

العنوان: الفلورا الفطرية المصاحبة لتعفن التفاح وخفض السموم الفطرية بواسطة بكتيريا البروبيوتيك

إعداد: ريف حسن آل زين

إشراف: أ.د. فردوس بخاري د. ازهارنجار

## المستخلص

يمكن للفطريات أن تلوث مجموعة واسعة من المحاصيل الزراعية، مثل الخضروات والحبوب والفواكه. الفواكه هي مصدر أساسي للعناصر الغذائية التي يحتاجها الانسان. تحتوي الفواكه على كمية كبيرة من الكربوهيدرات والمعادن والفيتامينات والأحماض الأمينية، مما يجعلها مرغوبة من قبل الفطريات. وبناء على ذلك، تم عزل أكثر من ٣٩ نوعا ينتمي الى ٥ أجناس من الفطريات من ٤٠ عينة تفاح طازج و ٢٠ عينة تفاح مجفف تم جمعها من اسواق مختلفة في جدة، المملكة العربية السعودية. لعزل الفطريات من عينات التفاح الطازج تم اخذ مسحة من السطح الخارجي للتفاح الطازج، اما بالنسبة للتفاح المجفف فقد تم اخذ قطع صغيرة بمساحة ١ سم وتم زرعها في اطباق PDA عند درجة حرارة ٢٨ درجة مئوية. الفطريات السائدة كانت *Penicillium* (٩٤,٠٪) ، *Aspergillus* (٢,٦٪) ، *Alternaria* (٢,٢٪). وكان النوع الأكثر شيوعا هو *Penicillium sp*. تم فحص حوالي ٥٠ عذلة من *Penicillium sp* بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) لقدرتها على إنتاج مستقلبات سامة عن طريق حساب قيمة Rf. تم العثور على فطرين لديهما القدرة على إنتاج الباتيوولين، وتم تعريفهما تعريفا جزيئيا ووجد انهما ينتميان الى الانواع *Penicillium expansum* و *Penicillium chrysogenum*. أكد اختبار السمية على يرقات الجمبري المالح إنتاج السم. أجريت بعض التجارب لدراسة تأثير العوامل الفيزيائية (درجة الحرارة ودرجة الحموضة) والعوامل الكيميائية (الوسط) على نمو الفطريات وإنتاج الباتيوولين لكل من *P. expansum* و *P. chrysogenum*. في وسط مرق PDB، كانت درجة الحرارة المثلى لنمو الفطريات وإنتاج الباتيوولين عند ٢٥ درجة مئوية، وكان الرقم الهيدروجيني الأمثل بين ٥,٥ إلى ٧,٥. كان وسط PDB ووسط أجار التفاح أفضل الوسائط لنمو الفطريات وإنتاج الباتيوولين. لذلك أجريت تجربة محاكاة النمو الطبيعي للفطريات وإنتاج السموم الفطرية على وسط طبيعي (تفاح طازج) خلال أسبوعين من التخزين. الجزء الثاني من البحث كان عبارة عن عزل بكتيريا البروبيوتيك الموجودة في منتجات خل التفاح الطبيعي (الخل العضوي غير المبستر وغير المصفاة). ووجد خمسة أنواع من البكتيريا تم عزلها باستخدام وسط أجار MRS عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية. أظهرت العزلة R3 افضل تأثير معادي ضد الفطرين *Penicillium expansum* و *Penicillium chrysogenum* ، وتم توصيفها وتعريفها من خلال الاختبارات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية والتعرف الجزيئي. وجد أن العزلة المختارة R3 تنتمي إلى جنس *Lactobacillus plantarum*. تم اختبار النشاط المضاد للفطريات للبكتيريا *L. plantarum* ضد نمو الفطرين المنتجين للباتيوولين وقدرتها على تثبيط النمو وإنتاج السم.

كلمات مفتاحية: السموم الفطرية، فطريات، باتولين، TLC، بروبايوتيك.

# **Mycoflora associated with apple spoilage and mycotoxins reduction by probiotic bacteria**

**By:**

**Rahaf Hassan Alzain**

**Supervised by:**

**Prof. Dr. Fardos Bokhari**

**Dr. Azhar Najjar**

## **Abstract**

Fungi can contaminate a wide range of agricultural crops, such as vegetables, cereals, and fruits. Fruits are an essential source of nutrients for human requirements. They contain many carbohydrates, minerals, vitamins, and amino acids, making them desirable for fungal growth. Accordingly, more than 39 species belong to 5 genera of fungi were isolated from 40 fresh apple and 20 dried apple samples collected from different markets in Jeddah, Saudi Arabia. The streaking plate method was used for fresh apples and the direct plating method for dried apples. The predominant fungi were *Penicillium* (94.0%), *Aspergillus* (2.6%), and *Alternaria* (2.2%). The most common species was *Penicillium sp.* About 50 isolates of *Penicillium sp.* were screened by thin-layer chromatography (TLC) for their ability to produce toxic metabolites by calculating the R<sub>f</sub> value. Two isolates of *penicillium* were found to have the ability to produce patulin, and it were defined by molecular identification, were found belonged to the genus *Penicillium expansum* and *Penicillium chrysogenum*. To confirm toxin production by these two strains brine shrimp larvae test was done. Experiments were conducted to study the effects of physical factors (temperature and Ph) and chemical factors (media) on fungal growth and PAT production for both *P. expansum* and *P. chrysogenum* in the potato dextrose broth medium (PDB). The optimum temperature for fungal growth and PAT production was 25 °C, and the optimum pH was between 5.5 to 7.5. The potato dextrose broth medium (PDB) and the apple medium were the best media for fungal growth and PAT production. Therefore, an experiment was conducted to simulate the natural development of fungi and the production of mycotoxins on a natural medium (fresh apple) during two weeks of storage. The second part of the research was to investigate the effect of probiotic bacteria found in natural apple cider vinegar products (Organic, unpasteurized, and unrefined). Five bacterial species were isolated from natural apple cider vinegar using MRS agar medium at a temperature of 37° C. The bacterial isolate R3 showed the greatest antagonistic effects on *P. expansum* and *P. chrysogenum*. Therefore, was characterized and identified through physiological and biochemical tests, and molecular identification. The chosen isolate R3 found belonged to the genus *Lactobacillus plantarum*. The antifungal activity of the *L. plantarum* was achieved against the growth of the two toxigenic fungi and their ability to inhibit the production of PAT.