IRAQI Academic Scientific Journals
Samarra Journal of Pure and Applied Science
SJPAS
مجلة سامراء للعلوم البحتة والتطبيقية
www.sjpas.com
p ISSN: 2663-7405
e ISSN: 2789-6838

التحري الجزيئي لبعض الجينات المنظمه لانتاج الافلاتوكسين b1 في حبوب الحنطة والذرة

علا سمير علوان[1]، اقبال حربي محمد[2]، شروق محمد كاظم سعد الدين[3]*[3]
1- وزارة الزراعة دائرة الارشاد الزراعي، العراق
2- قسم البحوث والدراسات، دائرة البستنة، وزارة الزراعة، العراق
3- معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية، جامعة بغداد، العراق

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
https://doi.org/10.54153/sjpas.2024.v6i3.748

معلومات البحث:
تأريخ الاستلام: 2023/10/23
تاريخ التعديل : 2024/01/19
تأريخ القبــول: 2024/01/27
تاريخ الـنشر: 2024/09/30
الكلمات المفتاحية:
الافلاتوكسين B1 , aflR1,aflR2، الرشاشية الصفراء، الرشاشية السوداء
معلومات المؤلف

الايميل: saadedin@gmail.com
الموبايل:

الخلاصة:
اجري هذا البحث لغرض التحري عن الافلاتوكسين B1 والفطريات المرافقة لحبوب الحنطة والذرة الصفراء في محافظة ميسان جمعت العينات من اسواق ومخازن محافظة ميسان وبواقع 50 عينة لكل من الحنطة والذرة الصفراء. تم استخدام تقنية تفاعل البلمرة التسلسلي المتعدد للكشف السريع عن انتاج الافلاتوكسين B1 من العزلات الفطرية وذلك باستخدام زوجين من البوادئ *aflR1,aflR2,* اظهرت النتائج الى تشخيص نوعين من الفطريات تابعة لجنس *Aspergillus* وهي *A. flavus* (الرشاشية الصفراء) و*A. niger* (الرشاشية السوداء) وبنسبة 4% و21% على التوالي وكانت حبوب الذرة الصفراء هي الاكثر تلوثا وبنسبة 72% وبنسبة 28% لحبوب الحنطة واظهرت الدراسة ان جميع عزلات فطر *A. flavus* كانت حاملة لجين الافلاتوكسين اما عزلات فطر *A. niger* فقد ظهر الجين في ثلاث عزلات ولكن بصورة خفيفة.

المقدمة:

تعد المحاصيل، وخاصة الحبوب، مصدر رئيس للطاقة والتغذية في النظام الغذائي البشري في جميع أنحاء العالم. تستهلك الحبوب بشكل عام كحبوب نيئة أو مطبوخة في شكل منتجات مصنعة مثل الدقيق والسميد والخبز والبسكويت وغالبا تستخدم محاصيل الحبوب ومنتجاتها الثانوية أيضًا كعلف للماشية والدواجن التي يتم تقديمها في النهاية كمصادر لمنتجات الألبان والدواجن ومنتجات اللحوم للاستهلاك البشري. وفقا لمنظمة الأغذية والزراعة (الفاو)، ربع من إجمالي إنتاج محاصيل الحبوب في العالم ملوث بالسموم الفطرية [1,2] زاد عدد حالات التسمم الفطري لدى البشر في العقود القليلة الماضية بسبب استهلاك طعام ملوث بواحد أو أكثر من السموم الفطرية ، التي في النهاية أثرت أيضا على استدامة الأعمال التجارية والزراعية [3-5] السموم الفطرية هي مركبات ثانوية التي تنتجيها مجموعة من الفطريات من أهمها *Aspergillus* ، *Fusarium* و *Penicillium* لها القدرة على إنتاج مركبات أيض ثانوية عندما تنمو على بيئة مناسبة لها، وتكون لها القابلية على التجمع في الانسجة المختلفة ، نتيجة لنمو بعض الفطريات في مختلف أنواع النباتات والاغذية ومحاصيل الحبوب[6]. تشكل السمية الحادة والتأثيرات المسببة للسرطان للسموم الفطرية وتلوثها في الحبوب والمنتجات القائمة على الحبوب مصدر قلق كبير لسلامة الأغذية ومنها البشر، إلى جانب خسائر اقتصادية فادحة [7]

الأفلاتوكسينات هي نوع من السموم الفطرية التي تنتج من العفن الذي يلوث مختلف المحاصيل بما في ذلك الذرة، الحنطة، فستق الحقل ومحاصيل بذور القطن. الافلاتوكسينات لها إمكانية جعل الطعام غير صالح للأكل والتسبب في آثار صحية خطيرة على البشر حسب المستويات الموجودة.فيها . الفطريات الأولية التي تنتج السموم الفطرية هي الرشاشية الصفراء *Aspergillus flavus* والرشاشية الطفيلية *Aspergillus parasiticus* ويمكن أن تنمو على المحاصيل أو الحبوب التي تتعرض لظروف دافئة ورطبة [8].

على الرغم من وجود أكثر14 من الأفلاتوكسين في الطبيعة، بعضها خطير بشكل خاص على الحيوانات والبشر والمحاصيل الغذائية الرئيسة. ومن اهمها (B1, B2, G1, G2) الأفلاتوكسين B1 هو الأكثر شيوعًا في الطعام وهي مواد سامة للجينات ومسببة للسرطان. وقد يزيد من سرطان الكبد على البشر. مادة مسرطنة أخرى محتملة هي الأفلاتوكسين M1، وهو مستقلب الأفلاتوكسين B1 الذي يمكن أن يلوث اللبن المأخوذ من الماشية التي ابتلعت الأفلاتوكسين الملوثة يمكن أن تكون الأفلاتوكسينات كابوسًا لمصنعي الأغذية. لكن لحسن الحظ، يمكنك أن تأخذ تدابير لإزالة هذه السموم من الغذاء وضمان سلامة الأغذية والمخاوف الصحية للمستهلكين [9].

لذلك، يجب تطوير طرق فعالة لتحديد واكتشاف الفطريات الأفلاتوكسينية في الغذاء والمكونات الخام حاليًا، تعد الطرق الجزيئية مثل تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)، أو تفاعل البوليميراز المتسلسل في الوقت الفعلي أو PCR الكمي (qPCR)، والتضخيم المتساوي الحرارة بوساطة الحلقة loop-mediated isothermal amplification(LAMP) فعالة للكشف عن تلوث الغذاء بالكائنات الحية الدقيقة [10].

كون الفطريات الممرضة وفي اغلب الاحيان تظهر تباينا واضحا حتى بين العزلات العائدة للنوع نفسه لذلك تم اللجوء الى استخدام التقنيات الجزيئية المعتمدة على دراسة تتابع قواعد الـ DNA في الكشف عن وجود الانواع في هيئتها الجسمية او التكاثرية وهي تكشف وجود الانواع التي لايمكن زراعتها مثل متبقيات الفطريات الميتة او المنقوصة التي لا تظهر باتباع طرق الفحص او العزل [11] . يهدف البحث عن التحري عن الافلاتوكسين B1 والفطريات المنتجة له في حبوب الحنطة والذرة الصفراء باستخدام تقنية الـ PCR.

المواد وطرق العمل

جمعت 50 عينة لكل من الحنطة والذرة الصفراء من مناطق مختلفة لاسواق ومخازن الحبوب في محافظة ميسان ووضعت في اكياس البولي اثيلين ونقلت الى المختبر.

عزل وتشخيص الفطريات

تم استخدام طريقة [12] لتقنية العزل المباشر و فيها تم غمر حبوب القمح في محلول هايبوكلورايد الصوديوم بتركيز 3 % لغرض التعقيم السطحي لحبوب لمدة دقيقتين و غسلت ثلاث مرات بالماء المقطر المعقم بطريقة الرج و جففت باستخدام ورقتي ترشيح معقم لازال اثر هايبوكلورايت الصوديوم و الماء .

وبعدها تم زرعت في أطباق بلاستيكية (قطرها 8 سم) تحوي على وسط sabourausd and Dextrose Agar SDA مع اضافة 40 ملغم/ لتر من امبسلين لمنع نمو البكتريا وذلك بوضع أربع حبات من على بعد 3سم عن حافة الطبق خامسة في وسط الطبق وكررت العملية ثلاث مرات (مكررات) لكل مادة حضنت جميع الاطباق تحت درجة حرارة 25مْ ± 2 لمدة سبعة أيام بعدها تم تنقية عزلات الفطريات وشخصت اعتمادا على صفاتها المظهرية والمجهرية العزلات حسب طريقة [12,13] تم حساب نسبة الظهور والتردد وفقا للمعادلات التالية :

$$\text{النسبة المئوية للظهور}(\%) = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها النوع الواحد}}{\text{عدد العينات الكلية}} \times 100$$

$$\text{النسبة المئوية للتردد}(\%) = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{\text{العدد الكلي لعزلات جميع الانواع}} \times 100$$

الدراسة الجزيئية

تحضير البوادئ

تم اختيار البوادئ الخاصة والمدرجة في جدول رقم (1) ذوبت باستعمال ماء مقطر منزوع الايونات للحصول على تركيز نهائي (100) بيكومول.

جدول 1: تتابع القواعد النتروجينية للبوادئ

الموقع المستهدف	(3-5) تتابع البادئ	حجم الناتج bp	المصادر
AflR1	5`-AACCGCATCCACAATCTCAT-3`	798	Manonmani et al., 2005 [14]
	5`-AGTGCAGTTCGCTCAGAACA-3`		
AflR2	5`-GCACCCTGTCTTCCCTAACA -3`	400	Manonmani et al., 2005 [14]
	5`-ACGACCATGCTCAGCAAGTA -3`		

استخلاص الحامض النووي

تم استخلاص الحامض النووي DNA من العزلات الفطرية باخذ 0.5 غرام من الوزن الرطب للغزل الفطري بعد تنميته على وسط السابروید دكستروز السائل SDB و من ثم نقله الى النتروجين السائل وبعدها تطبيق خطوات الاستخلاص باستخدام عدة الاستخلاص (EZ-10 Bio basic ,Canada) spin column fungal Genomic DNA وحسب تعليمات الشركة المصنعة .

الترحيل الكهربائي

مزج 3 مايكرولتر من محلول دارىء التحميل المحضر مسبقاً مع 7 مايكروليتر من الـ DNA المراد ترحيله وبعد عملية المزج بينهما تم التحميل في حفر الهلام، مرر بعدها تيار كهربائي بفـرق جـهد 7 فولت/سم لمدة 30 دقيقة لحين وصول الصبغة الدالة الى الجهة الثانية من الهلام. فحص الهلام باستخدام مصدر للأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 320 نانوميتر [15].

تفاعل البلمرة التسلسلي PCR

استخدمت تقنية الـ PCR لتضخيم الدنا المشفر للبادئات واستخدمت زوج منها جدول (1) وبتركيز 10 بيكمول اجريت طريقة العمل بحجم 25 مايكروليتير وحسب ما موضح في جدول رقم (2)

استخدم في هذا التفاعل بؤادى تشفر للجينات المسؤولة عن انتاج الافلاتوكسينات في الفطريات وهي *AflR1, AflR2* وفي تفاعل واحد.

الجدول 2: المواد مزيج التفاعل الخاص لتشخيص بادئات *AflR1 AflR2*

المكونات	الحجم بالمايكرولتر
Master max	5
AflR1F	1.5
AflR1R	1.5
AflR2F	1.5
AflR2R	1.5
DNA	5
D.W	9
الحجم النهائي	25

برنامج تفاعل PCR

ضبطت الظروف المثلى لتنفيذ تقنية PCR كما في الجدول (3).

الجدول 3: الظروف المثلى للكشف عن بادئات *AflR1 AflR2* .

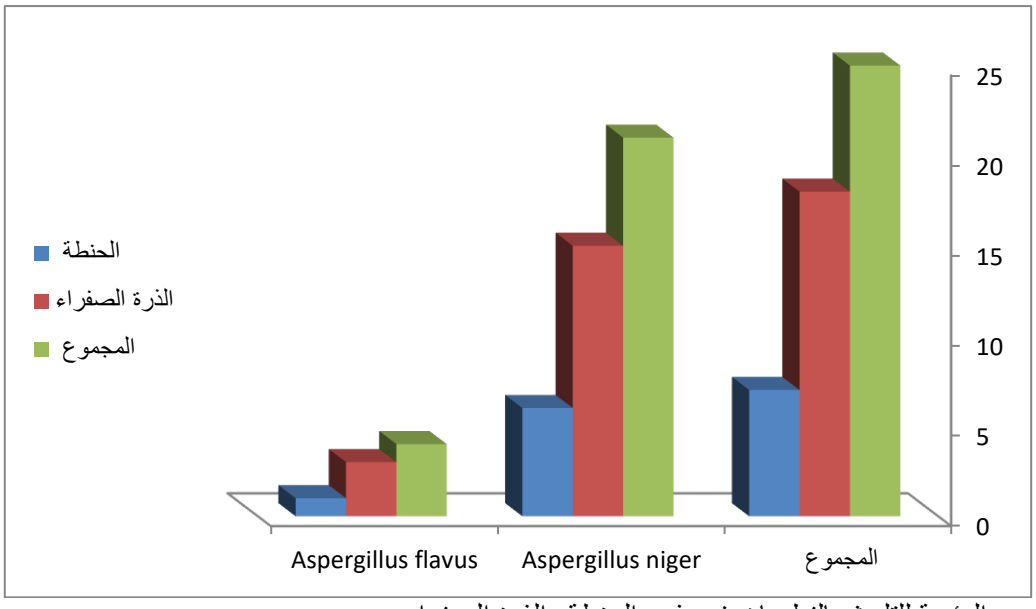
التسلسل	المرحلة	درجة الحرارة المئوية	الوقت	عدد الدورات
1	مرحلة المسخ الأوليDNA	94 °C	5دقائق	دورة واحدة
2	مسخ DNA	94 °C	1 دقائق	30 دورة
3	الإلتحام	56 °C	1 دقائق	
4	الإستطالة	72 °C	2 دقائق	
5	مرحلة الإستطالة النهائية	72 °C	10 دقائق	دورة واحدة

الترحيل الكهربائي لنواتج الـ PCR

اجريت عملية الترحيل الكهربائي على هلام الاكارو بتركيز 2% وبفولتية 70 فولت ولمدة 2 ساعة (لحين وصول الصبغة الزرقاء الى نهاية الهلام) تم فحص الهلام تحت الاشعة فوق البنفسجية بطول موجي (320 نانوميتر) بواسطة U.V Transilluminater وتم تصوير الهلام باستخدام كاميرا خاصة.

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج الدراسة الحالية اصابة 25 عينة من مجموع 100 عينة بالفطريات التابعة لجنس الرشاشيات *Aspergillus* واظهرت النتائج ان اعلى نسبة اصابة بفطريات الاسبرجلس كانت في عينات حبوب الذرة الصفراء إذ بلغت 72% وتليها عينات حبوب الحنطة بنسبة 28% شكل رقم (1).



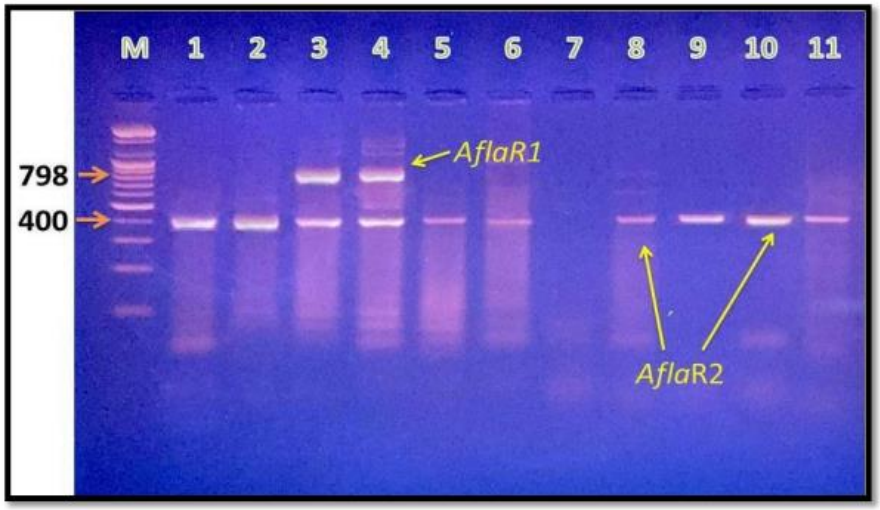
الشكل 1: النسب المئوية للتلوث بالفطريات في بذور الحنطة والذرة الصفراء

الجدول 4: نتائج تشخيص العينات والنسب المئوية للتلوث بفطري الرشاشية الصفراء *Aspergillus flavus* والرشاشية السوداء *Aspergillus niger* في البذور الـ 25 التي شخصت على انها مصابة

نوع العينة	*Aspergillus flavus*	*Aspergillus niger*	المجموع	النسب المئوية
الحنطة	1	6	7	28%
الذرة الصفراء	3	15	18	72%
المجموع	4	21	25	100%

اظهرت نتائج تقنية qpcr قدرة العزلات الفطرية المدروسة على انتاج الافلاتوكسن من ظهور بادئ الـ *aflR* المسؤول عن عملية تخليق الافلاتوكسين عند الموقع الجزئي 798 pb و400pb شكل رقم (2). كانت البؤادي المستخدمة في الدراسة

متخصصة لتضاعف قطع الـ DNA المشفر لبادئ *aflR* واوضحت النتائج ان حجم التضخيم جاء مطابق للحجم المتوقع ولم تظهر اي حزم اضافية او غير محددة .تشير نتائج تفاعل الـ qPCR الى ان البؤادى المستخدمة كانت محددة للجين المستهدف وحجم التضخيم كان مطابق للحجم المتوقع . وقد شخص 16% من البذور على انها مصابة بفطرالرشاشية الصفراء *Aspergillus flavus* و 84%من البذور على انها مصابة بفطرالرشاشية السوداء *Aspergillus niger*.



الشكل 2: الترحيل الكهربائي لناتج تضخيم الـ qpcr على هلام الاكاروز بتركيز 2% M يمثل الحامض النووي القياسي مسار 3-4 نتيجة موجبة لكلا البادئين مسار,11,10,9,8,5,2,1 تمثل نتائج موجبة لعزلات الرشاشية الصفراء , مسار 6 يمثل نتائج موجبة لعزلة الرشاشية السوداء (واطئ التعبير) وهي غير موجودة في مسار 7.

يتم تنظيم التخليق الحيوي للافلاتوكسين مما لا يقل عن 53 جينًا منها 39 جينًا) *aflR* .[16,17] الذي يمتلك وظيفة التنظيم الذاتي يقوم بتشفيربروتين Gal4-type 47-kDa من نوع بولي ببتايد يعمل كبروتين مرتبط بالحامض النووي ثنائي النواة في منطقة الحفاز promoter وهوة خاص بتنشيط نسخ معظم الجينات التركيبة في مجموعة الجينات الافلاتوكسين. وان عدم وجود هذا الجين او وجود جين شاذ (غير طبيعي) يعد مؤشرا قويا على عدم قدرة العزلات الفطرية على انتاج الافلاتوكسين. نتيجة توقف التعبير الجيني لجين *aflR* بسبب غياب بروتين *aflR* او توقفه عن العمل [18,19].

وفي دراسة [20] تم الكشف عن الـ *aflR* في اربع عزلات من اصل خمسة واعطت هذه العزلات نتيجة موجبة عند اختبارها بتقنية الـ TLC (منتجة للافلاتوكسين) في حين اعطت العزلة الخامسة نتيجة سالبة وكانت فاقدة للجين . ايضا تم الكشف عن نفس البادئ في دراسة [21] اذ اظهرت سبعة عشر عينة احتوائها على بادئ الـ afIR من اصل خمسة وعشرون عينة واكد الفحص التطابق التسلسلي لخمس عينات لفطر الرشاشية الصفراء على موقع بنك الجينات الـ NCBI .وايضا اظهرت دراسة تواجد فطر الرشاشية في مئة وخمسة واربعون عينة في الاسواق المحلية والمطاحن في محافظة كربلاء[22]. وفي بحث اخر اجري في نفس محافظة كربلاء لـ200 عينة حبوب الحنطة اظهرت النتائج تلوثها بفطريات مختلفة منها اثنان وستون عينة بفطر الرشاشية الصفراء من اصل 200 عينة [23]

اظهرت نتائج الدراسة توافقا مع ماذكره [24] وتتفق ايضا مع ما توصل اليه [20,25] في ظهور بادئ الـ *aflR* عند الموقع 798 pb و400pb في عزلات فطر الرشاشية الصفراء المنتجة للافلاتوكسين . اما الرشاشية السوداء فقد ظهر البادئ في نفس الموقع الذي ظهر فيه في فطر *A.flavus* ولكن بتعبير واطيء مما يعني انها غير منتجة للافلاتوكسين وهذه النتيجة متوافقة مع [26] إذ ذكروا ان ظهور بادئ الـ *aflR* بتعبير واطيء يعني ان تلك العزلة غير منتجة للافلاتوكسين لان تعبير الجين في مثل هذه الحالة يكون ضعيف ولايؤدي الى انتاج الافلاتوكسين.

وتوافقت نتائج هذه الدراسة مع [27] إذ اظهرت ان خمسة عزلات من فطر الرشاشية الصفراء حاملة لجين *aflR* عند الموقع 400 و798pb وظهور هذا الجين في اربع عزالات من الرشاشية السوداء ولكن بتعبير واطيء. وتتفق هذه الدراسة مع دراسة [28] إذ ذكر ان استخدام بؤادى تستهدف جين الـ *aflR* للكشف عن وجود الفطريات المنتجة للافلاتوكسين يكون اكثر سهولة مقارنة بالطريقة التقليدية.

الاستنتاجات

الفكرة الشائعة ان الحبوب المصابة بالرشاشية السوداء تكون سامة في هذا البحث اثبتنا باستعمال بادئ الـ *aflR* عند الموقع و400pb ان عزلات فطر الرشاشية الصفراء منتجة للافلاتوكسين. اما الرشاشية السوداء فقد ظهر البادئ في نفس الموقع، ولكن بتعبير واطيء مما يعني انها غير منتجة للافلاتوكسين اي انها غير سامة للمستهلك.

كانت نسبة الحبوب المصابة 25% من مجموع النماذج وكانت حبوب الذرة الصفراء اكثر عرضة للاصابة من حبوب الحنطة. يعود ذلك الى ان نسبة الرطوبة في حبوب الذرة الصفراء اعلى منها في حبوب الحنطة. وأن نسبة الرطوبة العالية تشجع على انتشار الفطر. ان اكثر من 80% من حبوب الذرة الصفراء والحنطة المصابة كانت اصابتها الرشاشية السوداء.

References

1. Pankaj, S. K., Shi, H., & Keener, K. M. (2018). A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food. Trends in Food Science & Technology, 71, 73-83.

2. Mahato, D. K., Lee, K. E., Kamle, M., Devi, S., Dewangan, K. N., Kumar, P., & Kang, S. G. (2019). Aflatoxins in Food and Feed: An Overview on Prevalence, Detection and Control Strategies. Frontiers in microbiology, 10, 2266.

3. Kamle, M., Mahato, D. K., Devi, S., Lee, K. E., Kang, S. G., & Kumar, P. (2019). Fumonisins: Impact on Agriculture, Food, and Human Health and their Management Strategies. Toxins, 11(6), 328.

4. Kamle, M., Mahato, D. K., Gupta, A., Pandhi, S., Sharma, N., Sharma, B., ... & Kumar, P. (2022). Citrinin mycotoxin contamination in food and feed: Impact on agriculture, human health, and detection and management strategies. Toxins, 14(2), 85.

5. Kamle, M., Mahato, D. K., Gupta, A., Pandhi, S., Sharma, B., Dhawan, K., ... & Kumar, P. (2022). Deoxynivalenol: An overview on occurrence, chemistry, biosynthesis, health effects and its detection, management, and control strategies in food and feed. Microbiology Research, 13(2), 292-314.

6. Jallow, A., Xie, H., Tang, X., Qi, Z., & Li, P. (2021). Worldwide aflatoxin contamination of agricultural products and foods: From occurrence to control. Comprehensive reviews in food science and food safety, 20(3), 2332-2381.

7. Campagnollo, F. B., Ganev, K. C., Khaneghah, A. M., Portela, J. B., Cruz, A. G., Granato, D., ... & Sant'Ana, A. S. (2016). The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M1: A review. Food control, 68, 310-329.

8. Kolawole, O., Siri-Anusornsak, W., Petchkongkaw, A., Meneely, J., & Elliott, C. (2022). The efficacy of additives for mitigating aflatoxins in animal feed: a systematic review and network meta-analysis. Toxins, 14(10), 707.

9. Eskola, M., Kos, G., Elliott, C. T., Hajšlová, J., Mayar, S., & Krska, R. (2020). Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate'of 25%. Critical reviews in food science and nutrition, 60(16), 2773-2789.

10. Niessen, L., Bechtner, J., Fodil, S., Taniwaki, M. H., & Vogel, R. F. (2018). LAMP-based group specific detection of aflatoxin producers within Aspergillus section Flavi in food raw materials, spices, and dried fruit using neutral red for visible-light signal detection. International journal of food microbiology, 266, 241-250.

11. IANR (2023) Disease Management in Wheat. Institute of Agriculture and Natural Resources. https:// cropwatch.unl.edu/wheat/disease

12. Pitt, J. I. & Hocking, A. D. (1997). Fungi and Food Spoilage. Academic Press, London. pp.583.

13. Moubasher, A. H. (1993). Soil fungi Qatar and other Arab Countries. University of Qatar, Doha, pp: 566, ISBN: 9992121025

14. Manonmani, H. K., Anand, S., Chandrashekar, A., & Rati, E. R. (2005). Detection of aflatoxigenic fungi in selected food commodities by PCR. Process Biochemistry, 40(8), 2859-2864

15. Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, v. 3: apendix B.12.

16. Wang, X.N., Zha, W.J., Dong, M.K. and Wang, S.H. (2020). Research advances in genetic regulation of aflatoxin biosynthesis. Mycosystema 39 (2), 1–17.

17. Song, F.Q., Gao, X.Q., Liang, L.L., Wang, Y.X., & Yang, K.L. (2019). Effects of homeobox transcription factors on the development and aflatoxin biosynthesis in Aspergillus flavus. Mycosystema 38 (11), 12.

18. Chang, P. K. (2003). The Aspergillus parasiticus protein AFLJ interacts with the aflatoxin pathway-specific regulator AFLR. Molecular genetics and genomics : MGG, 268(6), 711–719.

19. Chang, P. K., Yu, J., Bhatnagar, D., & Cleveland, T. E. (1999). The carboxy-terminal portion of the aflatoxin pathway regulatory protein AFLR of Aspergillus parasiticus activates GAL1::lacZ gene expression in Saccharomyces cerevisiae. Applied and environmental microbiology, 65(6), 2508–2512.

20. Al-Ubaydi, Athir Basil Abbas (2011). Industrialize Bio- formulation from Bacillus licheniformis to Control Some Fungi Producing Aflatoxin in Poultry Feeds . PH.D Theses, Department of life sciences, Faculty of Sciences, University of Kufa 234 p

21. Alkhursan, R. N., Abbas ,B. A. and Khudor, M. H. (2021) . PCR-Based Detection of Aflatoxogenic Strains of Aspergillus flavus Isolated from Poultry Feed . IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 761 .012099

22. Itlal, H. A ., Abeer F.R. and Hussein J. H.(2023). Isolation and diagnosis of the fungi associated with maize seeds collected from local markets in Karbala, Iraq. Caspian Journal of Environmental Sciences, Vol. 21 No. 3 pp. 665-672.

23. Firas, D. A. ,. Shurook M.K. and Hasanain, K. S.(2021). Molecular Deduction of Aspergillus flavus Isolated from Wheat Grains in Karbala City. Iraqi Journal of Biotechnology, Vol. 20, No. 1, 46-53

24. Shapira, R., Paster, N., Eyal, O., Menasherov, M., Mett, A., & Salomon, R. (1996). Detection of aflatoxigenic molds in grains by PCR. Applied and environmental microbiology, 62(9), 3270–3273.

25. Dehghan, P., ZEYNI, F., REZAEI, R., Jebali, A., Kordbacheh, P., & Mahmoudi, M. (2008). Detection of aflr gene and toxigenicity of Aspergillus flavus group isolated from patients with fungal sinusitis. . Iranian Journal of Public Health, 37(3), 134-141.

26. Criso, G., Bagnara, A., & Bisignano, G. (2001). Differentiation of aflatoxin-producing and non-producing strains of Aspergillus flavus group. Letters in applied microbiology, 33(4), 291–295.

27. Basheer., E. (2012). Characterization of Aspergillus spp. Isolates that are carrying the aflR Gene That pollute some Foods in Al - Najaf Al - Ashraf Markets and the capability of resisting them biologically. MSc. Theses Department of life sciences, Faculty of Sciences, University of Kufa 140 p.

28. Hashim, A. J., Al-Kazaz, A. A., & Abdulmalek, H. W. (2013). PCR detection of Aspergillus flavus isolates for aflatoxin B1 producer. Journal of Biotechnology Research Center, 7(3), 81-89.

IRAQI Academic Scientific Journals

Samarra Journal of Pure and Applied Science

SJPAS

www.sjpas.com

p ISSN: 2663-7405
e ISSN: 2789-6838

Molecular Investigation of Some Genes Regulating the Production of Aflatoxin B1 in Wheat and Corn Grain

Olla Samer Alwan[1*], Iqbal Harbi Mohammed Alzaidi[2] and Shurook Saadedin[3]

1- Ministry of Agriculture, Agriculture Extension Department, Iraq
2- Research Department, Horticulture Office, Ministry of Agriculture, Iraq
3- University of Baghdad, Institute of Genetic Engineering and Biotechnology for Postgraduate Studies, Baghdad, Iraq

Article Information

Received: 23/10/2023
Revised: 19/01/2024
Accepted:27/01/2024
Published: 30/09/2024

Keywords:

aflatoxin B1 , afIR1,afIR2 Aspergillus flavus , Aspergillus niger

Corresponding Author

E-mail:
saadedin@gmail.com
Mobile:

Abstract

The research was conducted for the detection of aflatoxin B and toxin fungi associated with wheat and corn grain in Mysan. The samples were collected from markets and stores, with 50 samples of wheat and corn for each. Polymerase chain reaction technology has been used to rapidly detect aflatoxin B1 production of fungal isolates of a specific primer *afIR1*, *afIR2*. The results indicated the diagnosis of two types of fungus belonging to the genus *Aspergillus*, *A.flavus,* and *A.niger,* by 4% and 21%, respectively. Corn is the most polluted, with 72% and 28% of the wheat grain. The study showed that all isolates of. *A.flavus* was the carrier of the gene aflatoxin; for isolates of *A.niger*, the gene has appeared in three isolates but inconspicuously.