تقييم كفاءة المبيد الحيوي Thurine w.p في وقاية حيوية حبوب الحنطة الملوثة بالفطر *Aspergillus flavus* والمخزونة وقدرتها على الإنبات

عذراء حرجان محسن
كلية العلوم \جامعة الكوفة

زينب مهدي الصائغ
كلية العلوم \ جامعة الكوفة

لينا عبد الرضا ألسلامي
كلية العلوم /جامعة الكوفة

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة لتقييم كفاءة المبيد الحيوي Thurine w.p في وقاية حيوية حبوب الحنطة الملوثة بالفطر *Aspergillus flavus* المخزونة وقدرتها على الإنبات،حيث تم عزل العديد من الفطريات المرافقة لحبوب الحنطة شملت الفطريات *A.flavus* و*A.niger* و *A.terreus* و*Penicillium spp* و *Rhizopus spp* وكان الفطر*A.flavus*الأكثر ترددا حيث بلغت 98% مقارنة بالفطريات الأخرى . و أشارت النتائج إلى إن الفطر *A.flavus* اظهر حساسيته لجميع تراكيز المبيد الحيوي المختبرة وبمعدلات تباينت فيما بينها معنويا حسب تركيز المبيد المستعمل إذ وصلت أعلى نسبة تثبيط عند التركيز 1 غم/لتر إلى 100 % وكانت 92 %عند التركيز 0.5غم/لتر . إضافة لذلك ، أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي في أعداد البكتريا بعد مرور ثلاث أشهر من تاريخ خزن البذور،إذ تفوقت معاملة المبيد بتركيز10غم/كغم بذور والملوثة بالفطر *A.flavus* في أعداد البكتريا،إذ بلغت2.64×10^{12} وحدة تكوين مستعمرة/غم للفطر *A.flavus* في حين وصلت أعدادها إلى 0.98×10^{12} وحدة تكوين مستعمرة/غممن البذور عند المعاملة بالمبيد بتركيز(5غم/كغم)بذور.إضافة لذلك بينت النتائج كفاءة التراكيز المختلفة للمبيد الحيوي في خفض نسبة الإصابة بالفطر*A.flavus* في الحبوب المعاملة بعد انتهاء مدة التخزين لثلاثة أشهر،إذ بلغت نسبة الإصابة بالفطر20 و0 % للتراكيز5و 10 غم/كغم على التوالي. واختلفت معنويا عن معاملة المقارنة التي كانت نسبة الإصابة فيها90 % علاوة على ذلك أشارت نتائج تقييم نشاط وفعالية المبيد الحيويThurine w.p المعفر لحبوب الحنطة في التربة بعد مرور ثلاث أشهر من الخزن على نسبة الإنبات اثر الفطر*A.flavus* في حيوية حبوب الحنطة المخزنة حيث انخفضت إلى39 % في حين ارتفعت إلى 98 و100 % في الحبوب المعاملة بالمبيد الحيوي بتركيز5 و 10غم/كغم بذور على التوالي.في حين انخفضت معدلات نسبة موت البادرات الى2 و0 % في الحبوب المعاملة بالمبيد الحيوي بتركيز 5و 10غم/كغم بذور مقارنة بمعاملة السيطرة وصلت نسبة موت البادرات إلى 61 % .أما مؤشرات النمو والإنتاج فتضمن وجود اختلاف معنوي في معدل ارتفاع نباتات الحنطة بالمعاملة بالتركيزين 5و 10غم/كغم من المبيد الحيوي.إذ كان أعلى ارتفاع للنبات في التركيز10غم/كغم بذور اذ بلغ 21.53سم في حين بلغ معدل ارتفاع النبات في معامله المقارنة 12.33سم أما التركيز5غم/كغم بذور وصل معدل ارتفاع النبات إلى17.23سم.

المقدمة

يعد محصول الحنطة.*Triticum aestivum L* من المحاصيل الرئيسية في العالم،فهو يعدً غذاء رئيسي لأكثر من 1.5مليار نسمة(1996,NCBI).إذ يأتي في مقدمة المحاصيل من حيث المساحة المزروعة والإنتاجية (الأنصاري،1982).ويتعرض هذا المحصول إلى العديد من الآفات والتي تتسبب في خسائر بنحو 363 مليار دولار سنويا (1996,Anderson) إن جزءا من هذه الخسائر يعود إلى الإصابات الفطرية وخاصة أثناء الحصاد إذ إن الحنطة تحصد وتزرع في ظروف بيئية ملائمة لنمو وانتشار العديد من الفطريات تعفن الحبوب مما يجعلها عرضة للإصابة بهذه الفطريات،وتعد اشباه الانواع التابعة لشبه الجنس *Aspergillus spp* من أهم المجامع الفطرية التي تصيب الحنطة وخاصة الفطر *A.flavus* يأتي في مقدمة الأنواع التي تصيب الحبوب وينتج عن ذلك انخفاض في نسب إنبات الحبوب وقيمتها الغذائية فضلا عن تغير نوعيتها من حيث اللون والطعم والنكهة،ويتأتى الخطر الأكبر من قدرة هذا الفطر على إنتاج مجموعة من المركبات السامة التي تدعى الافلاتوكسينات Aflatoxins (قاسم،1998).وعرفت الافلاتوكسينات بأنها مسؤولة عن حالات التسمم الغذائي وأمراض أخرى للإنسان والحيوان،فقد كانت مسؤولة عن إصابة ما يقارب (500)شخص في عدد من قرى الهند نتيجة لأصابتهم بمرض كبدي قاتل نتيجة تناولهم ذرة صفراء ملوثة باالافلاتوكسينB1تراوحت كميته(0.25_15.6ملغم/كغم).كما تسبب تناول الرز الملوث باالافلاتوكسينB1 في تايوان بظهورعدة أعراض منها وذمة في الأطراف السفلى مع ألم في البطن وقيء وكانت كمية السم في الرز ما يقارب(200مايكرو غرام/كغم)(روبرتس،1995).إن التطلع يتجه إلى اتخاذ مجموعة من التدابير التي من شانها إن تقلل أو تمنع من تعرض حاصل الحنطة للتلوث بسموم الافلاتوكسينات منها إعطاء الأولوية للعملية الخز نية للحاصل للحفاظ عليه من الإصابة بفطريات التعفن والتلوث بسموم الافلاتوكسينات.لذا استعملت طرق فيزيائية مثل التهوية والتعريض

للأشعة فوق البنفسجية وأخرى كيميائية كالمعاملة بالامونيا وبيرو كسيد الهيدروجين أو باستعمال طرائق حياتية مثل الفطريات والبكتريا والمضادات الحياتية(Doyle وآخرون،1982).

وفي السنين الأخيرة تم اختبار كفاءة بعض الأنواع التابعة للجنس *Bacillus* التي أثبتت كفاءتها العالية في السيطرة على الممرضات الفطرية والبكتيرية(Robert&Kazmar، 2000) ,.فقد وجد أن الأنواع *B.pumilis, B.cereus, B.subtilis, B.thuringiensis* ذات قدرة في تثبيط الكثير من المسببات المرضية وكبح نموها ونشاطها.وبالنظر لعدم توفر مخازن كافية ذات مواصفات فنية تؤدي إلى عدم إصابة حبوب الحنطة أثناء الخزن بالفطر *A.flavus* وتواصلا مع التوجهات العالمية في استعمال كائنات حية مجهرية كونها إحدى الوسائل الفعالة في السيطرة على الفطريات أجريت هذه الدراسة والتي تضمنت المحاور آلاتية:

1-عزل وتشخيص الفطريات من حبوب الحنطة.

2-اختبار قابلية الفطر *A.flavus* المعزول من حبوب الحنطة على إنتاج الافلاتوكسينات.

3-اختبار الكفاءة التضادية للمبيد الحيوي Thurine w.pالمتكون من بكتريا *B.thuringiensis* كمادة اساسية وكاربونات الكالسيوم كمادة حاملة ضد الفطر*A.flavus* في الوسط الزرعي.

4-تقييم كفاءة المبيد الحيويThurine w.p في حماية حبوب الحنطة من الإصابة بالفطر *A.flavus* في المخزن لمدة ثلاث اشهر.

5-دراسة طبيعة اثر معاملة الحبوب بالمبيد الحيوي بعد نهاية مدة الخزن (ثلاث اشهر)على حيوية الحبوب ونشاط النباتات الناتجة عنها.

المواد وطرائق العمل:-

1- وسط اكار مستخلص البطاطا الدكستروز dextrose agar Potato

حضربحسب طريقة Colleeاخرون،(1996).

2-حبوب الحنطة Wheat seeds.

جلبت حبوب الحنطة من الأسواق المحلية لمدينة النجف الأشراف إذ استعمل محصول عام (2008) لغرض عزل الفطريات الملوثة أما التجارب الخزنية فقد طبقت على محصول الحنطة صنف المكيسباك لعام(2009).

3-المواد الحيوية .

استعمل المبيد الحيوي Thurine w.p المكوناساسا من لقاح البكتريا *B.thuringiensis* ثم الحصول عليه من مختبر بحوث الفطريات قسم علوم الحياة /كلية العلوم/جامعة الكوفة.

4-عزل وتشخيص الفطر*A.flavus* من حبوب الحنطة.

عقمت حبوب الحنطة سطحيا بمحلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز(3%) لمدة(3 دقائق) ، غسلت بعدها بماء معقم ، ثم جففت وزرعت في أطباق بتري حاوية على أكار مستخلص البطاطا والدكستروز (P.D.A) مع اضافة 48 ملغرام /لتر كلورامفينيكول لمنع نمو البكتريا ،وضعت خمس حبات في كل طبق أربع منها محيطية ، والخامسة في منتصف الطبق ،حضنت الأطباق في درجة حرارة 25 مْ ±2 لمدة 7 أيام (ميخائيل وبيدر،1982). بعد انتهاء مدة الحضن تم حساب النسبة المئوية لظهور الفطر من خلال المعادلة التالية:-

$$\text{النسبة المئوية لظهور الفطر} = \frac{\text{عدد عينات التي ظهر فيها الفطر}}{\text{عدد العينات الكلية}} \times 100$$

تم تنقية عزلة الفطر *A.flavus* بنقل قرص من المستعمرة وزرعة على طبق حاوي على وسط PDA جديد،كررت العملية عدة مرات،شخصت العزلة اعتمادا على الصفات التصنيفية التي وضعها(Fennel , 1965 & Raper) .

5-اختبار كفاءة المبيد الحيوي في تثبيط النمو الشعاعي للفطر *A.flavus* في الوسط الزرعي.

* طريقة الخلط مع الوسط

تم تهيئة أربع دوارق بحجم(250مل) معقمة وضع في كل منها(200مل) من الوسط PDA ثم عقمت الدوارق بدرجة حرارة(121م^0) وضغط(1جو) لمدة(20دقيقة) وبعدها تركت لتنخفض درجة الحرارة إلى ما يقارب (40م) حيث أضيفت تراكيز من المبيد الحيوي(0.5 و1 غم/لتر) وبواقع تركيز واحد لكل دورق ثم رجت الدوارق جيدا لغرض مزج الوسط الزرعي بعدها صبت محتويات كل دورق في(8أطباق) وحضنت جميع الأطباق بدرجة حرارة (30-+2م) لمدة(24 ساعة) (Leben واخرون ، 1987) . بعدها لقحت الأطباق بأقراص من PDA قطرها(5ملم) منمى عليها الفطر *A.flavus* وبمعدل قرص واحد لكل طبق في مركز الطبق مع ترك أطباق بدون إضافة المبيد الحيوي ملقحة بأقراص من الفطر *A.flavus* كمعاملة سيطرة.حضنت جميع الأطباق بدرجة حرارة (25-+2م) لمدة أسبوع وحسبت أقطار النمو بآخذ معدل قطرين متعامدين للمستعمرات النامية بعد انتهاء مدة الحضن حسبت اقطار المستعمرات وبتطبيق معادلة Abbott (1925) الواردة في (شعبان والملاح،1993) ثم حساب النسبة المؤية للتثبيط وكالاتي :

$$\text{Inhibition} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

R_1 أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر الممرض (معاملة المقارنة) .

R_2 أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر الممرض في الأطباق الحاوية على اللقاح البكتيري.

6-تقييم كفاءة تراكيز مختلفة من المبيد الحيوي Thurine w.p. في حماية حبوب الحنطة من الإصابة بالفطر *A.flavus* في المخزن.

تم تهيئة(20كغم) من حبوب الحنطة إنتاج موسم 2009حيث قسمت الحبوب الى مجموعتين:

المجموعة الأولى تضم(10كغم) لوثت بلقاح الفطر *A.flavus* (3×10^5 بوغ/مل،وذلك بوضعها في كيس نايلون نظيف أضيف إليها(25مل/كغم) من معلق الفطر ثم رجت الأكياس لعدة مرات لغرض توزيع لقاح الفطر على أسطح الحبوب بعد الانتهاء مباشرة من تلويث الحبوب بلقاح الفطر عوملت (10كغم) منها بتراكيز من المبيد الحيوي Thurine w.p (5 و10 غم/كغم) وبواقع (5 كغم) لكل تركيز وكلاً على حدة،ثم رجت جيدا لتوزيع المبيد الحيوي على أسطح الحبوب،بعد ذلك وزعت محتويات كل كيس من الحبوب الملوثة بالفطر والمعاملة بتركيز من المبيد الحيوي إلى ثلاث عبوات من البولي فيانيل كلورايد(Poly vinyl chloride(P. V .C ضمت 1.6 غم من الحبوب وبواقع ثلاث مكررات.

أما المجموعة الثانية من الحبوب تضم (10كغم) بدون تلويث بلقاح الفطر *A.flavus* وغير معاملة بالمبيد الحيوي وهي معاملة السيطرة. (العميدي،2009).

وبعد ثلاث أشهر من الخزن تم حساب وتقدير ما يلي:-

A- تقدير أعداد البكتريا في الغرام الواحد من حبوب الحنطة

تم اخذ عينات من حبوب الحنطة المخزنة مقدارها 1غم عشوائيا من كل مكرر من مكررات كل معاملة بالمبيد الحيويThurine w.p وبجميع التراكيز (5 و10 غم/كغم) وكلا على حدة ثم وضع هذا الوزن(1غم)من الحبوب في أنبوبة اختبار معقمة بحجم (20 مل) حاوية على (9مل) ماء مقطر رجت محتويات كل أنبوبة جيدا واخذ منها (1مل) أضيف إلى أنبوبة اختبار حاوية على نفس الكمية من الماء المقطر وتم عمل سلسلة تخفيفات عشرية حتى 10^{-12} تحت ظروف التعقيم التام مع استخدام ماصة نظيفة معقمة لكل تخفيف على انفراد،نقل (1مل) من كل تخفيف (10^{-10} ,10 ,10^{-11}, 10^{-12}) إلى أطباق زجاجية معقمة قطرها (9سم) حاوية على الوسط الزرعي

Nutrient agarوبأربعة أطباق لكل تخفيف ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة(35م) لمدة(24ساعة).(حميد،2001).اختبرت الأطباق الحاوية على عدد المستعمرات التي تتراوح بين(30,300)مستعمرة بكتيرية ومن ثم طبقت معادلة (Clark ,1965)لحساب أعداد البكتريا :-

عدد خلايا البكتريا/غم=معدل عدد المستعمرات ×مقلوب التخفيف.

ب-حساب نسبة الإصابة بالفطر *A.flavus* في حبوب الحنطة.

أخذت (20غم) من حبوب الحنطة لكل مكرر وكل معاملة بصورة عشوائية وعقمت سطحيا بمحلول هايبوكلوراين الصوديوم بتركيز(3%) بعدهاغسلت بماء مقطر ثم جففت الحبوب ونقلت الى اطباق بتري حاوية على وسط PDA بمعدل(5حبوب/طبق) وباربعة مكررات لكل معاملة،حضنت الاطباق بحرارة (25م^0±2) لمدة أسبوع بعدها تم حساب نسب الحبوب المصابة بحسب طريقة ميخائيل وبيدر(1982):-

عدد الحبوب المصابة

نسبة الإصابة (%) = ---------- ×100

العدد الكلي للحبوب المزروعة على الوسط الزرعي

7- تقييم نشاط وفعالية المبيد الحيوي Thurine w.p المعفر لحبوب الحنطة بعد مرور ثلاث اشهر من الخزن في التربة.

لغرض التعرف على اثر المبيد الحيوي وفعاليته في حال زراعة الحبوب في التربة ثم تهيئة (16)أصيص قطر (10سم) ملئت بتربة مزيجية غير معقمة قسمت إلى أربع مجاميع تضم كل مجموعة(4 أصيص) تم زراعة:

المجموعة الأولى بحبوب الحنطة الملوثة بلقاح الفطر *A.flavus*المعاملة بتركيز المبيد الحيوي (5غم \كغم)

المجموعة الثانية بحبوب الحنطة الملوثة بلقاح الفطر *A.flavus*المعاملة بتركيز المبيد الحيوي (1غم \كغم)

المجموعة الثالثة بحبوب الحنطة الملوثة بلقاح الفطر *A.flavus* (سيطرة)

وضعت جميع الأصص في غرفة النمو Growth champer وتم متابعة تطور ونمو النبات وحساب مايلي :-

A \ النسبة المئوية للإنبات

حسبت هذه النسبة بعد(10 أيام)من زراعة الحبوب وذلك بحساب عدد البذور النابتة العاشور (2005) وفقا للمعادلة الاتية:-

عدد البذور النابتة

النسبة المئوية للإنبات = ---------- ×100

العدد الكلي للبذور المزروعة

B-النسبة المئوية لموت البادرات

حسبت هذه النسبة بعد(10 أيام) من الانبات لحبوب الحنطة وذلك بحساب عدد البادرات الميتة واستخرجت النسبة المئوية لموت البادرات حميد (2001) وفق المعادلة الاتية:-

عدد البادرات الميتة

النسبة المئوية لموت البادرات = ---------- ------ ×100

العدد الكلي للبادرات النابتة

C-حساب اطوال النباتات

اخذ ارتفاع ثلاث نباتات من كل مكرر ولكل معاملة عشوائيا وتم القياس من منطقة التاج الى القمة النامية.

8- التحليل الإحصائي

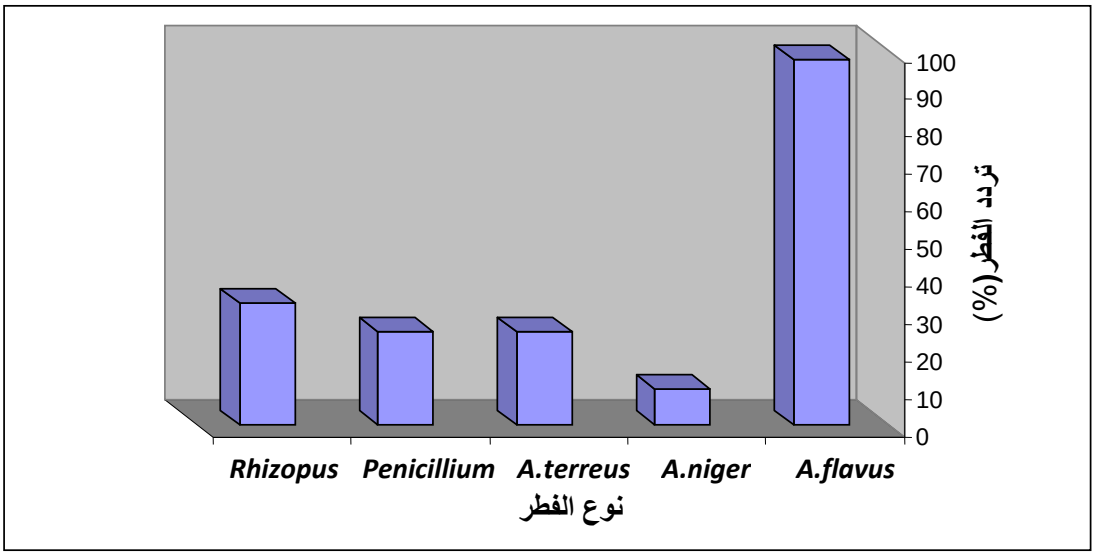
حللت جميع النتائج المختبرية بحسب نموذج التصميم الكامل Completely Randomized Desigen C.R.D. وتمت مقارنة المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي L.S.D. وعلى مستوى احتمال(0.05)(الراوي وخلف الله،1980).

النتائج والمناقشة:-

1-الفطريات المعزولة من حبوب الحنطة.

تم عزل العديد من الفطريات المرافقة لحبوب الحنطة شملت الفطريات *A.flavus* و *A.niger* و *A.terreus* و *Penicillium spp* و *Rhizopus spp*

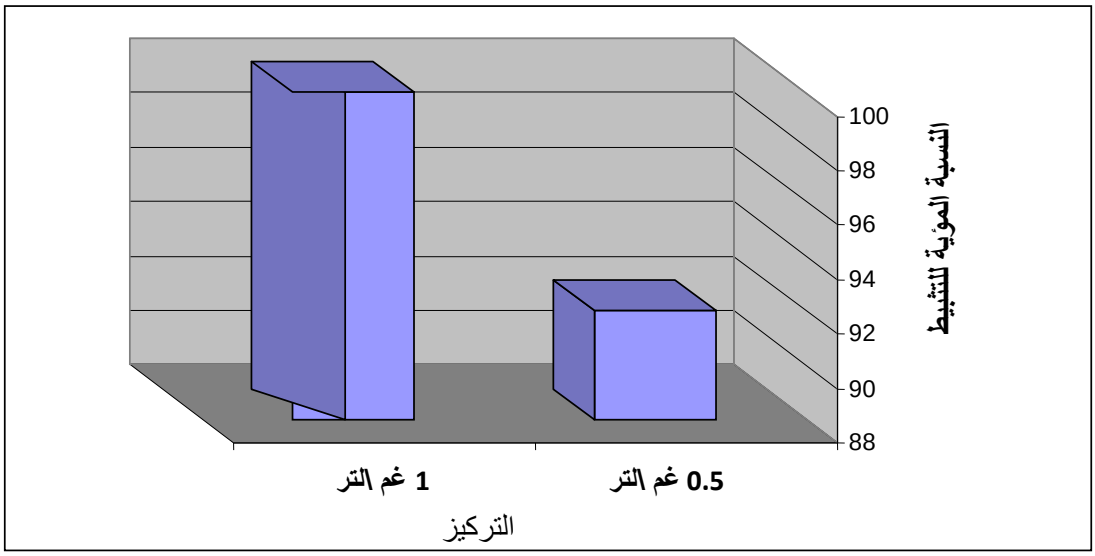
وكان الفطر *A.flavus* الاكثر ترددا حيث بلغت 98% في الوقت الذي كان فيه تردد الفطريات اعلاه 10 ،25,25، 33 %على التوالي (شكل 1).



شكل (1) الفطريات المعزولة من حبوب الحنطة و المنماة على وسط P.D.A بدرجة حرارة 25 مْ ولمدة 7 أيام .

تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه Abdel-Hafez وآخرون (1992). ان اعلى تردد للفطريات على البذور التي تحتوي على مستويات متدرجة من الرطوبة 11.5 ، 18، 22، 28 % من الوزن الجاف . وكان لفطريات الخزن مثل *Aspergillus spp*، *penicillium spp* اكثر على البذور ذات المحتوى الرطوبي الواطئ وعلى العكس من ذلك بالنسبة لفطريات الحقل مثل *Trichothecium* ، *Alternaria* ، *Cladosporium* كانت أكثر تردد على البذور ذات المحتوى الرطوبي العالي. وتم انتخاب الفطريات التالية *A.flavus* لكونه أكثر ترددا.

2- اختبار كفاءة المبيد الحيوي Thurine w.p بتراكيز مختلفة في تثبيط النمو الشعاعي للفطر *A.flavus* في الوسط الزرعي. أظهر الفطر *A.flavus* حساسيته لجميع تراكيز المبيد الحيوي المختبرة وبمعدلات تباينت فيما بينها معنويا حسب تركيز المبيد المستعمل إذ وصلت أعلى نسبة تثبيط عند التركيز 1 غم/لتر إلى 100 % وكانت 92 %عند التركيز 0.5غم/لتر . (شكل 2).



شكل (2) كفاءة المبيد الحيوي Thurine w.p بتراكيز مختلفة في تثبيط النمو الشعاعي للفطر *A.flavus* في الوسط الزرعي

ان القدرة التثبيطية للمبيد الحيوي يعود لوجود بكتريا *B.thuringiensis* الداخلة في تركيبة هي قدرتها على انتاج المضادات الحياتية (Antifungal) التي تقوم بتثبيط نمو الفطريات(Moyne واخرون2001).

واتفقت هذه الدراسة مع ماتوصلت اليه العميدي(2009) باستخدام تراكيز من المبيد الحيوي Subtlins Aبتركيز (2غم/لتر) قد ثبط نمو الفطرين *A.flavus* و *A.niger* بنسبة 99.8 و93 %على التوالي ،في حين انخفضت نسبة التثبيط للفطرين عند استخدام المبيد بتركيز0.5غم/لتر الى 84.7 و83.3 % الفطرين *A.flavus*و *A.niger* على التوالي، واكد Robert& Kazmar (2000 ,) ان بكتريا*Bacillus spp* قادرة على تثبيط نمو العديد من الفطريات الاقتصادية وخاصة *Fusarium*و*Aspergillus spp*و *Rhizopus spp* .

جدول (1)تاثير تراكيز مختلفة من المبيد الحيوي Thurine w.p في النمو الشعاعي للفطر*A.flavus* .

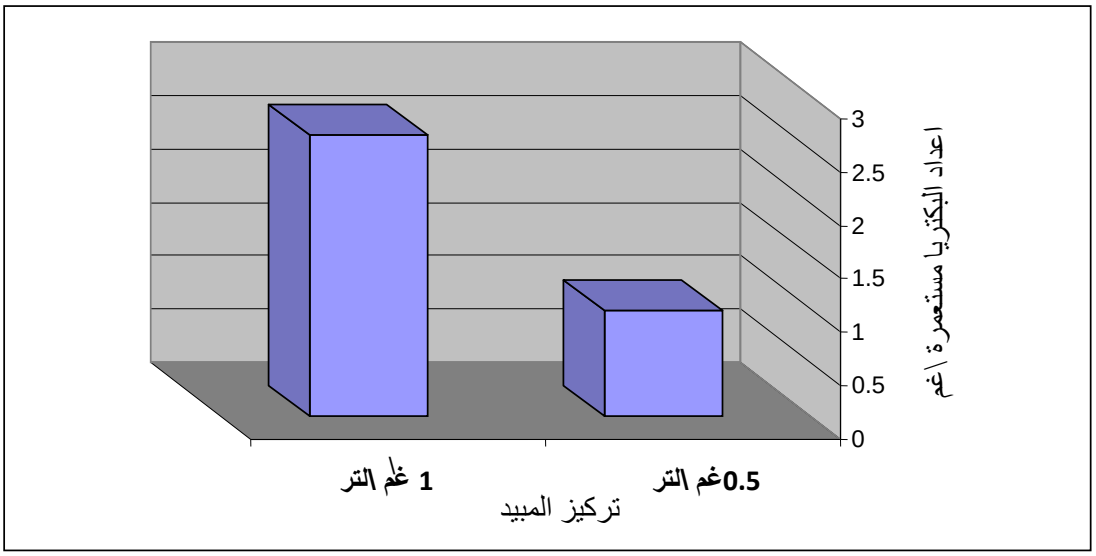
التركيز غم/لتر	معدل قطر المستعمرة	نسبة التثبيط%
0	9	0
0.5	8.3	7.7
1	0	100

L.S.D=0.26

3-التجربة الخزنية

تقدير اعداد بكتريا *B.thuringiensis* على حبوب الحنطة المعاملة بالمبيد الحيوي Thurine w.p بعد مرور ثلاث اشهرمن الخزن.

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي في الشكل (3) الى وجود فرق معنوي في اعداد البكتريا بعد مرور ثلاث اشهر من تاريخ خزن البذور،اذ تفوقت معاملة المبيد بتركيز10غم/كغم بذور والملوثة بالفطر*A.flavus* في اعداد البكتريا،اذ بلغت2.64×10^{12} وحدة تكوين مستعمرة/غم للفطر *A.flavus* في حين وصلت اعدادها الى 0.98×10^{12} وحدة تكوين مستعمرة/غممن البذور عند المعاملة بالمبيد بتركيز(5غم/كغم)بذور.

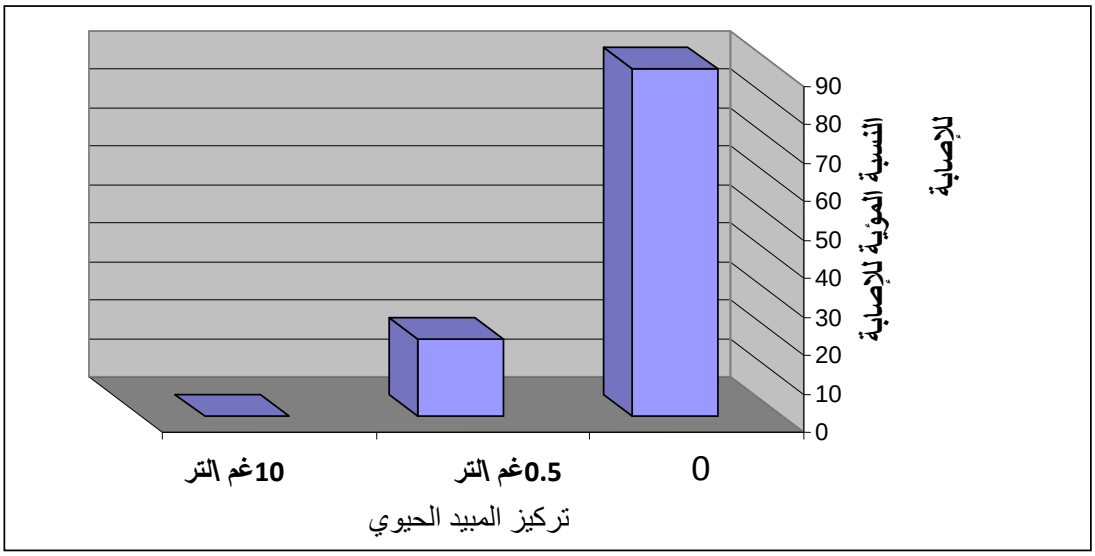


شكل (3) تقدير اعداد بكتريا *B.thuringiensis* على حبوب الحنطة المعاملة بالمبيد الحيوي بعد مرور ثلاث اشهرمن الخزن.

وهذا الفرق بين اعداد البكتريا يدل على ان زيادة تركيز المبيد المستعمل يؤدي الى زيادة اعداد البكتريا على البذور،واتفقت هذه النتائج مع عدد من الدراسات التي اكدت قدرة المبيدات المصنعة من جنس *Bacillus spp*على تحمل ظروف الخزن الطبيعي والمحافظة على فعاليتها البايلوجية لمدة طويلة وهذا يعود الى قدرة بكتريا *B.thuringiensis* على تكوين ابواغ داخلية في مقاومة الظروف البيئية القاسية في اثناء عملية الخزن (عبود،2005،ألجميلي واخرون2007).من جانب اخر ان للمادة الحاملة القدرة على المحافظة على الخلايا البكتيرية الخضرية وذلك من خلال توفيرها ظروفا ملائمة من حيث خفض درجة الحرارة وزيادة نسبة الرطوبة وذلك لتواجد البكتريا على سطوح حبيبات كاربونات الكلسيوم التي تقوم بدورها بامتصاص الرطوبة الموجودة في الهواء فضلا عن قلة امتصاصها الحرارة من المحيط مما يوفر حرارة ملائمة للخلايا الخضرية وتمنع جفافها(قاسم 1998،حميد2001).

تاثير التراكيز المختلفة للمبيد الحيويThurine w.p في نسب اصابة حبوب الحنطة بالفطر*A.flavus* بعد مرور ثلاث اشهر من الخزن.

بينت النتائج الموضحة في الشكل(4) كفاءة التراكيز المختلفة للمبيد الحيوي في خفض نسبة الاصابة بالفطر*A.flavus* في الحبوب المعاملة بعد انتهاء مدة التخزين الممتدة لثلاثة اشهر،اذ بلغت نسبة الاصابة بالفطر20 و0 % للتراكيز5و 10 غم/كغم على التوالي. واختلفت معنويا عن معاملة المقارنة التي كانت نسبة الاصابة فيها90 % .



شكل (4) تأثير التراكيز المختلفة للمبيد الحيوي في نسب اصابة حبوب الحنطة بالفطر*A.flavus* بعد مرور ثلاث اشهر من الخزن.

وهذا يعود اساسا الى قدرة البكتريا على افراز مضادات فطرية Antifungal تعمل على تثبيط انبات ونمو الابواغ للفطر *A.flavus* مما يؤدي الى تقليل او منع حدوث الاصابات الفطرية للحبوب وخاصة عند ارتفاع الرطوبة في المخازن التي لاتتوفر فيها شروط الخزن السليم. حيث ان بكتريا *B.thuringiensis* لها القدرة على انتاج العديد من الانزيمات الحالة(Lyticenzyme) التي تقوم بتحليل العديد من المركبات البوليميرية كالمركبات البروتينية والدهون والمركبات النشوية والكايتينية ومنها انزيم (Chitinase) المحللة لمادة الكايتين التي تعد المكون الاساس لجدران خلايا معظم الفطريات الراقية ومنها الفطريات الناقصة (Paraksh and Podil ، 1996).

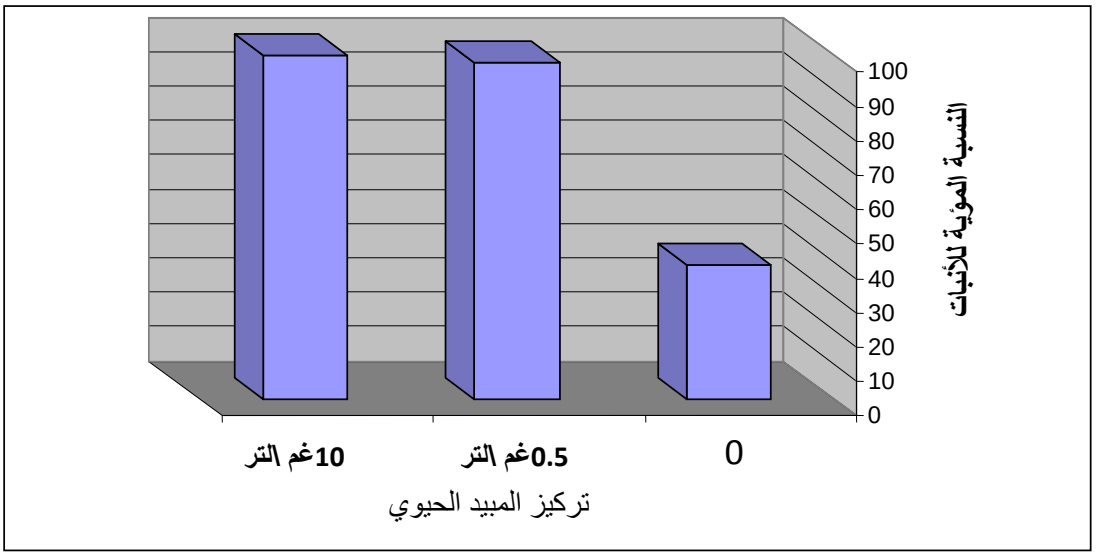
اضافة لذلك ان لهذه البكتريا القدرة على ايقاف نشاط الفطريات المتواجدة على سطح البذور بفعل المضادات الفطرية التي تفرزها للبيئة ومن ابرزها (Iturin A) ذو القدرة العالية في كبح نمو ونشاط الفطر *A.parasiticus* وشل قدرة الافلاتوكسينات (Kimura&Ono , 1991) واشار الجميلي ومزهر(2008) ان بكتريا *B.subtilis* قادرة على تثبيط نمو العديد من الفطريات الاقتصادية وخاصة أنواع الفطر *Aspergillus spp* فضلا عن قدرة هذه البكتريا على منافسة الكائنات الاخرى على الغذاء والمكان من خلال قدرتها العالية على استغلال مكونات وسط الغذاء الذي تنمو عليه وسرعة تكاثرها.

من جانب اخر ان لمادة كاربونات الكالسيوم اثر في تثبيط نمو الفطريات المخزنية ومنها*A.flavus* و *A.niger* من خلال قدرتها على خفض المحتوى الرطوبي للبذور للمستوى الذي يمنع انبات وتطور ابواغ الفطريات (Siriacha واخرون 1989).اذ ان لهذه المادة القدرة على امتصاص الرطوبة من خلال اختلاف السمات الرطوبية بينها وبين الحبوب حيث انها لاتنميا بسهولة (الكبيسي،1989).

3-تقييم نشاط وفعالية المبيد الحيوي Thurine w.p المعفر لحبوب الحنطة في التربة بعد مرور ثلاث اشهر من الخزن.

ـنسب الأنبات

اثر الفطر *A.flavus* في حيوية حبوب الحنطة المخزنة حيث انخفضت الى39 % في حين ارتفعت الى 98 و100 % في الحبوب المعاملة بالمبيد الحيوي بتركيز5 و 10غم/كغم بذور على التوالي (شكل 5).

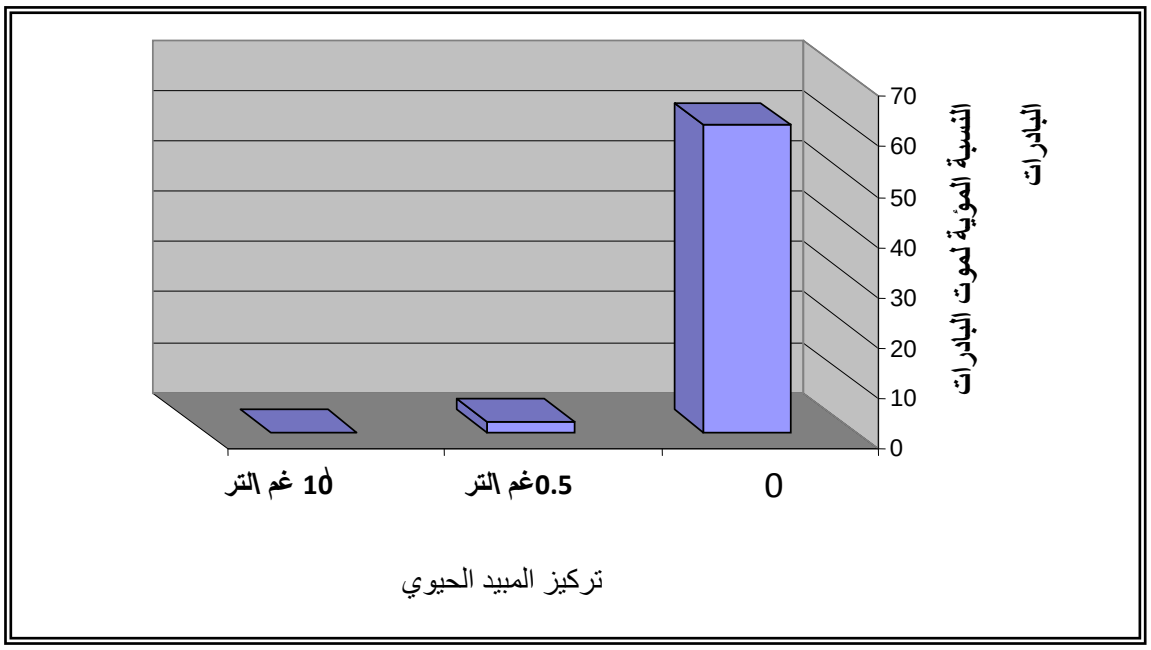


شكل(5) تأثيرتراكيز المبيد الحيوي في نسبة انبات حبوب الحنطة المخزنة بعد مرور ثلاث اشهر .

وهذا يعود الى امكانية البكتريا على افراز هرمونات محفزة للانبات وهناك ادلة قاطعة اثبتتها العديد من الدراسات على قدرة انواع من بكتريا *Bacillus* وخاصة*B.thuringiensis* و*B.subtilis* و*B.cereus* على افراز هرمونات الجبرلينات وحامض الاندول والزياتين (الجميلي ومزهر،2008).ولهذه الهرمونات اثر في انبات البذور اذ ان البذور تكون محاطة بطبقة رقيقة من خلايا حية غنية بالبروتين تسمى Aleuron layer وهذه الطبقة تحفز بواسطة البولينات لتكوين الانزيمات المحللة والتي تهضم النشا والبروتين كانزيماتB.amylase و &.amylaseوانواع مختلفة من Protease التي تحولها الى مواد بسيطة وذائبة تستعمل لتغذية الجنين (محمد واليونس،1991).وتوصلت العميدي(2009) عند استخدام المبيد الحيوي Subtilin A بتركيز 10غم/كغم بذور اثر في رفع نسبة الانبات الى (100%) في حبوب الذرة الصفراء المعاملة بالفطرين *A.flavus* و*A.niger*.

نسب موت البادرات

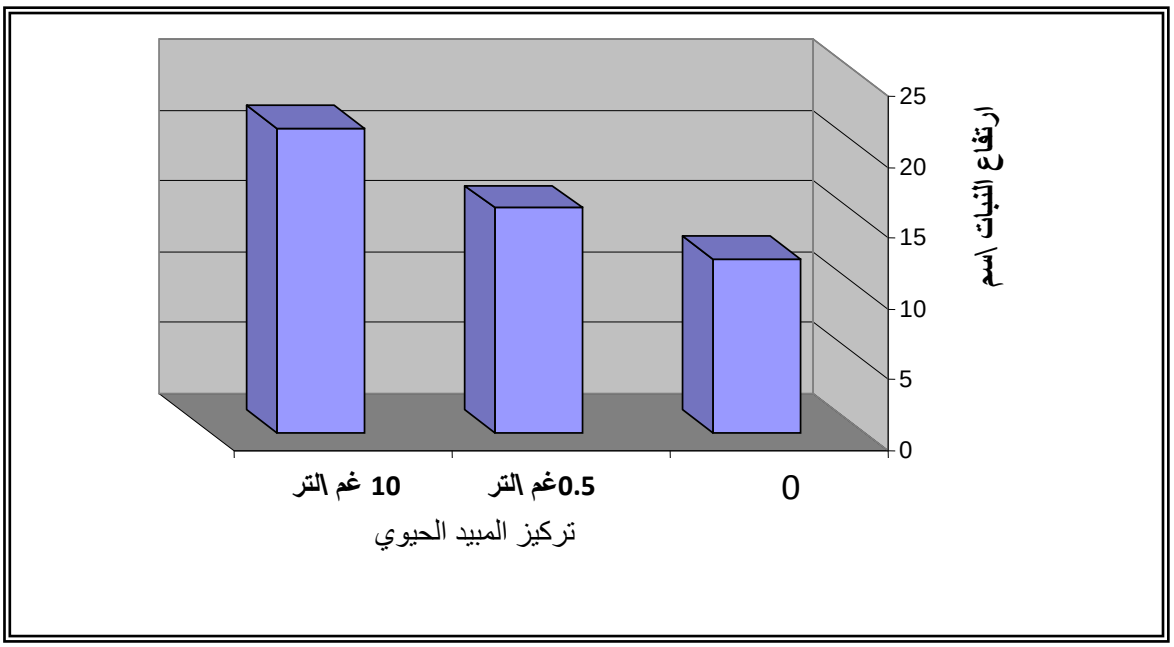
اشارت نتائج الاختبار الموضحة بالشكل (6) ان جميع تراكيز المبيد الحيوي ذات نتائج جيدة في خفض معدلات نسبة موت البادرات الى2 و0 % في الحبوب المعاملة بالمبيد الحيوي بتركيز 5و 10غم/كغم بذور مقارنة بمعاملة السيطرة وصلت نسبة موت البادرات الى 61 % ويعود ذلك الى زيادة اعداد البكتريا في منطقة المحيط الجذري Rhiziosphere وبالتالي توفيرها حماية افضل.واشارت كثير من الدراسات الى القدرة التثبطية لهذه البكتريا تاتي من قدرتها على انتاج المضادات الحياتية Surfactin,Mycosubtilin ,Fengycin التي لها القدرة على تثبيط العديد من الفطريات الممرضة (Kinsinger واخرون،2003).



شكل(6) تأثيرتراكيز المبيد الحيوي في نسبة موت بادرات حبوب الحنطة المخزنة بعد مرور ثلاث اشهر

ارتفاع نبات الحنطة

يتضـمن الشـكل(7) وجـود اخـتلاف معنـوي فـي معـدل ارتفـاع نباتـات الحنطـة بالمعاملـة بـالتركيزين 5و 10غم/كغم من المبيد الحيوي.اذ كان اعلى ارتفاع للنبات في التركيز10غم/كغم بذور اذ بلـغ 21.53سم فـي حـين بلغ معدل ارتفـاع النبـات فـي معاملـه المقارنـة 12.33سم امـا التركيـز5غم/كغم بـذور وصـل معـدل ارتفـاع النبـات الى17.23سم.



شكل(7) تأثير تراكيز المبيد الحيوي في معدلات ارتفاع نبات الحنطة

ويعزى تفوق معـاملات المبيد الحيـوي عن معاملـة السيطرة الـى كثافـة البكتريـا فـي منطقـة المحيط الجـذري Rhiziosphere والمعروف ان بكتريـا *Bacillus spp* تعـود لمجموعـة البكتريـا المحفزة للنمـو (PGPR) Plant growth promoting rhizobacteria ولها القدرة على تثبيط العوامل المرضية وبآليات مختلفة الامر الذي يؤدي الى نمو النباتات بصورة طبيعية بعيدا عن تلك التـاثيرات (Georg واخـرون،1998).من جانـب اخـر

اشارت الدراسات الى قدرة بكتريا*Bacillus spp* على توفير مصدر غني من النتروجين والصوديوم والاملاح الاخرى في منطقة Rhiziosphere نتيجة لتحليل البكتريا للمخلفات العضوية والغزل الفطري ومن ثم توفير مصدر غذائي مهم لمنطقة الجذر تساهم بشكل فعال في زيادة معدل طول النبتة وزيادة نموها الخضري(Yaming واخرون ،2003).

المصادر العربية

ألجميلي ,سامي عبد الرضا وثامر خضيرمرزة وآلاءعبدعلي الخفاف(2007).تقييم كفاءة المبيدين الحيويين فلوراميل والباسلين على مرض نقض وموت البادرت المتسبب عن الفطر*Pythium aphanidernatum* لنبات الخيار في الحقل. مجلة جامعة كربلاء العلمية.المجلد(5)العدد الاول.

ألجميلي .سامي عبد الرضا وموسى نعمه مزهر .(2008) .تأثير عنصري البورون والمنغنيز في نمو البكتريا *Bacillus cereus*وقدرتها على إنتاج الهرمونات.المؤثر العملي الأول للعلوم ألصرفه والتطبيقية لجامعة الكوفة .13-14.

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

الأنصاري ،سالم مهدي.(1982).أساسيات الفطريات.مطابع دار الحكمة.للطباعة والنشر-جامعة بغداد وزارة التعليم العالي.

العاشور، علي جابر جاسم. (2005). امكانية انتاج مستحضر حيوي من لقاح بكتريا *Bacillus cereus* للسيطره على بعض الفطريات المسببه لموت البادرات. رسالة ماجستير، كلية العلوم - جامعة الكوفه. 79 صفحة.

ألعميدي ، رمله احمد محمد حسن ،(2009). تقييم كفاءة بكتريا *Bacillus subtilis* في حماية بذور الذرة الصفراء من الاصابه بالفطرين *A.niger ،A.flavus* تحت ظروف الخزن الطبيعي وفي التربة .رسالة ماجستير.كلية العلوم -جامعة الكوفة.

الكبيسي،نوري حميد ارزيك (1989)تأثير كاربونات الكالسيوم على بعض صفات التربة الفيزياويه والمعدنيه .رسالة ماجستير ،كلية الزراعة –جامعة بغداد .

حميد,سميرة كاظم,(2001).تقنية مستحدثة في إنتاج مبيد حيوي من لقاح سلالة البكتريا *Psendomonas fluorescens CHAO* .رسالة ماجستير. كلية العلوم-جامعة الكوفة. 66صفحة.

.روبرتس،.Z.،(1995).سلامة الغذاء (ترجمة ساجدي،عادل جورج)دار الحكمة للطباعة والنشر .جامعة البصرة.464صفحة.

شعبان ،عواد ونزار مصطفى الحلاج .(1993).المبيدات .دار الكتب للطباعه والنشر .جامعة الموصل .520صفحه

عبود,بسعادعبدزيد(2005).دراسة امكانية تصنيع مستحضر حيوي من لقاح البكتريا *Bacillus B.thuringiensis* لمقاومةحشرة من الخوخ الأخضر(sulzer) *myzus persicae* .رسالة ماجستير.كلية العلوم-جامعة الكوفة76 صفحة.

قاسم.منال محمود.(1998)دراسة كفاءة كاربونات الكالسيوم ومستخلص سلالة البكتريا pf5 *Psendomonas fluorescens* في حماية حامل الذرة الصفراء من الإصابة يالفطر- *Aspergillus flavus* L والتلوث بسموم الافلاتوكسينات B1 , B2 في المخزن.مسالة ماجستير. كلية الزراعة-جامعة البصرة. 58 صفحة.

محمد ،عبد العظيم ومؤيد احمد اليونس .(1991).أساسيات فسيلوجيا النبات وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .جامعة بغداد .461صفحة.

.ميخائيل ،سمير ،وتركي ببدر (1982).أمراض البذور .دار الكتب للطباعة والنشر –جامعة الموصل .

Abbott, W.S.(1925). Amethod of computing the effective ness of an insecticides. J. Ec. Ent. 18: 265-267.

Abdel-Hafeze, S.I.I;moubasher,A.H ;El-Hissy,F.T.and Hassn,S.K.M. (1992).Effect Temperature and moisture content on germination, Capacity and paddy grain –borne fungi from Egyption peanut seed-born fungi .70(1)- 49 -54.

Anderson,A.O.(1996)-plant pathogy.Jur of biotenology.6=37-42. 2122.

Doyle,M.P.;Applebaum,R.S.;Brackett,R.E.and Marth E.H.(1982).Physical ,chemical and biological degradation of mycotoxin in foods and agricultural commodities .J.of food prot.45(10):954-971 .

Clark ,F.E.(1965) .Agar .Plats method for total microbial (C.F:Black:1965);method of soil analysis part 2 publisherMadeson ,Wiscon sin U.S.A.;1572.

Collec,J.G;Fraser,A,G.; Marmion,B.P.and Simmons A.(1996).Practical medical microbiology .Mackie and McCarthy Pearson professional limited. 14thed.

Georg,S.;joseph,R.and Kloepper,W.(1998).Mixtules of plant growth-promotiong Rhizabacteria Enhance biological control of multiple cucumber pathogens.USA .Jour 88:15_17.

Kazmar,R.E&Robert,M.G.(2000). Regression Analyses for evaluating the influence of *Bac.llus cereus* on Alfalfa yield under variable disase intensity.Amer.Jour.plant pathology.90: 657-665.

Kinsinger .R.F;Shirk ,M.C;and Fall ,R.(2003). Rapid surface motility in *Bacillus suptilis* is dependent on extra cellular surfactin and potassium ion .Jour .Bacteriology -185:5627-5631.

Leben ,S.D.;Wadi ,J.A.and Easton ,G.D (1987). Effects of *Pseudomonas flourescens* on potato plant growth and control of *Verticillium dahlia* physiopathology .;77:1592-1595.

Moyne ,A.l; Shellby ;Cleveland,T.E.and Tuzan,S.(2001).Bacillomyc- in D-and iturin with antifungal activity against *Aspergillus flavus*. Jour.Appl microbial.90: 622-

NCBI;National center for biotechnology in formation ,Us,national library of midicin (2008) 1996 Rockulle Pike,Bethesda,MD,USA.

Ono.M.and Kimura ,N.(1991).Antifungal peptides produced by *Bacillus subtilis* for the biological .Gntrol of aflatoxins contamination

Paraksh,A.p and podil,A.R.(1996)-lysis and biological control of *Aspergillus niger* by *Bacillus subtils* AF1,can .Jour –Microbial.42(6): 8 - 533.

.Raper ,K.B.and Fennel ,D.I.(1965).The genus *Aspergillus* William and Wilkins company .Baltimore .pp:686.

Siriacha ,P.;Kawashima,K. Kawasng.S.;Sato ,M.and Tonboon,E.K, P.(1989).Post havest contamination of thiacorn with *Aspergillus flavus* Cereal chem-66(6):445-448.

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

Evaluate the efficiency of Biocides Thurine wp the protect vitality of the wheat grains contaminated with *Aspergillus flavus* stored and their ability to germination

Adraa H.Mohssan Zainab M.Saleh Lena A.Al-Salamee

College of scince /University of Kufa

Abstract

of the wheat
ability to germinat
including fungi a
Rhizpusspp The f
fungi. And the res
of biocidal tested a
and reached the hi
concentration 0.5
difference in the
Treatment of biocid
the numbers of ba
when they arrived,
seeds when treated
show the efficienc
incidence of fungi
period of three mo
of 5 and 10 g / kg,
the rate was 90%
the effectiveness o
three months of sto
seeds of wheat sto
treated with biocid
have decreased the
biocide concentrat
percentage of the
will assure a signi
concentration 5 a
concentrate 10 g /
treatment of compa