ISSN: 2073-8854
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.5 / NO.2 / year : 2013

دراسة تأثير حامض الاسكوربيك في تثبيط نمو الفطر *Aspergillus flavus* في محصول الحنطة المحلية

م.م رغد علي الموسوي جامعة الكوفة- كلية العلوم
البريد الالكتروني (Almusawiraghad@yahoo.co.uk)

Key words: Ascorbic acid; *Aspergillus flavus*

الخلاصة:

تضمنت هذه الدراسة تقييم كفاءة حامض الإسكوربيك في حماية محصول الحنطة من الإصابة بالفطر *Aspergillus flavus* المعزول من عدة عينات من الحنطة ، حيث تضمنت الدراسة تجربتين الأولى إستخدام الوسط الزرعي بخلطه مع حامض الاسكوربيك بعدة تراكيز كلاً على حدة ومعاملتها بالفطر لمعرفة نسبة تثبيط الفطر بحامض الإسكوربيك . بينما تضمنت التجربة الثانية ثلاث مجاميع(المجموعة الاولى تضمنت معاملة بذور الحنطة بحامض الاسكوربيك فقط ،اما المجموعة الثانية فتم معاملة البذور بالفطر مع حامض الاسكوربيك والمجموعة الاخيرة تم معاملة البذور بالفطر فقط).

وأشارت النتائج إلى أن 0.5 غم / لتر من حامض الاسكوربيك الممزوج مع الوسط الزرعي بطريقة (الخلط مع الوسط) أعطى نسبة تثبيط للفطر المذكور أعلاه بلغت 100 % في حين وصلت نسبة التثبيط عند التركيز 0.01 غم / لتر إلى 74% في الوسط الزرعي ، حيث أن إستخدام التراكيز العالية المستخدمة من حامض الاسكوربيك أعطت اعلى نسبة تثبيط. وبينت نتائج التجربة الخزنية لمحصول الحنطة أن البذور الخالية من الأضرار والمعاملة بحامض الإسكوربيك مع لقاح الفطر بلغت نسبة الإصابة 24 % مقارنة مع البذور الملوثة بلقاح الفطر *A. flavus* فبلغت نسبة الإصابة 89% .وقد انخفضت نسبة الإصابة الى 20% عند إستخدام حامض الإسكوربيك لوحده، وهذا يدل على إن إستخدام حامض الإسكوربيك وفر حماية لمحصول الحنطة من الإصابة بالفطر وبنسبة عالية .

1- المقدمة Introduction

الحنطة *Triticum aectivum L.* من النباتات الحولية وتنتمي الى الفصيلة النجيلية Graminaceae، وتنتج الحنطة حبوباً مركبة على شكل سنابل حيث تعتبر هذه الحبوب الغذاء الرئيسي لكثير من شعوب العالم، لا ينافسها في هذا المجال إلا الذرة والأرز، حيث تتقاسم هذه الحبوب غذاء البشر على وجه الأرض.يزرع القمح في أكثر بلاد العالم مرة واحدة في السنة وفي بعض البلدان يزرع مرتين. ويستعمل القمح في صناعة الخبز لأنه يحتوي على مادة بروتينية تسمى الجلوتين تجعل العجين مرناً، مما يسمح للعجين المحتوي على الخميرة بالانتفاخ. وتستخدم نسبة كبيرة من دقيق القمح الذي يطحن في الدول الصناعية بوساطة المخابز التجارية لإنتاج الخبز والفطائر والكعك والقطايف والأصناف الأخرى، بالإضافة إلى أن دقيق القمح والمعجنات المحتوية عليه تباع أيضاً لاستخدامها في المنازل ويستخدم كعلف للماشية. ويأتي الفطر *Aspergillus flavus* في مقدمة الأنواع ألتي تشوب بذور الحنطة مسبباً انخفاض نسب إنبات الحبوب وقيمتها الغذائية فضلا عن تغيير نوعيتها من حيث اللون والطعم والنكهة (Cocker وجماعته ،1984). وللحد من اصابة الحنطة وتطورها استخدمت عدة وسائل منها أستخدام حامض الاسكوربيك حيث انه يعمل على خفض نسبة الاصابة فهو مضاد للسموم ومن المواد الغذائية المضادة للاكسدة فإنه يتفاعل مع المؤكسدات عادة من أنواع الاوكسجين التفاعلية ، مثل الهيدروكسيل والتي تشكلت من بيروكسيد الهيدروجين وهذه الجذور ضارة للحيوانات والنباتات على المستوى الجزيئي نظراً لتفاعلها المحتمل مع الأحماض النووية والبروتينات والدهون (yamunig وجماعته ، 2003).

2- المواد وطرائق العمل Materials and Methods

2-1 مستلزمات الدراسة:-

2-1-1 حامض الاسكوربيك

2-1-2 عينات الحنطة

جُلبت 6 عينات من الحنطة من الاسواق المحلية وكانت بواقع 1كغم لكل عينة.

2-2 طرائق العمل :-

2-2-1 تحضير الاوساط الزرعية

2-2-2 حفظ العزلات

نُميت العزلات المشخصة في انابيب حاوية كل منها على وسط PDA وبصورة مائلة وحضنت بدرجة حرارة (25±2)مْ ولمدة سبعة ايام ثم حُفظت في الثلاجة لحين استخدامها في التجارب اللاحقة.

ISSN: 2073-8854
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.5 / NO.2 / year : 2013

3-2-2 اختبار كفاءة حامض الاسكوربيك في تثبيط النمو الشعاعي للفطر*Aspergillus flavus* في الوسط الزرعي:-

1-3-2-2 طريقة خلط المستحضر الحيوي مع الوسط الزرعي

تم تحضير الوسط الزرعي(PDA) بالطريقة نفسها الموضحة في الفقرة (2-2-1-1)، و وزع في اربعة دوارق سعة 500 مل وبمعدل 250 مل لكل دورق ، عقمت الدوارق في جهاز الموصدة (Autoclave) بدرجة حرارة 121مْ وضغط 1جو لمدة 20 دقيقة وبعدها تركت لتنخفض درجة حرارتها الى ما يقارب 45مْ حيث اضيف المضاد الحيوي كلورامفينكول ، ثم اضيفت تراكيز (0.01, 0.1 ,0.5)غم/لتر من حامض الاسكوربيك وبواقع تركيز واحد لكل دورق ثم رُجت الدوارق جيداً لغرض مزج الحامض مع الوسط الزرعي بعدها صُبت محتويات كل دورق في 8 اطباق ولقحت باقراص بقطر 5 ملم منمى عليها الفطر *A. flavus* اما الدورق الرابع فلقح بالفطر نفسه بدون اضافة الحامض وترك للمقارنة .

حُضنت جميع الاطباق بدرجة حرارة (25±2)مْ لمدة اسبوع بعدها حُسبت اقطار النمو باخذ معدل قطرين متعامدين للمستعمرات النامية ومن ثم طبقت معادلة Abbottالواردة في (شعبان والملاح 1993) لحساب نسبة التثبيط وكالاتي:

$$\text{نسبة التثبيط \%} = \frac{\text{معدل قطر معاملة المقارنة} - \text{معدل قطر معاملة المستحضر الحيوي}}{\text{معدل قطر معاملة المقارنة}} \times 100$$

4-2-2 التجربة الخزنية

على ضوء نتائج الاختبار التمهيدي في الفقرة(2-2-3-1) وبعد ان اثبت حامض الاسكوربيك كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطر *Aspergillus flavus* في الوسط الزرعي تم تنفيذ تجربة خزنية الغاية الاساسية منها التعرف على كفاءة حامض الاسكوربيك على توفير حماية لحبوب الحنطة تحت ظروف الخزن الطبيعية ولمدة 7 ايام من الاصابة بالفطر اعلاه ونفذت التجربة كما يأتي:

أ- تم تهيئة كمية من حبوب الحنطة وبلغت 3 كغم وبعد تعفيرها بواسطة Autoclave تم استخدامها.

ب- تحضيرمحلول حامض الاسكوربيك : وذلك باضافة الماء المقطر المعقم وبواقع 1 غم / لتر وبعدها تم مزج المحلول بوساطة قضيب معدني معقم .

ج- تحضير لقاح الفطر *A. flavus* وذلك باخذ اطباق نقية حاوية على الفطر المذكور واضيف لكل طبق ماء مقطر معقم وبواقع 10 مل لكل طبق ، بعدها اضيف اللقاح الى الدوارق الحاوية على الحنطة .

د- معاملة الحبوب : وتضمنت الاتي:

1- المعاملة بحامض السكوربيك : تم اضافة عالق حامض الاسكوربيك (1 غم / لتر) الى الدوراق الحاوية على الحنطة وبواقع 200 غم من الحنطة وبثلاثة مكررات و تم رجها جيدا.

2- المعاملة بحامض الاسكوربيك والفطر : اضيف محلول حامض الاسكوربيك 1 غم / لتر مع لقاح الفطر المحضر وتم رجها جيدا.

3- المعاملة بالفطر فقط : اخذت نفس كمية الحنطة واضيف اليها نفس كمية لقاح الفطر فقط .

وحسبت نسبة الاصابة كالاتي :-

$$\text{نسبة الاصابة} = \frac{\text{عدد الحبوب المصابة في كل مكرر}}{\text{عدد الحبوب الكلية في كل مكرر}} \times 100\%$$

5-2-2 التحليل الاحصائي Statistical analysis

نفذت التجارب جميعاً وفقاً للتصميم كامل العشوائية .C.R.D (Complete Random Design) كتجارب احادية وثنائية العامل وتمت مقارنة المتوسطات بحسب طريقة اقل فرق معنوي L.S.D وتحت مستوى معنوي (0.05).(الراوي وخلف الله ،1980).

3-النتائج والمناقشة Results and Discussions

1-3 اختبار كفاءة حامض الأسكوربيك بتراكيز مختلفة في تثبيط النمو الشعاعي للفطر *A. flavus* في الوسط الزرعي:-

ISSN: 2073-8854
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.5 / NO.2 / year : 2013

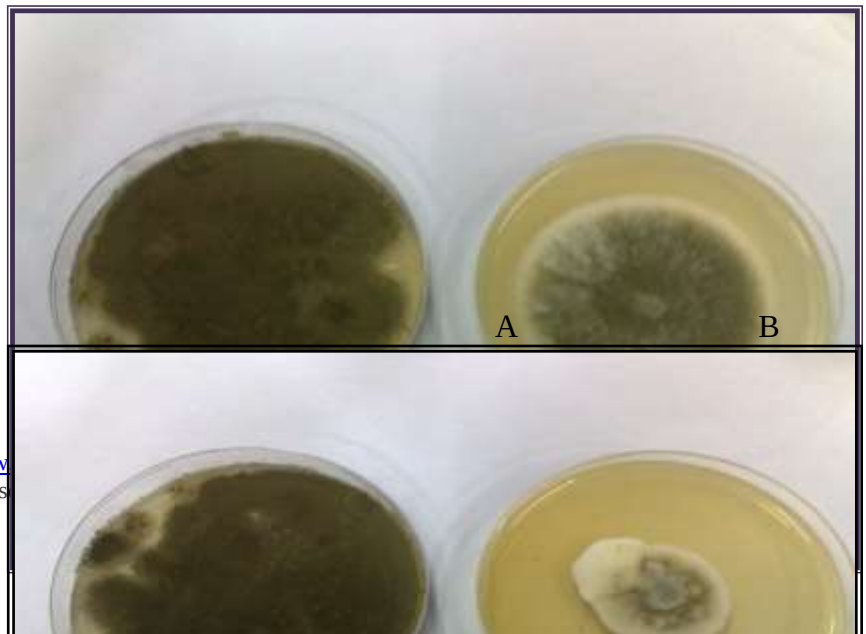
3-1-1 طريقة الخلط مع الوسط :-

اثبت حامض الاسكوربيك كفاءة عالية في تثبيط نمو الفطر *A. flavus* وبنسبة تثبيط بلغت 84.6% (جدول 3-1) وكان لتراكيز حامض الاسكوربيك المستعمل تأثير معنوي في معدلات نسبة التثبيط إذ ازداد تثبيط الفطر المختبر بزيادة تركيز المستحضر، فالتركيز 0.5غم/لتر اعطى تثبيط كامل لنمو الفطر في حين كانت معدلات التثبيط للفطر عند التركيزين (0.01و0.1)غم/لتر(74و80)%على التوالي (جدول 3-1 ؛ صورة1).وهذه النتائج ا متوافقة مع ما توصل اليه الباحثين (Gupta و Guha ، 1942) واللذان اشارا الى فعالية حامض الاسكوربيك في تثبيط الفطرين *A.niger* و *A.flavus* بزيادة التراكيز المستخدمة.

جدول (3-1) تأثير تراكيز مختلفة من حامض الاسكورييك في النمو الشعاعي للفطر *A. flavus* بطريقة الخلط مع الوسط.

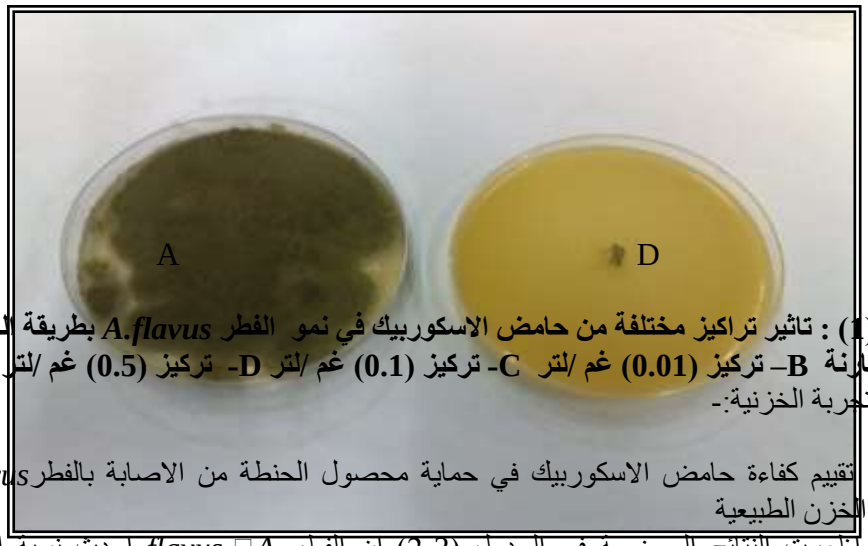
التركيز(غم/لتر)	معدل نسبة التثبيط (%) A. *flavus*
0.01	74
0.1	80
0.5	100
معدل التراكيز	84.6

L.S.D (0.05) لمعدل التراكيز=7.9



ISSN: 2073-8854
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.5 / NO.2 / year : 2013

A C



صورة (1) : تاثير تراكيز مختلفة من حامض الاسكوربيك في نمو الفطر *A.flavus* بطريقة الخلط مع الوسط.
A- المقارنة B– تركيز (0.01) غم /لتر C- تركيز (0.1) غم /لتر D- تركيز (0.5) غم /لتر

2-3 التجربة الخزنية:-

1-2-3 تقييم كفاءة حامض الاسكوربيك في حماية محصول الحنطة من الاصابة بالفطر *A. flavus* تحت ظروف الخزن الطبيعية

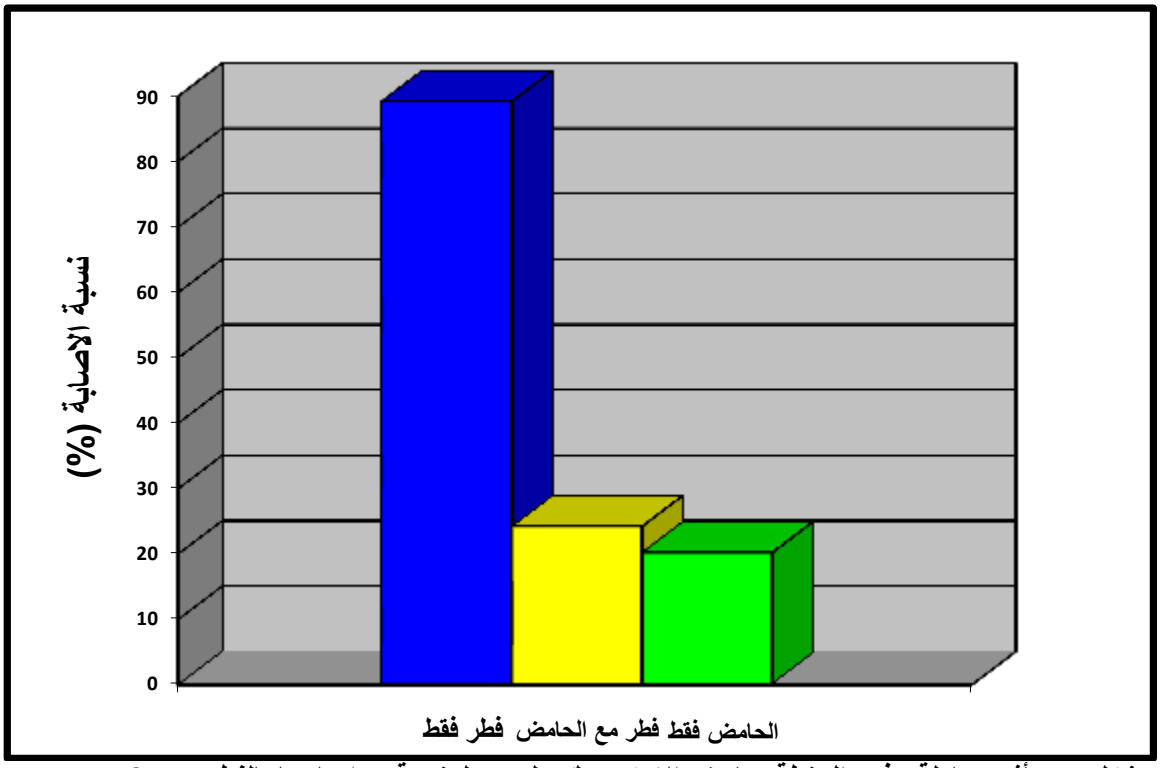
اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (2-3) ان الفطر *A. flavus* احدث نسبة اصابة في بذور الحنطة بلغت89% ويتضح من الجدول المذكور ان حامض الاسكوربيك وفر حماية جيدة لبذور الحنطة من الاصابة بالفطرموضع الدراسة إذ بلغ المعدل العام لنسبة الاصابة في البذور المعاملة بالحامض 20% في حين ارتفعت الاصابة الى 89% في البذور غير المعاملة بالحامض (جدول 2-3) (شكل 1)، وتشير النتائج ايضاً ان حامض الاسكوربيك وفر حماية لبذور الحنطة من الاصابة بالفطر بصورة جيدة وهذه النتائج مقاربة مع ماذكره الباحثان (Gupta و Guha 1942) حيث اكدا التثبيط الكامل لحامض الاسكوربيك لبكتريا *Bacillus subtilis* وانواع اخرى من البكتريا عند نفس التركيز.

جدول(2-3) تأثير معاملة بذور الحنطة بحامض الاسكوربيك على معدل نسبة إصابتها بالفطر *A. flavus* .

المعاملة	معدل نسبة الاصابة (%) للبذور بالفطر ***A. flavus***
البذور المعاملة بالفطر فقط	89
البذور المعاملة بالفطر مع حامض الاسكوربيك	24
البذور المعاملة بحامض الاسكوربيك فقط	20
معدل المعاملات	44.3

L.S.D (0.05) لحامض الاسكوربيك = 14.4

ISSN: 2073-8854
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.5 / NO.2 / year : 2013



شكل (1) تأثير معاملة بذور الحنطة بحامض الاسكوربيك على معدل نسبة إصابتها بالفطر *A. flavus* .

المصادر:-

أبو هيلة ، عبد الله ناصر (1987) . علم الفطريات ، مطبعة الرياض صفحة447.

الراوي، خاشع وعبد العزيز خلف الله، (1980)، تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، صفحة 488.

شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح، (1993). المبيدات. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، صفحة 520.

Cocker ,R.D. ; Jones,B.D. ; Nagler ,M.J. ; Gillman ,G.A. ; Walbridge ,G.A. and Pangrahi ,A.J.(1984). Mycotoxin training manual. Tropical development and research institute overseas development administration. pp.35.

Gupta G.C.D., and Guha B.C.,(1942), The effect of vitamin C and certain other substances on the growth of micro-organisms,Annals of Biochemistry and Experimental Medicine Journal,1:14-26 .

Yuming, B. ; Xiaomin , Z. and Donald , L. S . (2003) . Enhanced soy bean plant growth resulting from coinoculation of *Bacillus* strains with *Bradyrhizobium japonicum* . Canadan Journal of crop science. 43 :2-13 .

Study the Effect of Ascorbic Acid on Inhibition of *Aspergillus flavus fungus on wheat crop*

Raghad ali AL-Musawi

Abstract

This study have been included the evaluation of Ascorbic acid efficiency in the protection of wheat Crops from the infected by *Aspergillus flavus* which is isolated from different samples of wheat . This study includes two experiments : first was included the use of cultural media by mixing with Ascorbic acid with different concentrations separately followed by *A. flavus* treatments to exam its inhibition by Ascorbic acid, while second experiment involved the treatment of wheat seeds by

ISSN: 2073-8854
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.5 / NO.2 / year : 2013

Ascorbic acid then treated it by both *A. flavus* and Ascorbic acid secondly finally treated by *A.flavus* only. Outcome results indicated that the concentration value 0.5 g/L of Ascorbic acid which is mixed with culture media by (mixing with media) method has a complete growth inhibition ,while growth inhibition ratio had been dropped to 74% at the Ascorbic acid concentration value of 0.01 g/L. Indicating that the using of high concentration of Ascorbic acid gave higher growth Inhibition ratio.

Results of storage experiment of wheat crops were showed the unaffected seeds which is treated with Ascorbic acid and *A.flavus* the infected ratio has been reached value of 24% as compare with contaminated seeds by *A.flavus* which is reached 89%. This indicate that the use of Ascorbic acid set apart of protection to wheat crops form the infected by fungus with high ratio.