التوصيف الجزيئي لبعض الكائنات الحية الدقيقة الملوثة للفواكه المجففة

إعداد

رنا غرم الله صالح الغامدي

إشراف

د. نضال محمد عمر زبرماوي

المستخلص

الفاكهة هي مصدر أساسي للعناصر الغذائية التي يحتاجها الإنسان. تحتوي على العديد من الكربوهيدرات والمعادن والفيتامينات والأحماض الأمينية، مما يجعلها معرضة لنمو الفطريات والبكتيريا. يمكن أن تتلوث الفواكه المجففة بالفطريات والبكتيريا التي تشكل مشاكل صحية خطيرة. تم أخذ ١٨٠ عينة من الفواكه المجففة (الزبيب، التمر، المشمش) تم جمعها من أسواق مختلفة في جدة، المملكة العربية السعودية. تم تقطيع كل ثمرة إلى قطع صغيرة (٥ x ٥ مم). ثم تمت زراعتها على بيئة أجار البطاطس والدكستروزوحضنت عند درجة حرارة قدرها ٢٥ درجة مئوية لمدة ٧-١٤ يومًا. تم تعريف الفطريات بواسطة المظهر الخارجي والتعريف الجزيئي باستخدام تسلسل الجين ITS rRNA. تم عزل ١٧ فطرينتمي إلى ١٣ جنس من الفطريات المعزولة من الفواكه المجففة (الزبيب، التمر، المشمش) والتي تتضمن *Alternaria* sp. و *Aspergillus* sp. و *Cladosporium* sp. و *Curvularia* sp. و *Eurotium* sp. و *Lecythophora* sp. و *Mucor* sp. و *Paecilomyces* sp. و *Penicillium* sp. و *Rhizopus* sp. و *Talaromyces* sp. و *Ulocladium* sp. و *Zygosaccharomyces* sp. وكانت أكثر الأجناس الفطرية انتشارًا في الزبيب والتمر المجفف هي *Aspergillus* sp. (367 CFU) و *Penicillium* sp. (74 CFU) و *Rhizopus* sp. (27 CFU). في المشمش المجفف كان *Zygosaccharomyces* sp. (2932 CFU) هو الفطر المعزول الوحيد المكتشف. تم عزل البكتيريا من عينات الفواكه المجففة باستخدام طريقة التخفيف التسلسلي بإضافة ٥ جم من العينة إلى ٥ مل من المادة المخففة وتم استخدام حجم ٠,١ مل من كل تخفيف على الأطباق تم تحضين الأطباق عند درجة حرارة قدرها ٣٠ درجة مئوية لمدة ٤٨ ساعة. تم تعريف السلالات البكتيرية بواسطة المظهر الخارجي والتعريف الجزيئي باستخدام تسلسل الجين 16S rRNA . تم عزل ٣١ سلالة بكتيرية تنتمي إلى ٣ أجناس من البكتيريا المعزولة من الفواكه المجففة (الزبيب، التمر، المشمش) والتي تتضمن *Bacillus* sp. و Micrococcus sp. و *Staphylococcus* sp. *Bacillus* sp. كان الجنس البكتيري الأكثر انتشارًا في الفواكه المجففة. وتم اختبار سمية المستخلصات الفطرية المختارة ضد يرقات الجمبري المالح. تعتبر تدابير الحد من تلوث الفواكه المجففة وكذلك الالتزام بممارسات التصنيع الجيدة (GMPs) أثناء الحصاد وبعده ضرورية لمنع أو تقليل تلوث الفواكه المجففة.

كلمات مفتاحية: فواكه مجففة، فطريات، بكتيريا، *Aspergillus*، *Bacillus*

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF MICROORGANISMS CONTAMINATING DRIED FRUITS

By: Rana GhormAllah Al-Ghamdi

Supervised By:

Dr. Nidal Mohammed Omar Zabermawi

Abstract

Fruits are an essential source of nutrients for human requirements. They contain many carbohydrates, minerals, vitamins, and amino acids making them desirable for fungal and bacterial growth. Dried fruits can be contaminated with fungi and bacteria which pose dangerous health problems. A total of 180 dried fruits samples including (raisin, date, and apricot) were purchased from markets in Jeddah Governorate, Saudi Arabia. Morphological fungal isolation of dried fruits was carried out by cutting each fruit into small segments (5x5 mm) and then inoculated on potato dextrose agar and incubated at 25°C for 7-14 days. The molecular analysis of fungal isolates was confirmed by sequencing the ITS region of the rRNA gene. The results revealed the isolation of 17 different species belonging to 13 genera of fungi including *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Eurotium* sp., *Lecythophora* sp., *Mucor* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Talaromyces* sp., *Ulocladium* sp., *Zygosaccharomyces* sp. The most dominant genera isolated from two dried fruit including raisins and dates were *Aspergillus* sp. (367 CFU), *Penicillium* sp. (74 CFU), and *Rhizopus* sp. (27 CFU). In dried apricot *Zygosaccharomyces* sp. (2932 CFU) was the only detected isolated fungus. Morphological bacterial isolation of dried fruits was carried out by adding 5 g of each dried fruits sample to 5 ml of diluent (distilled water). A 0.1 ml volume of each dilution was used to make a series of pour plates. The plates were incubated at 30°C for 48 hr. In addition, the molecular identification analysis of bacterial isolates was confirmed by sequencing the 16S rRNA gene. The results revealed the isolation of 31 different species belonging to 3 genera of bacteria which are *Bacillus, Micrococcus,* and *Staphylococcus*. The most

dominant genus is *Bacillus sp. (*739 *CFU) isolated from dried fruits.* Furthermore, the toxicity activity assay was carried out for some selected fungal extracts against the brine shrimp larvae. In conclusion, good manufacturing practices (GMPs) must be applied to maintain healthy dried fruits and reduce dried fruits contamination during and after harvest.

Key words: Dried fruits, fungi, Bacteria, *Aspergillus*, *Bacillus*