعة -مصر.

7 -مجدى ، محب الدين محمد سعد (1991) "السموم الفطرية-مشكلة زراعية-بيئية-صحية "، الهيئة المصرية العامة للكتاب، القاهرة.

8 - مصطفى ، نوار ورشاد ،الناطور (2004) الميكوتوكسينات والتسمم الميكوتوكسينى فى الإنسان والحيوان. الطبعة الأولى- عمان- الجامعة الأردنية.

9 -سعدي ، شكري ابراهيم والقاضي ، عبدالله وصالح ، عبد الكريم محمد (1988) النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي –جامعة الدول العربية المنظمة العربية للتنمية الزراعية –الخرطوم ص59-61 .

10 -عبد الحميد ،محمد عبد الحميد (1998) "الفطريات والسموم الفطرية" ، دار النشر للجامعات-القاهرة

11 -غارنوار، ايريس . (1976) الغذاء والتغذية . ، دار المطبوعات الجديده- الاسكندرية ، مصر . ص 481-500 .

12 -قطب ،حسين و فوزي ، طه . (1981).النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها ، دار المريخ للنشر –الرياض ص31.

المصادر الأجنبية

13-Abbas, H. K., Shier, W. T., Gronwald, J. W., and Lee, Y. (2002) Comparison of phytotoxicity and mammalian cytotoxicity of nontrichothecene mycotoxins. J.Nat.Toxins. 11(3), 173-186.

14-Bancroft,J.D.and Stevens, A.(1982).Theory and Practice of histological technique. Churchill Living stone, New York.pp,117. **15-Brown,B.A.(1976)**.Principles and procedure.2nd ed.,Lea and Febiger .Philadelphia.New York.pp,78.

16-Claus , E.P.(1995). Gathercoal and Wirth Pharmacognosy ,Henry Kimpton , Pennsylvania p.432 .

17-David,A.M.,(2009).Effect of *Allium sativum* (Garlic) in prevention of Mycotoxicosis in rats.MED .J.Amercan.No.34.(4):23-30.

18-David,E.(2008). Compendium of Soil,.Academic,Press,London.,UK,PP :12-45.

19-DeHoog,G.S.;Guarro,J.and Figueras,M.(2000). Atals of clinical fungi,2ed.. Centra alburea voors chemical culture,Netherland.PP:32-34.

20-Gharzouli , K. , Khennouf , S. , Amira , S.(1999). Effect of aqueous extracts from Quercus ilex L. root bark , *Punica granatum* L. fruit peel and Artemisia herba-alba leaves on ethanol-induced gastric damage in rats . Phytother .Res. ,13 ,42-45 .

21-Hammond ,W.C.(1991).Techniques used to ammoniate aflatoxin contaminated corn in the field .Aflatoxin in corn new perspectives ,North Regional Research Publication 329,Research Bulletin 599 ,Iowa state University ,377-382 pp.

22-Kruse , M.V. and Mahan ,L.K.(1989). Food , nutrition and diet therapy , A textbook of nutritional care , 7th ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia 1984 p.850-977.

23-Mansouri ,S.;Foroumadi ,A.;Ghaneie ,T. and Najar ,A.G.(2001) Antimicrobial activity of crude extracts and fractionated constituents of Myrtus communis formercy international journal of pharmacology ,30(5):399-401.

24-Martello,N.(2006). Mycotoxins list (Articals).Biological decontaminant resource center .United States.pp,12-45.

25-Moneam , N.M. ,el-sharaky , A.S. and Badreldin , M.(1988). Estrogen content of pomegranate seeds . J.Chromatogr 1988, 438 (2) 438-442.

26-Moubasher,A.H.(1993). Soil fungi in Qatar and Other Arab Countries.1st .ed. The Scientific and Applied Research Center University of Qatar.

27-Stocks, E.J. and Ridgway, G. (1987) Handling Clinical Specimens for Microbiology Studies. (5th ed). Churchill Livingstone Edinburgh. p: 173-201

28-Watt , J.M.and Breyer-Brandwijk ,M.G.(1962). The medicinal and poisons plants of southern and eastern Africa . E. and S. Livingston Ltd. Edinburgh and London 1962 pp875-876 .