استمارة مستخلصات رسائل واطاريح الماجستير والدكتوراه في جامعة البصرة

الكلية: الطب البيطري | **اسم الطالب:راند نجيب كاظم**

القسم: الاحياء المجهرية والطفيليات | **اسم المشرف: ا.د. باسل عبد الزهرة عباس و ا.د. محمد حسن خضر**

التخصص: احياء مجهرية / فطريات | **الشهادة: الماجستير**

عنوان الرسالة أو الأطروحة

(تواجد الفطريات في اعلاف الدواجن والكشف الزرع و الجزيئي لفعاليتها في انتاج الافلاتوكسين)

ملخص الرسالة او الاطروحة

الخلاصـــة

تم جمع ١٨٠ عينة من اعلاف الدواجن المركزة من حقول الدواجن والاسوهق المحلية في محافظة البصرة .تم جمع عينات الأعلاف خلال سنة واحدة من سبتمبر ٢٠١٤ إلى أبريل ٢٠١٥. تم تخزينها لمدة ٢-٣ أيام في حاويات بلاستيكية معقمة في درجة حرارة الغرفة (٢٢-٢٥درجة مئوية في المختبر) .بعد تخزينها، تم زرعها على اوساط الفطريات PDAوMEA لغرض عزل الفطريات ثم تم عزل كل مستعمرة فطرية على وسط ثانوي هو SDA. وتم زرع عزلات الفطر *Aspergillus flavus* على وسط ثانوي هو CAM. تم عزل سبعة اجناس تعود لفطريات مختلفة حيث كان اكثر نسبة تردد وكثافة الفطريات التي تعود الى الجنس *Aspergillus*(تردد - ٪62.77 ,الكثافة النسبية - ٪52.03) يليه الفطر *Penicillium*(تردد 47.77٪, كثافة 17.01%) ، في حين كانت العزلات *Fusarium* أقل ترددا وكثافة نسبية٪1.66 ، ٪2.11على التوالي ،وتم عزل تسعة انواع عائدة الى الفطر *Aspergillus* ، حيث كان النوع *A.flavus* اكثر الانواع حدوثا (تردد 56.48% وكثافة نسبية ٪27.55) ، يليه *A.niger* ذو تردد 58.40%، وكثافة ٪14.23، وكان الفطر *A.paraciticus* اقل الانواع حدوثا هو بتردد 1.76% وكثافة نسبية 0.89%.تم اختيار 50 عزلة من *A.flavus* للكشف عن فعاليتها السمية وقابليتها على انتاج الافلاتوكسين بواسطة الأشعة فوق البنفسجية بطول موجي٣٦٥ nm وبخار الأمونيا على CAM عن طريق انتاج لون خضر مزرق مشع على الجهة المعاكسة من طبق بتري زجاجي تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية وكذلك عن طريق انتاج اللون الوردي في الوسط عند التعرض لبخار الأمونيا .كشف الاختبار بالاشعة الفوق البنفسجية أن 26 (52%) من العزلات كانت موجبة ومنتجة للافلاتوكسين بانتاجها اللون الاخضر المزرق المشع تحت الأشعة فوق البنفسجية (365 nm) وأيضا 26 (52%)عزلة موجبة بتحولها الى اللون الوردي عند تعرضها لبخار الامونيا. تم التقييم الجزيئي على نفس عزلات *A.flavus* باستخدام زوج من باديء الجين *aflR* في تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) .أظهرت أربعة وثلاثين عزلة من فطر *A. flavus* نتيجة إيجابية(68%)حيث كانت تملك الجين *aflR* القادر على افراز الافلاتوكسين .تم اختيار خمس عزلات من *A.flavus* المنتجة للافلاتوكسين والمشخصة بل PCR لتحليلها بواسطة التسلسل التتابعي الجيني sequencing والتحليل بواسطة Blastعلى موقع NCBI للتأكد القابلية الجزيئية للسلالات على انتاج الافلاتوكسين من خلال مطابقتها مع السلالات الاخرى في البنك الجينات .اظهرت النتائج ان خمس عزلات هذه كانت متطابقة (100%و 99%) مع سلالات اخرى من *A.flavus* على موقع NCBI .

College: Colleg of Veterinary | **Name of Student: Raed Najeeb Kadhim**

Dep.: Microbiology and parasitology | **Name of Supervisor: Prof.Dr. Mohammed H.Khudor and Prof. Dr.Basil A. Abbas**

Certificatte: master | **Specialization: Microbiology/Mycology**

Tital of Thesis

Occurrence of fungi in poultry feed with cultural and molecular detection of their aflatoxigenic activity

Abstract of Thesis

Summary

A total of 180 samples of concentrated poultry feed pellet were collected from different broilers, broiler breeders and layers farms and local market of poultry . These farms and market were located in Basrah governorate . Feed samples were collected during the period from Sep. 2014 to Apr. 2015. About 10 - 30 representative samples of 1 kg were collected from several locations . They were stored for 2-3 days in sterile plastic containers at room temperature (22-25ºC) in laboratory . After stored, they were prepared for fungal isolation and identification by culture on Potato dextrose agar(PDA) and malt extract agar (MEA) and then subculture on Sabouraud dextrose agar (SDA) and coconut medium agar(CAM) .Seven genera were recovered from 180 samples of poultry feed .The most genera which recovered were *Aspergillus* (frequency(Fr) 62.77% - Relative density(RD) 52.03%), followed by *Penicillium* (Fr 47.77% - RD 17.01%) were the predominant genera isolated from poultry feed, while *Fusarium* isolates were less frequency and relative density(Fr.1.66%, RD 2.11%) .The most frequently isolated *Aspergillus* was *Aspergillys flavus* (Fr 65.48%) and had the most RD (27.55%) , followed by *A.niger* (Fr. 58.40%, Rd14.23%) , the less occurrence of *Aspergillus* was *A.paraciticus*(Fr.1.76%, RD0.89%) .Fifty isolates of *A. flavus* were detect by UV light (365nm) and ammonia vapor to detect aflatoxigenic *A.flavus* on CAM by colored with blue –green on reverse of glass petri dish under UV light and produce a pink to red color by exposure to ammonia vapor. The detection by fluorescent blue revealed that 26 (52%) of isolates were aflatoxigenic (positive) by produce fluorescent color under UV (356nm) light , and also 26 (52%) of isolates were aflatoxigenic (positive) by ammonia vapor test. The molecular assessment was done on 50 isolates of *A.flavus* by using primers pair for the aflatoxin regulatory gene *aflR* in polymerase chain reaction (PCR). Five isolates of aflatoxigenic *A. flavus* positive identified isolates by PCR were randomly selected to sequence and analyze by basic local alignment search tool analysis (BLAST) to confirm the aflatoxigenic strains. Five isolates were positive and confirmed approximately compatible(100% and 99%) homology with other *A.flavus* strains on NCBI .