سامية محمد مصطفى

شبكة المعلومات الجامعية

بسم الله الرحمن الرحيم

سامية محمد مصطفى

شبكة المعلومات الجامعية

شبكة المعلومات الجامعية

التوثيق الالكتروني والميكروفيلم

سامية محمد مصطفى

شبكة المعلومات الجامعية

جامعة عين شمس

التوثيق الإلكتروني والميكروفيلم

قسم

نقسم بالله العظيم أن المادة التي تم توثيقها وتسجيلها علي هذه الأقراص المدمجة قد أعدت دون أية تغيرات

يجب أن

تحفظ هذه الأقراص المدمجة بعيدا عن الغبار

سامية محمد مصطفى

شبكة المعلومات الجامعية

بعض الوثائق الأصلية تالفة

سامية محمد مصطفى

شبكة المعلومات الجامعية

بالرسالة صفحات لم ترد بالأصل

Cairo university

Institute of African Research and Studies

Department of Natural Resources

USAGE OF GAMMA RAY FOR PRESERVATION OF SOME CROPS CULTIVATED IN EGYPT AND SUDAN.

A Thesis submitted for the degree of Ph.D. in African Studies, Natural Resources

Plant Resources (Plant / Microbiology)

BY

HANY WAHIB BOTROS

B.Sc of Science (Botany) Fac. of Sci., Cairo University, 1977

Diploma in African Studies (Natural Resources / Plant Resources) Cairo University, 1989

M.Sc African Studies in Plant Resources, 1996

Under the supervision of

Prof. Dr. Wafaï Z. A. Mikhail

Prof. of Natural Resources, Dept. of Natural Resources

Institute of African Research and Studies, Cairo University

Prof. Dr. Farid A. Mohamed

Prof. of Plant, Plant Research Dept.

Nuclear Research Center

Prof. Dr. Hassan S. H. Attaby

Prof. of Microbiology, Botany Dept.

Fac. of Sci., Cairo University

2004

B

APPROVAL SHEET

Title of Thesis : **USAGE OF GAMMA RAY FOR PRESERVATION OF SOME CROPS CULTIVATED IN EGYPT AND SUDAN.**

Degree : Ph. D.: **Natural Resources (Plant Resources – Microbiology)**

Name of Student: **Hany Wahib Botros**

This thesis for the Ph. D. degree had been approved by:

Prof. Dr.: Zeinat Kamel Mohamed. Z. Kamel

Professor. of Microbiology, Botany Department,
Faculty of Science, Cairo University.

Prof. Dr.: Mohamed Mostafa Sarhan Mohamed Sarhan

Professor. of Microbiology, Botany Department,
Faculty of Science, Zagazig University.

Prof.Dr.: Farid Ahmed Mohamed Farid A. Mohamed

Professor. of Plant, Plant Research Department,
Nuclear Research Center

Prof.Dr.: Hassan Sayed Hassan Attaby H. Attaby

Professor. of Microbiology, Botany Department,
Faculty of Science, Cairo University.

Prof.Dr.: Wafai Zaki Azer Mikhail W. Mikhail

Professor. of Natural Resources,
Institute of African Research & Studies,
Cairo University.

Committee in Charge

Date: 14 / 1 / 2004

CAIRO UNIVERSITY
INSTITUTE OF AFRICAN RESEARCH AND STUDIES
DEPARTMENT OF NUTURAL RESOURCES

Name: HANY WAHIB BOTROS
Title of Thesis: USAGE OF GAMMA RAY FOR PRESERVATION OF SOME CROPS CULTIVATED IN EGYPT AND SUDAN.
Supervision: Prof. Dr. Wafai Z. A. Mikhail, Prof. Dr. Farid A. Mohamed and Prof. Dr. Hassan S. H. Attaby

Peanut, maize, fenugreek and coriander crops were choice for their economic important as food, feed, raw materials in food and medicinal industries and cultivated in Egypt and Sudan. Seeds of these crops can be infected by several types of fungi in field, handling & during storage. At post – harvest of the seeds of these crops, percentage of seed invasion was 40.75, 47.75, 27.0 & 39.0 % respectively and the average of the fungal count isolates isolated from each type of seeds were 54.5, 110.75, 30.0 & 63.0 respectively. The predominant fungi for each type of seeds were *Aspergillus flavus* & *A.ochraceus* for peanut, *Fusarium moniliforme* & *A.flavus* for mazie, *A.fumigatus* & *Penicillium expansum* for fenugreek, *A.fumigatus* & *F.oxysporium* for coriander. All these fungi were pathogenic for the seeds from that they were isolated and some of these fungi were mycotoxigenic, whereas *A.flavus* produced Aflatoxins (A_1, A_2, G_1 & G_2), *A.ochraceus* produced Ochratoxin A. and both the *Fusaria* species produced zearalenone. In study of the effect of gamma rays on the predominant fungi it was noticed that increasing of the irradiation doses caused significant decrease in the percentage of spore germination, mycelial dry weight, enzymatic activity and mycotoxin production Exposure of the tested seeds for different irradiation dose levels (0.0 – 10.0 kGy) and their storage for 12 months under ambient temperature, it was observed that increasing of irradiation doses caused decrease of the total isolated fungal counts according to their sensitivity to irradiation and complete elimination of fungi were at 7.5 kGy dose in all tested seeds at the begging of storage and at 12 months of storage. Also there was a significant decrease in percentage of seed invasion, seed germination, seed discolouration and seedling length. There was no remarkable changes in the main chemical constituents of the tested seeds as moisture, ash, fiber, total carbohydrates, total soluble sugars, reducing sugars, non-reducing sugars, protein, total free amino acids, fixed oils and their physical and chemical properties, fatty acids composition, volatile oils and their constituents. In screening for the presence of the mycotoxins, it was noticed the absence of these mycotoxins in all the irradiated tested seeds at dose level 7.5 kGy dose at the begging of storage and tell 12 moths of storage. From these study it was found that using of gamma rays for preservation of agricultural crops during storage for using as food, feed & food, and medicinal industries was the best physical preservation method licensed in several countries due to the absence of any chemical changes in their constituents or any side effect on the public health.

جامعة القاهرة
معهد البحوث والدراسات الأفريقية
قسم الموارد الطبيعية

الاسم: هانئ وهيب بطرس
عنوان الرسالة: استخدام أشعة جاما فى حفظ بعض المحاصيل المنزرعة فى مصر والسودان
الدرجة: الدكتوراه
المشرفون: أ.د / وفائى زكى عازر ميخائيل - أ.د / حسن سيد حسن عتابى - أ.د / فريد أحمد محمد

تم اختيار محاصيل الفول السودانى ، الذرة ، الحلبة ، الكزبرة باعتبارها محاصيل هامة جداً كمصدر اساسى للغذاء والأعلاف ومواد خام للعديد من الصناعات الغذائية والدوائية وتزرع فى مصر والسودان وتصاب بذور هذه المحاصيل بالعديد من الفطريات فى الحقل وأثناء الحصاد والتداول والتخزين وكانت النسبة المئوية للإصابة الفطرية لبذور هذه المحاصيل بعد الحصاد مباشرة ٤٠,٧٥ ، ٤٧,٧٥ ، ٢٧,٠٠ ، ٣٩,٠٠ % على التوالى ومتوسط عدد العزلات الفطرية المعزولة منها ٥٤,٥ ، ١١٠,٧٥ ، ٣٠,٠٠ ، ٦٣,٠٠ عزله من كل نوع من المحاصيل على التوالى وكانت الفطريات السائدة فى كل نوع من البذور هى اسبرجيليس فلافس ، اسبرجيليس اوكراشيس فى الفول السودانى ، فيوزاريوم منيليفورم ، اسبرجيليس فلافس فى الذرة ، اسبرجيليس فيوميجايتس ، بنسليوم إكسبانسيم فى الحلبة و اسبرجيليس فيوميجايتس ، فيوزاريوم اوكسيسبوريوم فى الكزبرة وكانت جميع هذه الفطريات ممرضه للبذور المعزولة منها وبعضها أنواع سامة حيث انتج فطر اسبرجيليس فلافس الافلاتوكسينات (ب١ ، ب٢ ، ج١ ، ج٢) وفطر الاسبرجيليس اوكراشيس الاوكراتوكسين أ وفطر الفيوزاريوم منيليفورم واوكسيسبوريوم الزيرالينون . وبدراسة تأثير أشعة جاما على الفطريات السائدة تبين أنه بزيادة الجرعات الاشعاعية حدث تناقصاً معنوياً فى النسبة المئوية لإنبات جراثيمها . الوزن الجاف . النشاط الانزيمى ، انتاج السموم الفطرية وبتعريض بذور تلك المحاصيل لجرعات اشعاعية مختلفة (صفر - ١٠,٠ كيلو جراى) وتخزينها لمدة ١٢ شهراً تحت ظروف درجة حرارة الغرفة وجد أنه بزيادة الجرعات الإشعاعية تناقص العدد الكلى للفطريات المعزولة منها حسب حساسيتها للاشعاع وحدث تثبيط كامل لنمو الفطريات عند الجرعة ٧,٥ كيلو جراى فى جميع البذور المختبرة عند بداية التخزين وحتى نهايته عند ١٢ شهراً وبدراسة تأثير التشعيع والتخزين على البذور المختبرة حدث تناقصاً معنوياً فى النسبة المئوية للإصابة الفطرية للبذور ، انبات البذور ، تلون النبتة ، طول النبتة ولم يحدث تغيرات ملحوظة فى المكونات الكيميائية الأساسية للبذور مثل الرطوبة ، الرماد الألياف ، الكربوهيدرات الكلية ، السكريات الكلية . السكريات المختزلة ، السكريات غير المختزلة ، البروتين ، الأحماض الأمينية الحرة ، الزيوت الثابتة وخواصها الطبيعية والكيميائية ، الأحماض الدهنية ، الزيوت الطيارة ومكوناتها الأساسية وبالكشف عن تواجد السموم الفطرية بالبذور تبين عدم وجودها فى جميع البذور المعرضه بالجرعة ٧,٥ كيلو جراى عند بداية ونهاية التخزين حتى ١٢ شهراً . ويتضح من هذه الدراسة أن استخدام اشعة جاما فى حفظ المحاصيل الزراعية أثناء تخزينها بغرض استخدامها كمواد غذائية ، أعلاف ، مواد خام فى الصناعات الغذائية والدوائية هى من أفضل طرق الحفظ الطبيعية المصرح باستخدامها فى العديد من الدول وذلك لعدم وجود أى تغيرات كيميائية فى مكوناتها أو أى تأثيرات جانبية ضارة على الصحة العامة .

(الكلمات الدالة: الفول السودانى ، الذرة ، الحلبة ، الكزبرة ، أشعة جاما ، فطريات ، سموم فطرية ، تخزين)

CONTENTS

Page

ACKNOWLEDGEMENT .....

INTRODUCTION 1

AIM OF INVESTIGATION 6

REVIEW OF LITERATURE 7

MATERIALS AND METHODS 17

I- MATERIALS 17

1- Irradiation processing 17

2- Storage of the seeds samples 17

II- METHODS 18

1- Determination of the percentage of seed invasion 18

2- Isolation, purification and identification of the seeds associated fungi.....18

3- Pathogenicity test of the predominant fungi 18

3.1- Preparation of fungus - free seeds 18

3.2- Preparation of spore suspension 19

4- Determination of seed germination and seedling length 19

5- Determination of germ discolouration 20

6- Measurement of fungal growth 20

6.1- Mycelial dry weight 20

6.2- Spore germination 20

7- Measurement of fungal physiological activities 21

7.1- Fungal enzymatic activities 21

7.1.1- Amylase 21

7.1.2- Pectinase 21

7.1.3-Protease 21

7.1.4-Lipase 21

7.1.5- Cellulase 21
7.2- Mycotoxins production 21
7.2.1- Detection of the mycotoxigenic fungi 21
7.2.2- Qualitative and quantitative determination of aflatoxins, ochratoxin A. and zearalenone 22
7.2.2.1-In seeds 22
7.2.2.2- In the culture filterate 23
8- Chemical analysis of seeds 23
8.1- Moisture content 23
8.2- Ash content 24
8.3- Fiber content 24
8.4- Determination of total carbohydrates 24
8.5- Determination of total soluble sugars 24
8.5.1- Ethanolic extraction 24
8.5.2-Colourimeteric determination of total soluble sugars 25
8.6- Determination of reducing sugars 25
8.7- Determination of non reducing sugars 25
8.8- Determination of crude protein content 25
8.9- Determination of total free amino acids 25
8.10-Lipid content 26
8.10.1-Extraction of crude fixed oil 26
8.10.2- Acid value 26
8.10.3- Saponification value 26
8.10.4- Iodine value 26
8.10.5- Identification and determination of fatty acids 27
8.11-Extraction of volatile oils 27
8.11.1- Percentage of volatile oils 27

8.11.2- QLC. Chromatographic assay of volatile oil composition..... 28
9- Statistical analysis..... 28
RESULTS AND DISCUSSION 29
1- Isolation and identification of the seeds associated fungi 29
2- Pathogenic potentialities of the predominant fungi 33
3- Effect of gamma - irradiation on the predominant fungi 36
3.1- Percentage of spore germination 37
3.2- The mycelial dry weight 40
3.3- The physiological activities 44
3.3.1- Enzymatic productivity..... 44
3.3.2- Mycotoxins production..... 57
3.3.2.1- Detection of the mycotoxigenic species among the isolated predominant fungi..... 57
3.3.2.2- Screening for mycotoxins production..... 57
3.3.2.2,1-In synthetic liquid media..... 59
3.3.2.2.2-In natural media (tested sterilized seeds) 59
3.3.2.3- Effect of gamma - irradiation on mycotoxins production..... 63
3.3.2.3.1- Aflatoxins production by *A. flavus* 63
3.3.2.3.1.1- In liquid synthetic medium..... 63
3.3.2.3.1 In natural media..... 67
3.3.2.3.2 Ochratoxin A. production by *A.ochraceus*. 70
3.3.2.3.2.1- In synthetic liquid medium..... 70
3.3.2.3.2.2 In natural media..... 73
3.3.2.3.3- Zearalenone production by *Fusarium* species..... 77
3.3.2.3.3.1- In synthetic liquid media 77
3.3.2.3.3.2- In natural media..... 80
4- Effect of gamma - irradiation and storage oh the tested seeds and grains....83