دراسة التاثيرات السمية لأيض الفطر *Bipolaris holmii* في بعض الانظمة الحيوية لذكور الجرذ الابيض

أ. د. سامي عبد الرضا **م. سعاد وحيد كاظم**

كلية العلوم – جامعة الكوفة **كلية العلوم – جامعة الكوفة**

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة التعرف على امكانية انتاج الفطر *Bipolaris holmii* للسموم الفطرية وذلك من خلال دراسة تأثيرا ته في النظم الحيوية لذكور الجرذ الأبيض .اذا اثبتت النتائج ان الفطر ينتج مركب سام واحد ذو طبيعية فينولية مكون اساسا من حلقة فينول مع مجموعة مثيل الديهايد وهذا المركب السام تسبب في احداث تاثيرات في معايير الدم الفسلجية من خلال رفع اعداد كريات الدم البيض في دم الحيوانات المعاملة بالجرعة 1 ملغم /كغم الى(4900) كرية / ملم3 ، وخفض معدل كمية الهيموكلوبين الى (10.4) غم/100 مل . وتسببت هذه الجرعة في رفع معدل انزيمي GPT و GOTالى (33 و31.2) وحدة دولية/لتر على التتالي. في حين بلغت اعداد كريات الدم البيض (7833.3) كرية / ملم^3 عند الجرعة (10 ملغم /كغم بمعدل كمية الهيموكلوبين (7.9) غم /100 مل ، وكذلك احدث ارتفاع في كلا الانزيمين السابقين الى (70.3 و 69.3) وحدة دولية/لتر على التتالي مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغت فيها اعداد كريات الدم البيض وكمية الهيموكلوبين ومستوى الانزيمين (3100) كريه/ملم3 و (13) غم /100 مل و (7.7 و 6.4) وحدة دولية/لتر على التتالي ورافق زيادة الجرعة المعاملة بها الحيوانات انخفاض في حجم كريات الدم المضغوط حيث بلغت (46)% في الجرعة (1) ملغم/كغم . اما بالنسبة للجرعة الاخيرة (10) ملغم / كغم فبلغت (40.33) % مقارنة مع معاملة السيطرة (47)% .

المقدمة

و تتعرض الحبوب للأصابة ببعض انواع الفطر *Penicillium* مما يتسبب في تلوثها بالعديد من السموم الفطرية منها سموم الرز المصفر Yellowed rice toxins و citrinin و Citrio Virdin وغيرها من السموم التي تتسبب في احداث العديد من الأمراض والعلل للإنسان كاضطرابات الجهاز العصبي وجهاز الدوران وتلف الكبد والكلى وغيرها ، كذلك الحال بالنسبة للعديد من الأنواع التابعة لبقية الأجناس التي تصيب حبوب المحاصيل المختلفة . فحبوب الحنطة هي الأخرى تتعرض للأصابات الفطرية ولاسيما الأنواع التابعة لجنس *Aspergillus* ويأتي في مقدمتها الفطرين *A. flavus* و *A. niger*والأول يعتبر من أهم الفطريات المنتجة للافلاتوكسينات وخاصة $Aflatoxin\ B_1$ و $Aflatoxin\ B_2$اللذان يعتبران من أشد المركبات الحيوية سمية للأنظمة الحيوية المختلفة في الأنسان والحيوان و يؤثر هذين الفطرين اعلاه في حيوية الحبوب ويقللان من نسبة الانبات (Cocker *et al.* ,1984) .

المواد وطرائق العمل

اولاً : تنمية الفطر *B. holmii* على حبوب الرز ووسط مستخلص البطاطا

تم تهيئة (5) كغم من حبوب الرز السليمة قدر الامكان من الاصابة بأي نوع فطري بعدها وزعت هذه الكمية على عشرة دوارق (حجم 1 لتر) وبمعدل (500) غم لكل دورق بعدها عقمت بدرجة حرارة 121 م^0 وضغط (1) جو لمدة (20) دقيقة بعدها بردت ولقحت ثمانية دوارق بخمسة اقراص من وسط PDA المنمى عليها الفطر *B. holmii* وبعمر أسبوع واحد لكل دورق بعدها حضنت لمدة ثلاثة اسابيع تحت درجة حرارة 25±2م° . كما تم تنمية الفطر ***B. holmii*** على وسط مستخلص البطاطا PDB والمحضر وفقاً لما موضح في الفقرة (2.2.2.3) ولمدة ثلاثة اسابيع ايضاً وتحت نفس درجة الحرارة المشار اليها في اعلاه وتركت نفس الكميات من الرز السليم ووسط PDB بدون تلقيح بالفطر ***B. holmii*** للمقارنة .

ثانياً : تأثير المركبات الفينولية للفطر *B. holmii* والناحبوب الرز ووسط مستخلص البطاطا في بعض المعايير الفسيولوجية و الكيموحيوية والنسجية لذكور الجرذ الابيض.

بناءً على نتائج الاختبار الوارد في (3-2-7-1-1-1) التي اشارت بوضوح الى قدرة عزلة *B. holmii* على افراز منتجات ايضية سامة في الانظمة الحيوية لذكور الجرذ الابيض ولتحديد طبيعة هذه المركبات السامة، تم اجراء الاختبارات الاتية:-

ثالثاً : استخلاص المركبات الفينولية الخام:

تم استخلاص المركبات الفينولية وفقاً لما جاء في طريقة O'Connell and Fox (2001) وذلك بأخذ (5) كغم من حبوب الرز (الشلب) المصابة بالفطر *B. holmii* وجففت العينات بفرن كهربائي بدرجة حرارة 40م°، وبعدها تم اختيار 100 غم من هذه الكمية عشوائياً في دورق زجاجي سعته 500 مل واضيف اليها 400 مل من حامض الهيدروكلوريك HCL بتركيز 2% تم استخلاص المركبات الفينولية باستعمال المكثف العاكس Reflex condenser واستعمال حمام مائي بدرجة حرارة 100م° لمدة ساعة وبعد انتهاء عملية الاستخلاص ترك المحلول ليبرد ثم رشح بورقة ترشيح Whtman No.1 ووضع الراشح في قمع الفصل واضيف اليه حجم مساوي من البروبانول N-propanol -Nحيث تكونت طبقتان عزلت الطبقة العليا الحاوية على المركبات الفينولية وركزت بالمبخر الدوار، وجففت بعد ذلك في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 40م° ثم وزنت وحفظت في الثلاجة لحين استعمالها في دراسة فعاليتها البايلوجية في ذكور الجرذ الابيض، كررت هذه العملية عدة مرات لحين الحصول على كميات مناسبة من الفينولات.اما استخلاص المركبات الفينولية من وسط مستخلص البطاطا PDB فتم عن طريق أخذ 250 مل من الوسط واضيف اليها الحجم نفسه من البروبانول N-propanol حيث تكونت طبقتان عزلت الطبقة العليا الحاوية على المركبات الفينولية وركزت بالمبخر الدوار جففت بعد ذلك في الفرن بدرجة حرارة (40)م° ثم وزنت وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال كررت هذه العملية واستعمل كاشف كلوريد الحديديك للتاكد من ان المادة المستخلصة هي الفينولات اذ ان تحول لون الكاشف الى الاصفر او الاخضر عند اضافة 2 مل منه الى 5 مل من المستخلص يدل على وجود الفينولات. لغرض التاكد من خلو حبوب ووسط مستخلص PDB من ا لمركبات الفينولية ،فقد اجريت نفس الخطوات الا ستخلاص السابقة.

رابعاً : فصل المركبات الفينولية السامة:-

استعملت تقنية Thin layer Chromatography (TLC) في فصل المركبات الفينولية وذلك بأخذ (0.1)غم من الفينول الخام واذابتها في 5مل من كحول الميثانول، بعدها اخذ (20) مايكروليتر من المحلول بواسطة انبوبة شعرية (Capliary tube) نظيفة لم يسبق استعمالها من قبل ووضعت هذه الكمية على هيئة بقعة على صفيحة (TLC) المطلية بمادة السليكاجل (Silica gel 60) وبمسافة (2) سم من الحافة السفلية للصفيحة وهكذا كررت هذه العملية للمحلول الفينولي بما فيها معاً السيطرة التي وضعت أولاً على الجانب الايسر من الصفيحة ثم المحاليل الفينولية المختبرة الاخرى مع ترك مسافة مقدارها (1.5)سم بين بقعة واخرى، بعدها وضعت صحيفة السليكاجل في حوض الفصل (Tank) حاويا على 100مل من نظام الفصل المكون من (98%) كلوروفورم و (2%) ميثانول (2:98)، وبعد وصول نظام الفصل (الطور المتحرك) الى ماقبل (2) سم من حافة الصفيحة العليا اخرجت هذه الصفيحة من حوض الفصل وتركت لتجف بعدها حددت مواقع المركبات المفصولة بوضع الصحيفة تحت مصباح الاشعة فوق البنفسجية بطول موجي (365) نانوميتر من خلال الالوان الظاهرة تحت الاشعة، و تم قياس معامل التحرك (Relative flow)(Rf) المفصولة بحسب المعادلة الاتية:

$$\text{معامل التحرك} = \frac{\text{المسافة التي تقطعها البقعة}}{\text{المسافة التي يقطعها نظام الفصل}} \times 100$$

حيث ان البقعة الواحدة ممكن ان تتكون من اكثر من مركب واحد وفي هذه الحالة تنفصل المركبات عن بعضها وتظهر تحت الاشعة بصورة بقع متألقة تأخذ مواقع مختلفة على الصفيحة، اما اذا كانت البقعة التي تحتوي على مركب واحد فتظهر بقعة واحدة متألقة تحت الاشعة، كذلك حددت المركبات وتم تعليمها من خلال احاطة كل مركب بدائرة بأستعمال قلم تعليم خاص، واستبعدت المركبات الفينولية المتطابقة من حيث اللون ومعامل التحرك لمثيلاتها من مركبات الفينولية والمستخلصة من حبوب الرز ووسط (PDB) السليم، وتم التركيز على المركبات الفينولية المفصولة والتي لا يتطابق مع المركبات الفينولية المفصولة من حبوب الرز السليمة ومعاملة السيطرة والمتمثلة بوسط (PDB) بعدها تم قشط كل بقعة على حدة بواسطة شفرات حادة وكررت عملية الفصل مرات عدة لحين الحصول على كمية (1) غم من السيلكا الحاوية على المركب الفينولي، ثم وضعت في انابيب اختبار نظيفة واضيف اليها (2) مل من الكلوروفورم ورجت جيدا ووضعت في حمام مائي بدرجة حرارة (40) م° لمدة نصف ساعة بعدها عرضت للنبذ المركزي بسرعة (3000) دورة /دقيقة لمدة ربع ساعة كررت هذه العملية لترسيب السيلكا، اخذ الراشح في كل مرة واهمل الراسب وكررت هذه العملية مرات عدة لحين الحصول على كمية مناسبة من المركب النقي، حفظ الناتج في قناني معقمة وحفظ في الثلاجة لحين اجراء التجارب اللاحقة عليه. (Trucksess and Tang, 2001). حيث تم الحصول على مركب فينولي واحد فقط .

خامساً : اختبار الفعالية السمية للمركبات الفينولية المفصولة.

تم تهيئة (15) حيوان من ذكور الجرذ الابيض وبعدها جرعت بتراكيز الاتية (0، 1، 3، 5،10) ملغم/كغم من المركب الفينولي المنقاة بعد إذابة كل تركيز بـ (3) مل ماء مقطر معقم واعطيت للحيوانات كجرعة واحدة عن طريق الفم ولثلاثة حيوانات لكل تركيز (مكررات)، بعدها تركت الحيوانات لمدة اسبوع وتم خلال هذه المدة مراقبة الحالة الصحية للحيوانات المجرعة وتسجيل العلامات والاعراض الممكن ظهورها على تلك الحيوانات بعد انتهاء المدة تم التضحية بالحيوانات بعد ان خدرت بمادة الكلوروفورم وشرحت عن طريق فتح التجويف البطني وتم سحب الدم عن طريق طعنة القلب Heart puncture، وضع قسم من الدم المسحوب في انابيب اختبار بيضاء نظيفة ومعقمة خالية من مادة مانعة التخثر (EDTA) والقسم الاخر وضع في انابيب اختبار حاوية على مادة (EDTA)، لاجراء فحوصات الدم الفسيولوجية والكيموحيوية، ثم اخذت اعضاء الكبد والكلى والامعاء وحفظت في الفورمالين 10% ودرست نفس المعايير الفسلجية والنسيجية (1976، Brown).

سادساً : التشخيص الدقيق للمركبات الفينولية النقية التي اثرت في النظم الحيوية لذكور الجرذ الابيض .

للوصول الى طبيعة التركيب الكيميائي للمركب الفينولي النقي والتي اثر في النظم الحيوية لذكور الجرذ الابيض، تم اخضاع هذا المركب لسلسلة من الاختبارات وبما يأتي:-

أ. تحديد درجة الذوبانية للمركب الفينولي المفصول (المنقاة):-

تم تحديد قابلية المركب المفصول على الذوبان في سبع مركبات عضوية هي الايثانول، والميثانول، الكلوروفورم، الهكسان، خلات الايثل والاستون وحامض الخليك، وذلك بأخذ (1) ملغم من المركب واضيف اليه (2.5) مل من المذيب في انبوبة اختبار، رج المزيج جيداً وتمت ملاحظته عيانياً لتحديد مدى قابليته على الذوبان في هذه المذيبات (أمير واخرون، 1988).

ب. تحديد المجاميع الفعالة للمركب المفصول بأستعمال اطياف الاشعة تحت الحمراء (FTIR).

اتبعت طريقة امير وآخرون (1988) حيث سجلت اطياف الاشعة تحت الحمراءForrear Trasformar Infra Red (FTIR) باستعمال جهاز Shimadzu(FTIR) test Scan وباستعمال أقراص بروميد الاثيديوم (KBr) في قسم الكيمياء، كلية العلوم/جامعة الكوفة.

ج. تحليل عناصر المركب الفينولي المفصول (حساب نسبة C, H,N,S)

تم تعيين نسبة العناصر (CHNS) للنماذج باستعمال جهاز Eurvector, EV 3000 Italy في كلية الصيدلة/ جامعة الكوفة وبأتباع طريقة امير وآخرون، (1988).

د. تحديد الصيغة التركيبية المحتملة للمركب الفينولي المدروس.

تم تحديد الصيغة التركيبية المحتملة للمركبات الفينولية بالاعتماد على مصادر الكيمياء العضوية لكل من Sliverstein (1996) و Kalsi (2005) .

النتائج والمناقشة

1. التحري عن الفعالية السمية للمركبات الفينولية للفطر *B. holmii* والنامي على حبوب الرز و وسط مستخلص البطاطا في ذكور الجرذ الابيض:

1.1 تنقية وفصل المركبات الفينولية:

اظهر الكشف الكيميائي للمركبات الفينولية المستخلصة من حبوب الرز المصابة بالفطر*B. holmii* وكذلك وسط مستخلص البطاطا المنمى عليه الفطر ذاته ، وجود مركب فينولي واحد فقط وظهر تحت الاشعة فوق البنفسجية (طول موجي 360 نانوميتر) بلون ازرق مصفر وله معامل ترحيل يبلغ (38)%. وتعد طريقة فحص كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من الطرق المستعملة في التشخيص النوعي والتنقية لعدد كبير من المركبات من ضمنها السموم والانزيمات والمركبات القلويدية والفينولية على اساس قيم معامل التحرك فكل قيمة تعمل على حصر المركب ضمن مجموعة من القلويدات او الفينولات فمثلاً عندما تكون قيمة معامل التحرك تساوي (38)% فهذا يعني ان المركب الفينولي المستخلص ضمن مجموعة (AcetopHenonen) وأذا كانت القيمة مساوية (54)% فهذا يعني ان المركب الفينولي المستخلص ضمن مجموعة (PHenyl propanoid)
(Cowan and Steel , 1975).

2 .1 أختبار الفعالية السمية للمركب الفينولي المفصول

أ- المعايير الفسلجية والكيموحيوية:

احدث المركب الفينولي للفطر *B. holmii* تأثيرات معنوية ($P\leq0.05$) اشد من تأثيرات الراشح الفطري في معايير الدم الفسلجية من خلال رفع اعداد كريات الدم البيض وخفض معدل الهيموغلوبين ، وكان لزيادة الجرعة المعامل بها الحيوانات المختبرية اهمية معنوية في زيادة التأثيرات السمية للفينولات المستخلصة من حبوب الرز غير المقشر . اذ تسببت الجرعة (1) ملغم/كغم في رفع معدل اعداد كريات الدم البيض الى (4900) كرية/ملم^3 ، وخفض معدل كمية الهيموغلوبين الى (10.4) غم/100مل. و تسببت هذه الجرعة في رفع معدل انزيمي GPT وGOT الى (33 و31.2) وحدة دولية/لتر على التتالي . في حين بلغت اعداد كريات الدم البيض (7833.3)كرية/ملم^3 عند الجرعة (10) ملغم/كغم ومعدل كمية الهيموغلوبين (7.9)غم/100مل وكذلك أحدث ارتفاع في مستوى أنزيمي GPT و GOT الى (70.3 و 69.3) وحدة دولية/لتر على التتالي ، مقارنة مع معاملة السيطرة والتي بلغت فيها اعداد كريات الدم البيض وكمية الهيموغلوبين ومستوى الانزيمين (3100) كرية/ملم^3 و (13) غم/100مل و (7.7, 6.4) وحدة دولية/لتر على التتالي .(جدول1).ورافق زيادة الجرعة المعاملة بها الحيوانات المختبرية انخفاض في حجم كريات الدم المضغوط حيث بلغت (46)% في الجرعة الأولى (1ملغم/كغم) أما بالنسبة للجرعة الأخيرة (10)ملغم/كغم فبلغت (40.33) %مقارنة مع معاملة السيطرة (47)% . تشابهة هذه الدراسة مع النتائج التي توصل اليها كل من Benkerroum and Elarkai (2001) في دراستهما للسموم المنتجة من الفطر *Penicillium* spp كالأكروتوكسين A و(Ochratoxin-A) وحامض البنسلين (Penicillic acid) والتي توصلت الى ان لهذه السموم تأثير في معايير الدم الكيموحيوية مسببة خفض أو رفع مستوى البعض منها . وأشار كلٌ من (2000) و Bondy and Pestka الى أن الترايكوثيسنات رفعت مستوى أنزيمي GOT و GPT وأن هذه الزيادة جاءت نتيجة لأمتلاك تلك السموم خواصاً سمية لمعظم خلايا الجسم ولاسيما خلايا الكبد مسببة أرتفاع مستوى الأنزيمين أعلاه .

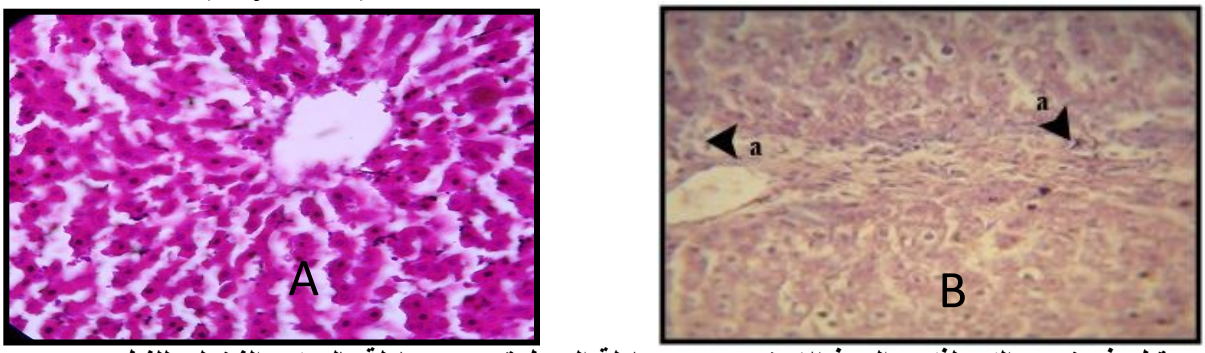
وتتماشى هذه الدراسة أيضا مع دراسة حديثة أثبتت قدرة الفطرين *G. candidum* و *G. penicillatum* على انتاج اربعة مركبات فينولية سامة هي Gc toxin A وGc toxin B و Gp toxin A وGp toxin B وهذه المركبات تسببت في احداث أنحرافات في العديد من معايير الدم الفسلجية والكيمو حيوية لذكور الجرذ الابيض حيث تسببت الجرعة (1)ملغم/كغم في رفع معدل كريات الدم البيض الى 4998.2 كرية /ملم وخفض نسبة الهيموغلوبين الى (9.02)غم/100مل و تسبب هذه الجرعة في رفع معدل انزيمي GPT و GOT الى (16.3 و 14.36) وحدة دولية /لتر اما بالنسبة للجرعة (10) ملغم / كغم ايضاً اسهمت في رفع معدل كريات الدم البيض الى 5060.5 كرية/ملم^3 وخفض نسبة الهيموغلوبين الى(9.4) غم/100ملم^3 وكذلك ارتفعت نسبة الأنزيمين السابقين اذ بلغت (20.1و18.6)وحدة دولية /لتر(الخالدي 2010) .

جدول (1) تأثيرجرع مختلفة من المركب الفينولي في بعض معايير الدم الفسلجية والكيموحيوية لذكور الجرذ الابيض .

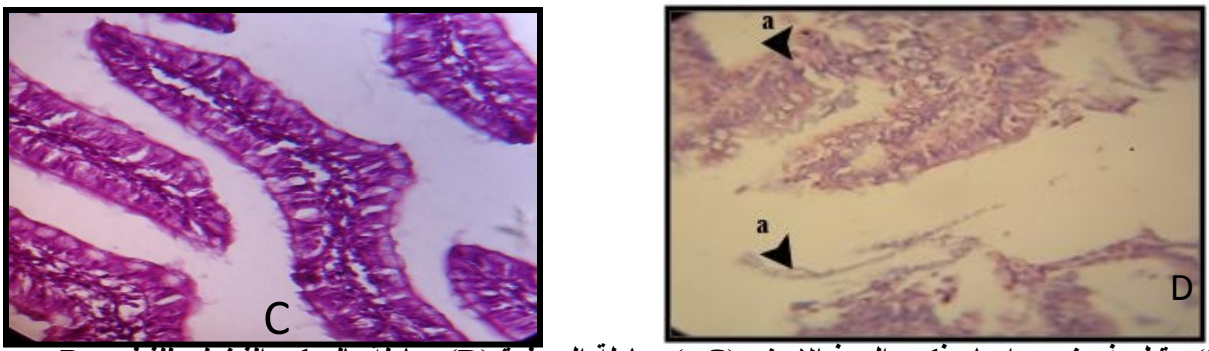
الجرعة ملغم/كغم	WBC كرية/ملم^3	Hb غم/100 مل	%PCV	GOT وحدة دولية/لتر	GPT وحدة دولية/لتر
0	3100	13	47	6.4	7.7
1	4900	10.43	46	31.2	33
3	6833.3	8.2	44.66	50.4	53
5	7000	9.26	43.33	62	66
10	7833.3	7.96	40.33	69.3	70.3
L.S.D(0.05)	1498.92	0.21	0.57	6.3	4.2

ب- الفحوصات النسجية:

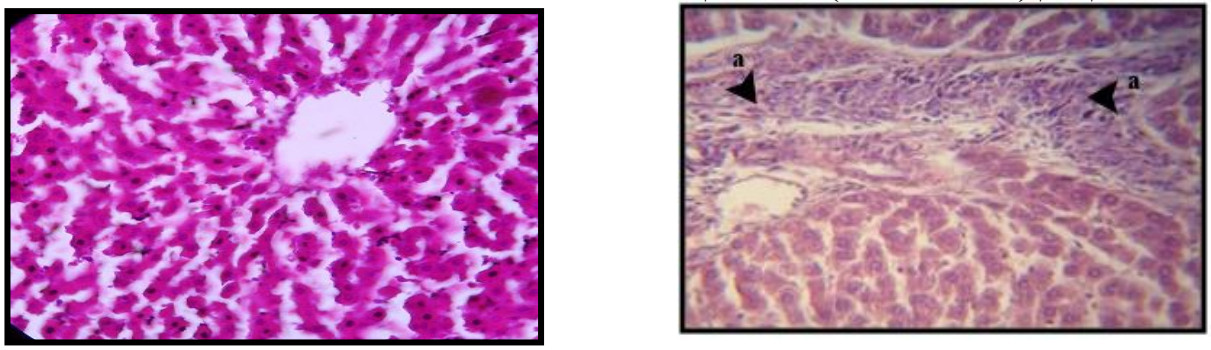
اظهرت نتائج التشخيص للمقاطع النسيجية المأخوذة من امعاء واكباد الجرذان التي تم معاملتها بالمركب الفينولي المستخلص من الوسط المنمى عليه الفطر *B. holmii* تاثرها بالفينولات.فالكبد ظهرت عليه تأثيرات شديدة تراوحت بين احتقان الاوعية الدموية و توسع الوعاء المركزي في الكبد وتجمع بؤري كثيف لخلايا التهابية الى تلف الكبد (صورة 3,1) .وبينت المقاطع المأخوذة من امعاء الجرذان المعاملة بالمركب الفينولي المستخلص من الفطر اعلاه وجود تغيرات مرضية فيها تمثلت بتحلل تام للزغابات وتساقطها بشكل تام رافقه فقدان التركيب الطبيعي للزغابات (صورة 2 ,4).وقد يعود سبب هذه التأثيرات الى قابلية هذه السموم على الارتباط مع الغشاء الخلوي للخلايا مسببة انحلاله ، او انها تمتلك تأثيراً على المستوى الوراثي مسببة تلف او عدم تصنيع بروتينات الجدار مما ينتج عن موت وانحلال الخلايا ، فقد اشار Jouany *et al*. (2005) الى ان بعض السموم الفطرية لها القابلية على الارتباط بمواقع ولاسيما في الغشاء الخلوي للكائن الحي ومواقع الارتباط هذه هي β-D-glucose التي تعد المكون الاساس للغشاء الخلوي ، اذ تعمل السموم على تخريب الغشاء وتجعله فاقداً لقوامه الاصلي مخترقة اياه وصولا الى النواة مسببة تأثيرات على المستوى الجيني .وان سبب تأثير المركبات الفينولية على المعايير اعلاه قد يعود الى امتلاك هذا الفطر الخصائص السمية التي تتصف بها السموم الفطرية فقد اشار Stoytocho *et al*. (1999)الى ان اعطاء سم Penicillic acid للدجاج ادى الى حدوث زيادة معنوية في معدل اعداد كريات الدم البيض الحمضة والتي تعمل على معادلة او ازالة السموم الفطرية . كما ذكر قمصاني (2009) ان بعض الفينولات لها القدرة على احداث تأثيرات ضارة للكائن الحي ومنها الاورام السرطانية ، فمثلاً يسبب الديكموريل (Dicoumaral) نزيفاً في الماشية كما يستعمل كسم للفئران .و ذكر Porta and Abate (2003) الى ان اغلب الفطريات السامة تنتج مركبات ايضية ثانوية ذات طبيعة فينولية وتستعملها كوسيلة وقائية ضد التغيرات البيئية ، واغلب هذه المركبات تشتق غالبا من الكايتيدات المتعددة (Polyketides) .



صورة (1) مقطع في نسيج الكبد لذكور الجرذ الابيض (A) معاملة السيطرة (B) معاملة بالمركب الفينولي للفطر *B. holmii* بتركيز1ملغم /كغم (قوة التكبير 40X) a: تجمع بؤري بسيط لخلايا التهابية في الكبد .



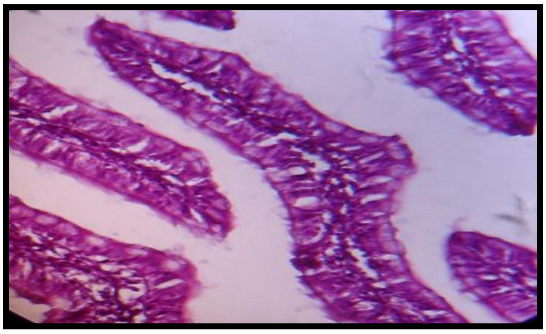
صورة (2) مقطع في نسيج امعاء ذكور الجرذ الابيض (C) معاملة السيطرة (D) معاملة بالمركب الفينولي للفطر *B. holmii* بتركيز1ملغم /كغم (قوة التكبير 40X) a: تحلل تام للزغابات .

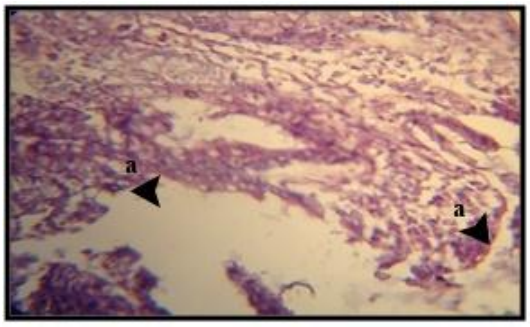


A

B

صورة (3) مقطع في نسيج الكبد لذكور الجرذ الابيض (A) معاملة السيطرة (B) معاملة بالمركب الفينولي للفطر *B. holmii* بتركيز3ملغم /كغم (قوة التكبير 40X) a: تجمع بؤري كثيف لخلايا التهابية في الكبد .





C

D

صورة (4) مقطع في نسيج امعاء ذكور الجرذ الابيض (C) معاملة السيطرة (D) معاملة بالمركب الفينولي للفطر *B. holmii* بتركيز3ملغم /كغم (قوة التكبير 40X) a: فقدان التركيب الطبيعي للزغابات .

3. 1 التشخيص الاولي للمركب الفينولي النقي:

أ-تحديد درجة الذوبانية في المذيبات العضوية:

يبين الجدول (2) قابلية المركب المفصول على الذوبان في بعض المذيبات العضوية اذ اظهرت النتائج قابليته على الذوبان في الايثانول والكلوروفورم والاسيتون والهكسان والميثانول وحامض الخليك وخلات الاثيل وبدرجات متفاوتة حيث كانت ذوبانيته في الكلوروفورم والهكسان والاسيتون بدرجة عالية اذ لم يتبقى اي راسب في حين كانت ذوبانيته جزئية في مركبات الايثانول والميثانول وخلات الاثيل وحامض الخليك وهذه النتائج مقاربة لما توصلت اليها أحدى الدراسات التي أشارت الى ذوبانية المركبات الفينولية السامة والمستخلصة من الفطرين *G. candidum* و*G. Penicillatum* (الخالدي , 2010) .

جدول (2) قابلية ذوبان المركب الفينولي السام في المذيبات العضوية المختلفة

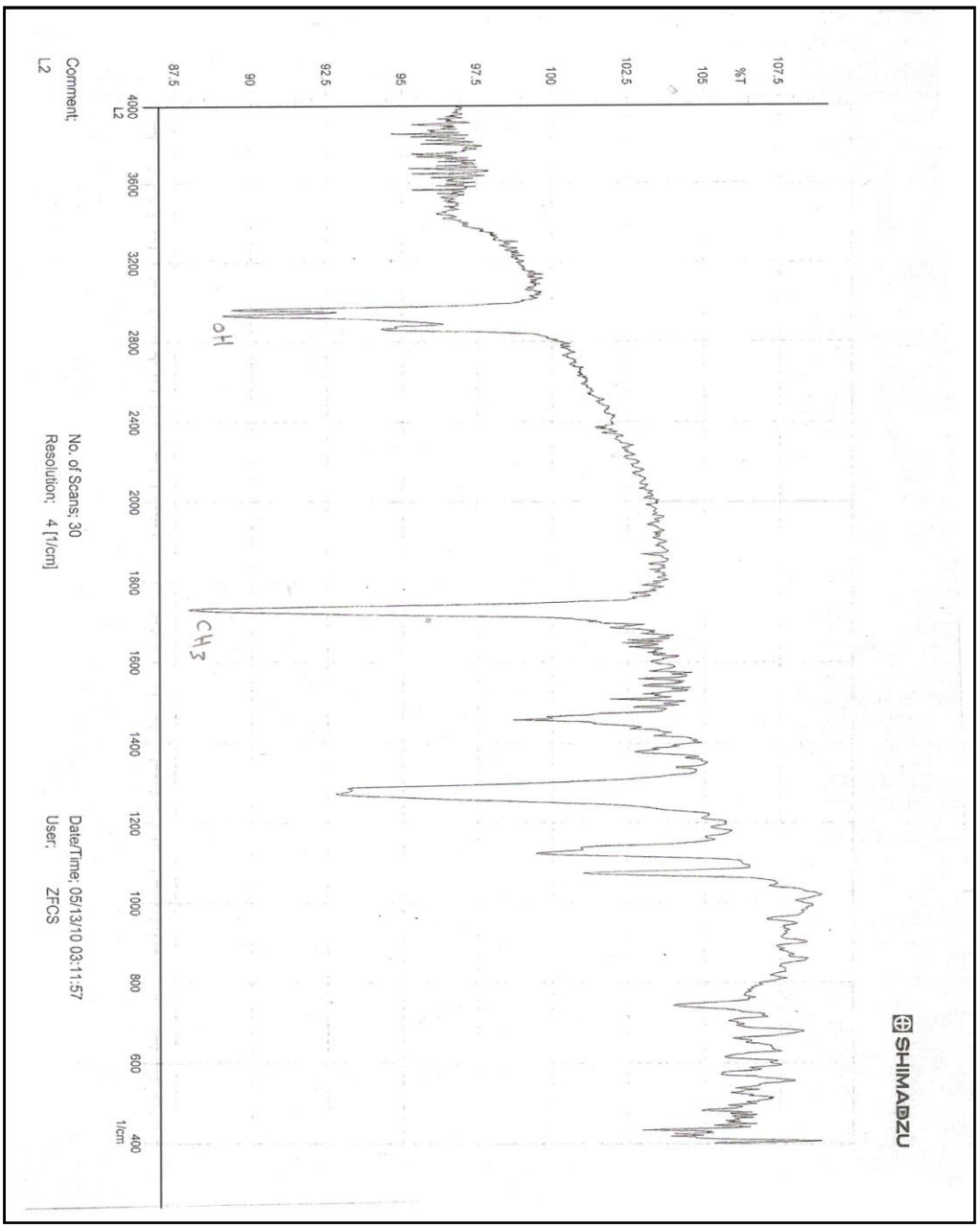
المذيبات العضوية	قابلية الذوبان المركب الفينولي المدروس
الايثانول	+
الميثانول	+
الكلوروفورم	++
الهكسان	++
خلات الاثيل	+

الاسيتون	++
حامض الخليك	+

+ ذوبانية متوسطة ++ ذوبانية عالية

ب- تحديد المجاميع الفعالة للمركب المفصول بأستخدام أطياف الأشعة تحت الحمراء (FTIR).

تم تشخيص مركب فينولي واحد من المنتجات الأيضية للفطر *B. holmii* بوساطة طيف الأشعة تحت الحمراء (FTIR) والمبينة في الشكل (1) .حيث يلاحظ ظهور حزم امتصاص في الموقع (3200-2800)cm\1 التي تمثل تردد أهتزاز داخل مستوي stretch للـ (OH) الفينولي وظهور حزم أمتصاص في الموقع (1800-1600) 1/cm التي تمثل تردد أهتزاز الأرتباط (Binding) للـ (CH_3) ان ظهور هذه الحزم في المواقع المذكورة اعلاه يعطي دليل قاطع على ان المركب المعزول يعود الى مجموعة الفينولات ، وهذا ماذكره Kalsi (2005) .



شكل (1) طيف الأشعة تحت الحمراء FTIR للمركب الفينولي المدروس

ج- تحليل العناصر في المركب الفينولي المفصول (حساب نسبة (C, H, N, S))

بينت نتائج تحليل نسبة عناصر الهيدروجين والكاربون والنتروجين والكبريت ان المركب الفينولي المفصول يحتوي على عنصري الكاربون والهيدروجين أذ بلغت نسبة الهيدروجين 5.6% والكاربون 39.2% (الشكل 2).

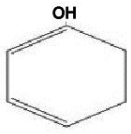
د- تحديد الصيغة التركيبية المحتملة للمركب الفينولي المفصول .

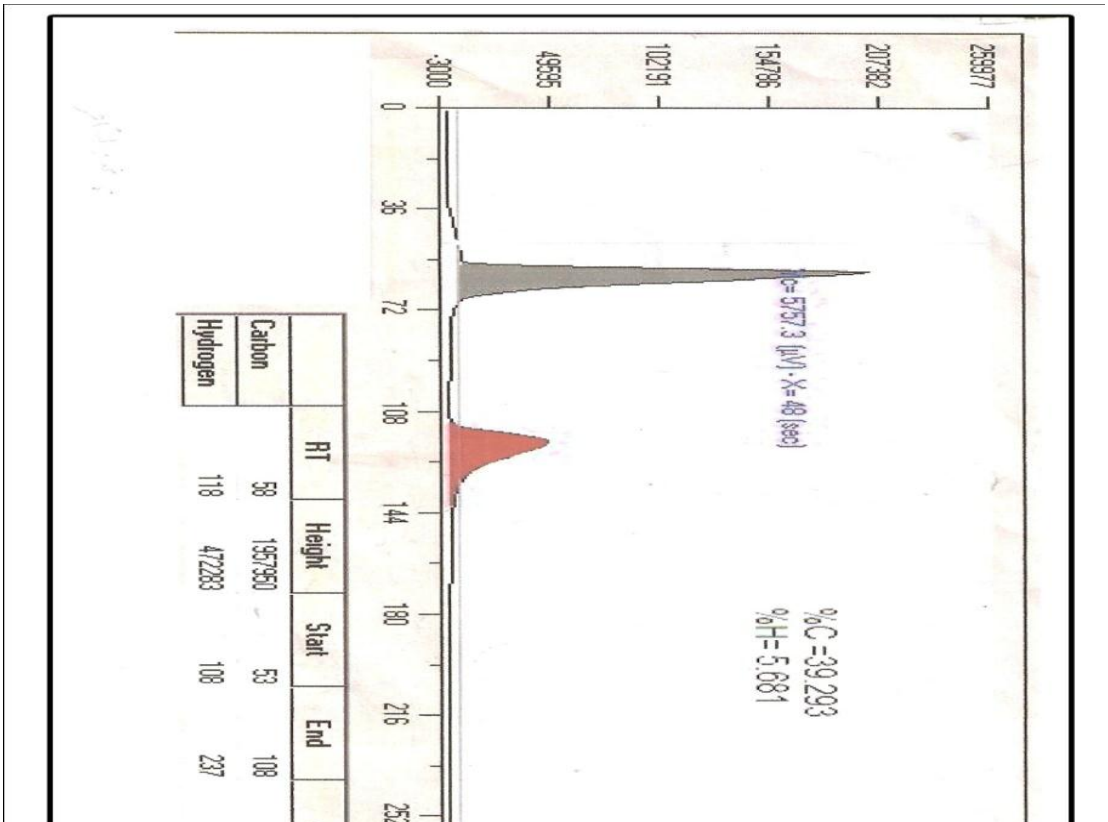
بالأعتماد على نتائج تشخيص المركبات بأستخدام طيف الأشعة تحت الحمراءForrear Trasformar Infra Red (FTIR) وتحديد نسب عناصر الهيدروجين والكاربون والنايتروجين والكبريت (**C, H, N, S**).

تم التوصل الى ان المركب المدروس يحتوي على المجاميع الاتية المبينة في ادناه :-

1- CH_2-CH_2-CH_2-CH_3

2- مجموعة فينول





شكل (2) تحليل العناصر للمركب الفينولي (CHNS)

المصادر

- **أمير طوبيا عتو، عبد الجبار عبد القادر مخلص وخالد عبد القادر الفخري. (1988).** التشخيص العضوي والطيفي، مطبعة التعليم العالي والبحث العلمي، بغداد190.
- **الخالدي، بهيجة عبيس حمود. (2010).** التوصيف الوظيفي والجزئي لبعض عزلات الفطرspp *Geotrichum* والكشف عن بعض تاثيراتها الوظيفية والنسجية المرضية في ذكور الجرذ الابيض. اطروحة دكتوراه- كلية العلوم- جامعة الكوفة.

- **Benkerroum, G.S. and Elarkai, T.A.(2001).** Study of toxigenic moulds and mycotixin in poultry feed. Review Medvet., 125(4): 335-342.
- **Bondy, G.S. and Pestka, J.J. (2000).** Immunodulation by fungal toxins. J. Toxins. J.Toxicol. Env. Health. B.3: 109-143.
- **Cowan, S.C. and steel, K.J. (1975).** Manual identification of medical bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press. Cambridge, London, PP: 39-149.
- **Jouany, J.P.; Yiannikouris, A.and Bertin, G. (2005**). The chemical bonds between mycotoxins and cell wall components of animals have been identified. Research centre of clermont- Theix. France. PP:78-90.
- **Kalsi, P.S.(2005).** Spectroscopy of organic compounds ,New Ageinternation , Limited publishers.PP:56-70.
- **O'Connell . E. and Fox P. F.(2001**). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products. International Dairy Journal.Volum 11,Issue 3, P. 103-120.
- **Porta.,A.and Abate.,D.(2003**).Bioactive compounds from plants and higher fungi of Ethiopia ,tranditional medic.oxford,pp.295-312.
- **Sliverstein ,R.M.(1996).** Spectrometric identification of organic compounds .Academic press, New York.PP:56-87.

- **Stoytocho,S.;Geno,A. and Dimitar ,P.L.P.(1999)**.Some antidotes and paraclinical investigation in expermintal intoxication with ochratoxin A and penicillic acid in chicks .Veterinarski . Archiv. 69(4):179-189.
- **Trucksess, M. W., and Tang, Y.(2001).**Solid Phase Extraction Method For Patulin in Apple Juice and Unfiltered Apple Juice,P. 205-213. In :M. W. Trucksess and A. F. Pohland (ed.), Mycotoxin protocols. Humana Press, Totowa, N.J.PP:25-78.

Abstract

The included this studying of known on ability *B.holmii* to production mycotoxins were effect thought studying in liver system in white rat males .The results indicated that fungus produced one to phenolic toxic compound that was contained on phenolic cycle with aldehyid methyl group .The toxic compound that caused influence of physiological parameters of white blood cells (W.B.Cs) were increased intreated blood animal of dose (1) mg/Kg to (4900) cell/mm3 .In the same time of the level of Hb also decreased to 100gm/mL , that dose caused increased for enzymes normal level which reach GPT , GOT to (33 , 31.2) IU/L in respectively .That comparated with control treatment that reached white Blood cell and Hb with enzymes level that (3100) cell/mm3 , (13) gm/mL, and (6.4 , 7.7) IU/L in respectively .The animal were treated by with increased doses a compounding the count of white blood cells were decreased in P.C.V that reach (46) % in (1) mg/ Kg .In addition for sever toxic influence in some organic animal tissue and represented of caused between vascular congestion and central vascular adhesive in liver and accumulation of inflammatory cells due to liver damage .The Section was gaved showed from white rat males treatment by phenolic extract compound from *B.holmii* that presented pathology changing that represented of analysis villi in small intestines and atrophy acompared with vill dise function .