تشخيص بعض الأحماض الكاربوكسيلية لعسل النحل وتاثيرها التثبيطي في بعض فطريات تعفن جذور شتلات الكاتالبا ونمو وتطور دودة الشمع الكبرى [+]

اياد جاجان الداؤدي [*] مهدي محمد صالح سعيد [**] أنور نوري الخيرو [**]

المستخلص :

شملت الدراسة على تشخيص بعض الاحماض الكاربوكسيلية في نوعين من عسل النحل ولموقعين مختلفين في مركز محافظة نينوى وهما موقع منطقة الدندان جنوب المحافظة وموقع منطقة القاضية لكلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل شمال مركز المحافظة وذلك باستخدام تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) Thin Layer chromatography واختبار تأثير هذه الاحماض في فطريات تعفن جذور شتلات الكاتالبا *Catalpa sp.* وكان ظهور حامض الاوكزاليك في عينات العسل جميعها بنوعيها الناضج وغير الناضج وللموقعين ، في حين ظهر حامض مجهول مقتصراً على عينة عسل غير الناضج (دندان) ، كما شخصت الاحماض الترتاريك والاسكوربيك والستريك على التوالي في عينة العسل الناضج / القاضية والتي تطابقت قيم سرع جريانها مع قيم الجريان القياسية لهذه الاحماض ، كذلك اظهرت نتائج مطابقة البقع الظاهرة في عينة العسل غير الناضج /القاضية مع القيم القياسية لسرع الجريان للاحماض العضوية تشخيص اكبر عدد من الاحماض العضوية في العينة المذكورة من العسل حيث شخصت الاحماض العضوية حامض الترتاريك (0,20) ، حامض الاسكوربيك (0,32) ، حامض الستريك (0,42) ، حامض الماليك (0,50) ، حامض السكسونيك (0,70) فيها ، وتبين من نتائج الاختبارات الحيوية لهذه الاحماض في فطريات تعفن جذور الكاتالبا المعزولة والمتضمنة فطريات *Macrophomina phaseolina* و *Rhizoctonia solani* مختبريا تفوق حامض الاوكساليك في تثبيط فطريات تعفن جذور الكاتالبا مقارنة بالحوامض الاخرى وعند اقل تركيز (2,5) غم / لتر حيث اظهر تثبيطا معنويا للفطرين *Rhizoctonia sp.* و *Macrophomina phaseolina* بلغ 100 % ، كذلك بينت النتائج عند تربية دودة الشمع الكبرى على نوعي العسل الناضج وغير الناضج تفوق العسل الناضج عن العسل غير ناضج معنويا وكذلك منطقة الدندان عن القاضية في اعطاء اقل فترات التربية لكل من اليرقات والعذارى واطول فترات الحشرات الكاملة لوضع البيض وعدده من قبل الاناث .

[+] تاريخ استلام البحث 2012/5/3 , تاريخ قبول النشر 2013/1/20 .

[*] استاذ / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

[**] مدرس / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

IDENTIFICATION OF SOME CARBOXYLIC ACIDS IN RIPE AND UNRIPE HONEYBEE AND THEIR INHIBITORY EFFECT ON FUNGAL ROOT ROT IN CATALPA SEEDLINGS AND THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE GREATER WAX WORM

Aiad jajan aldaodi **Mahdi Mohammed Salih Saeed** **Anwar Noori alkhero**

Abstract :

The study included a diagnosis of some carboxylic acids in two types of honeybee and two different locations in the province of Nineveh, one in the site of Aldanadan south of the province and the second location of the Qathya in the College of Agriculture and Forestry/University of Mosul, north of the city, using the Thin Layer chromatography technique (TLC)and testing the effect of these acids on in the fungal root rot on Catalpa sp seedlings.The investigated acids Included carboxylic acids (organic) .All samples of honey used in the study showed in the diagnostic results,the appearance of oxalic acid in the honey both types of ripe and unripe honey samples in the two sites (Aldanaadan and Qathya)while an anonymous acid (Anonymous 1) was limited to the ripe honey sample of in (Aldandan),while the organic acids of tartaric ascorbic and citric acids respectively were diagnosed in the sample of ripe honey/Qathya,which flow values matched the values of flow standard for these acids. The results also showed that when comparing the spots of the unripe honey sample / Qathya with standard values of the accelerated flow for the diagnosis of organic acids, the largest number of organic acids in the sample of mentioned honey were diagnosed as organic including acids tartaric acid (0.20), ascorbic acid (0.32), citric acid (0.42), malic acid (0.50), and succinic acid (0.70). The results of the in vitro bioassays of theses acids in the isolated root rot fungi in Catalpa sp including the fungus Macrophomina phaseolina and Rhizoctonia solani that oxalic acids were superior in their inhibition of root rot fungi,compared to the other acids and at a lowest concentration of (2.5)g /L where they showed significant inhibition of the two fungi Rhizoctonia sp. And Macrophomina phaseolina by 100%,. The results also showed when breeding the greater wax worm on ripe and unripe honey the ripe honey had a significant superior effect besides the Aldanadan site was superior to the Qathya site decreasing the breeding period both larvae and virgins and longer periods of egg-laying and number eggs per mature female .

المقدمة :

يعد عسل النحل من النعم الالهية التي مَنَّ الله بها على عبادة ويتجسد ذلك بالاعجاز العلمي لعسل النحل فقد افرد سبحانه وتعالى سورة كاملة للكائن المنتج لهذا العسل وذلك لعظم اهميته ، والعسل ماهو إلا رحيق الأزهار بعد أن تقوم الشغالات من جنس Apis بتجهيزه وهضمه ليتحول إلى عسل ناضج يخزن بالأقراص الشمعية ، ويتم تحويل الرحيق إلى عسل تحت تأثير أنزيم الأنفرتيز الذي يحول السكريات الثنائية إلى أحادية وأنزيم الأميليز الذي يحول المواد النشوية إلى مواد أبسط تعقيداً وفي الوقت ذاته تنخفض نسبة الرطوبة بالعسل [1] . ويحتوي عسل النحل العديد من الأحماض العضوية والمعدنية والأمينية، وبالرغم من أن هذه الأحماض تمثل نسبة ضئيلة جداً في تركيب العسل إلا أن لها تأثير على الطعم ، كما أنها مسؤولة جزئياً عن قدرة العسل القوية على منع نمو الأحياء الدقيقة فيه ، وأول الأحماض العضوية التي

اكتشفت بالعسل حمض النمل ، ثم أمكن التعرف إلى حوالي 18 حمض عضوي أهمها : حمض الكلوكونيك، حمض الماليك ، حمض اللبنيك، حمض الليمونيك، حمض الخليك ، حمض الأوكزاليك . ويعد حمض الكلوكونيك Gluconic acid أهم الأحماض العضوية الموجودة في العسل ويوجد بكميات ملحوظة بالنسبة لباقي الأحماض ، وينتج هذا الحامض عن طريق النشاط الأنزيمي لأنزيم كلوكوز أوكسيديز Glucose oxidase على سكر الدكستروز (الكلوكوز) حيث يتكون بالإضافة لحمض الكلوكونيك الماء الأوكسجيني H2O2. [2 و 3] . وقد بينت التحاليل الكيميائية في 37 عينة من العسل من اعسال كاليفورنيا ان متوسط نسبة حامض الفورميك بلغت 0,16 ، ووجد أن الحموضة في العسل (0,09 – 0,16) في صورة حامض الفورميك في حالة الاعسال الباكستانية كما بين ان الاحماض الموجودة في العسل هي حامض الستريك ، حامض الفورميك ، حامض الماليك ، حامض السكسنيك ، حامض الخليك ، حامض اللاكتيك ، حامض البيروكلوتاميك ، حامض الكلوتامبك ، حامض الفسفوريك ، حامض الهيدروكلوريك [4] .

تعد فطريات تعفن الجذور من الفطريات المسببة للعديد من الخسائر في مشاتل الغابات وخاصة في مراقد البذور ومراقد التفريد وتهاجم الفطريات المسببة للمرض الشتلات المزروعة في ترب غير معقمة ، كما تتعرض شتلات اشجار الغابات ومنها الصنوبر والسرو والكازورينا عند تنميتها في مراقد البذور الى مهاجمة الشتلات المزروعة ومن هذه الفطريات *Macrophomina phaseolina* وانواع من الفطر *Fusarium* و *Rhizoctonia solani* وغيرها من فطريات تعفن الجذور [5] ، وعن الاضرار التي تحدثها دودة الشمع الكبرى لاطارات النحل التي تحتوي على العسل فقد بين [6] ان الانثى الواحدة تضع بيضها على اقراص الشمع او الاطارات لخلايا النحل بحدود 1810.500 بيضة تتغذى اليرقات على الشمع والمحتويات الموجودة داخل النخاريب الشمعية ، وبعد مرورها تسعة اعمار تتحول اليرقات الى عذارى داخل شرانق قوية من الحرير الابيض ، يستغرق طور العذراء حوالي 49.8 يوما اعتمادا على درجات الحرارة السائدة ، كذلك اوضح [7] ان الحشرات الكاملة لدودة الشمع الكبرى تختفي نهارا في الخلايا المصابة او بالقرب منها وتنشط ليلا ، تضع الاناث البيض على اقراص الشمع او شقوق الخلايا ، الحشرات الكاملة لاتتغذى على محتويات الخلية ، خصوبة الاناث عالية اذ تضع مابين 500 ـ 2000 ، الفراشات غير الملقحة تضع بيضا اقل ولكن لايفقس ، تتراوح فترة الاطوار في درجة حرارة 35ْم بوجود الظلام التام لكل من البيض حتى يفقس 10ـ 20يوم ، لليرقة سبعة أعمار يرقية ، كبسولة الراس في اليرقات اعرض في الاناث عن الذكورالتي في نفس العمر ، تتحول اليرقات الى عذارى في شرانق من الحرير الرمادي ، يبلغ طور العذراء 8 ـ 45يوم اعتمادا على درجات الحرارة السائدة .

ولدراسة التاثير المثبط لبعض الاحماض الكاربوكسيلية الموجودة في العسل بنوعيه الناضج وغير الناضج وفعاليته في مكافحة بعض فطريات تعفن جذور شتلات الكاتالبا وكذلك على نمو وتطور دودة الشمع الكبرى وما تحدثه من اضرار للاقراص الشمعية داخل خلايا نحل العسل قمنا بهذه الدراسة .

المواد وطرائق العمل :

1- جمع عينات العسل :

جرى تربية نحل العسل في خلايا لانكستروث الحديثة لسهولة التربية ، حيث جرى اختيار موقعين في مدينة الموصل احدهما يمثل شمال الموصل وهو منحل كلية الزراعة والغابات في منطقة القاضية والثاني من احدى المناحل في حي الدندان جنوب الموصل لمعرفة التباين في هذين الموقعين من حيث نوعية العسل المنتج من حيث المصدر وهو المنطقة اعتمادا على الغطاء النباتي الذي يجمع منه النحل رحيق الازهار لينتج منه عسلا يمثل تلك المنطقة اعتمادا على تاثير المنطقة على نوعية الرحيق المنتج الذي بدوره سيحوله الى عسل غير ناضج او ناضج واختبار كل منهما كيميائيا

للمواد المرجو وجودها ونسبتها في كل عينة مخصصة تم الحصول عليها ، اخذت عينتان من كل موقع عن طريق الفحص الدوري لخلايا النحل في موعد اخذ العينة حيث اخذ العسل الغير ناضج في الاسبوع الاول من الشهر الرابع من الاطارات الغير مختومة بالاغطية الشمعية ذات المحتوى المائي الاكثر وهي تمثل العسل الغير الناضج ، كما اخذ العسل الناضج في منتصف الشهر السادس من الاطارات المختومة بالاغطية الشمعية ذات المحتوى المائي الاقل نسبة (15–18%) وهي تمثل العسل الناضج حيث فحصت الخلايا فحوصات متعددة دورية لمعرفة نشاط نحل العسل في جمع الرحيق وتحويله الى عسل بنوعيه من قبل النحل الحاضن وذلك بوضعه في العيون السداسية لكل اطار من الخلايا الموجودة في كل موقع .

2 – الاستخلاص بالمذيبات العضوية :

استخلاص الاحماض الكاربوكسيلية (العضوية) من عسل النحل :

جمعت اربعة عينات من عسل النحل وبواقع عينتين (عسل ناضج وعسل غير ناضج) من منطقة الدندان / مركز محافظة نينوى / الساحل الايمن ، وعينتين من العسل لمنطقة القاضية (عسل ناضج وعسل غير ناضج) / الساحل الايسر ، استخدمت طريقة [8] وذلك بعد وزن 25غم من كل من العينات السابقة (كل على حدة) ثم اذيبت في 250 مل من الكحول الاثيلي 95% ونقل المذيب الى جهار المازج الكهربائي Electric mixture ياباني الصنع ولفترة 48 ساعة ، رشح المحلول باستخدام اوراق ترشيح نوع Zelpa للتخلص من الشوائب ونقل الراشح الى جهاز المبخر الفراغي الدوار Rotary vacuum evaporator وتم التبخير حتى وصول الراشح الى حجم 25مل ونقل الراشح الى قناني زجاجية ، كررت العملية بالنسبة للعينات الاخرى وحفضت العينات المستخلصة في قنانٍ زجاجية مضللة تحت درجة 5 م لحين اجراء الاختبارات اللاحقة عليها .

3 – التحلل الحامضي لمستخلص العسل :

اجري التحلل الحامضي Acid hydrolysis لمستخلص عسل النحل التاضج وغير الناضج ولموقعي الدندان والقاضية وذلك حسب طريقة [8] وذلك لفصل الاحماض الكاربوكسيلية عن الكلايكوسيدات بعد استخدام 5 مل من كل عينة من عينات العسل ، اضيف اليها 100 مل من 1 عياري من حامض الهيدروكلوريك والغليان في حمام مائي ولمدة ساعة واحدة ثم ترك المحلول ليبرد ونقل منه 25 مل الى قمع فصل واضيف اليه 50 مل من خلات الاثيل Ethyl acitate مع الرج لمدة 5 دقيقه ثم ترك الخليط ليستقر وينفصل في قمع الفصل الى طبقتين حيث الطبقة العلوية تمثل الاحماض العضوية والطبقه السفلية تمثل جزء الخلات الذي تم تفريغة من اسفل القمع والتخلص منه كررت العملية مع خلات الاثيل مرة ثانية وبذلك تم الحصول على الطبقة العليا فقط وتنقلت الى قنانٍ مضللة لحين اجراء الاختبارات اللاحقة عليها .

4 – الفصل والتشخيص الوصفي الكروموتوكرافي للاحماض الكاربوكسيلية :

اجري فصل الاحماض الكاربوكسيلية من مستخلص عسل النحل باستخدام تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromotography (TLC) وذلك وذلك حسب [8] بعد نقل اربعة عينات بقياس 5 مايكروليتر من انواع العسل قيد الدراسة اضافة الى العينات القياسية الى خط البداية من صفيحة كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة قياس 20 × 20 سم ، وضعت العينات باستخدام انبوبة شعرية قياس 20 مايكروليتر ، مع استخدام عينات مقارنة من الاحماض القياسية تم الحصول عليها من مختبرات كلية الزراعة والغابات / مختبر الكيمياء / فرع العلوم الاساسية) ، نقلت الصفيحة الى حوض الفصل والذي يحتوي على نظام الفصل 4 / 1 / 5 ح/ح/ح بيوتانول : حامض الفورميك : ماء مقطر ، تم تغطية

حوض الفصل بالغطاء وتركت الصفيحة حتى وصول مذيب الفصل الى خط النهاية في الصفيحة ، نقلت الصفيحة وتركت لتجف ثم استخدم كاشف المثيل الازرق رشاً لاظهار البقع على الصفيحة وحسبت متوسط سرع الجريان للبقع والتي تمثل الحوامض الكاربوكسيلية .

5- عزل وتشخيص الفطريات :

اجري العزل من عينات من شتلات كتالبا *Catalpa sp.* مصابة بتعفن الجذور وشملت اعراضه على المجموع الخضري للشتلات بشكل تغير في الوان الاوراق وتحول لون الاوراق الى اللون البني على المجموع الجذري بحدوث اسوداد وموت للشعيرات الجانبية والجذور الجانبية [5] وكانت الشتلات مزروعة في اكياس نايلون في مراقد التفريد وفي مشتل قسم الغابات / كلية الزراعة والغابات وتم العزل بعد نقل الشتلات الى المختبر ووضعت تحت الماء الجاري لمدة 4 ساعات لازالة الاتربة من الجذور والمواد الغريبة ثم نقلت الجذور بعد تقطيعها الى اجزاء بطول 1 سم ، وغمرت في محلول هايبوكلورات الصوديوم 1% ولمدة 4 دقائق ، ثم جففت بأوراق ترشيح ثم نقلت الى اطباق بترية معقمة حاوية على الوسط المغذي اكار البطاطا والدكستروز PDA المضاف اليه المضاد الحيوي سلفات الستربتومايسين بتركيز 100ملغم /لتر وبمعدل 4 قطع / طبق ، حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 +2 سيليزية ، واجري تشخيص للفطريات المعزولة من شتلات الكاتالبا المصابة بمرض تعفن الجذور اعتمادا على مفاتيح التصنيف العالمية وكما يلي :

أ – الفطر *Macrophomina phaseolina* :

استخدم مفتاح تصنيف [9] في تشخيص الفطر حتى مرتبة الجنس حيث قورنت صفات الهايفات من حيث وجود الجدر العرضية والتقسيم ونوع التراكيب الثمرية اللاجنسية (البكنديا) واشكالها غامقة او فاتحة ووجود اوعدم وجودها ونوع الخامل الكونيدي مركب او بسيط وعدد الكونيدات واطوالها ، اما بالنسبة الى التشخيص حتى مرتبة النوع فقد اعتمد على تصنيف [10 و 11] وذلك باستخدام مجموعة من الصفات منها ابعاد البوغ البكنيدي والبكنديا وكذلك ابعاد الاجسام الحجرية ونوع الابواغ البكنيدية وعدد خلايا الابواغ وهي احادية الخلايا وشفافة كما اعتمد على نوع الحامل الكونيدي وكان من النوع البسيط والاسطواني والذي يضيق نحوى الاعلى كما اعتمد ايضاً في التشخيص على ابعاد فتحة البكنديا (ostiolate) ومتوسط ابعاد الهايفات الفطرية .

ب – الفطر *Rhizoctonia solani* :

اجري التشخيص حتى مرتبة الجنس اعتماداً على مفتاح تصنيف [9] حيث قورنت صفات الهايفات من حيث نموها كونها عقيمة وعديمة الابواغ عند الفحص المجهري للفطر وبعد تنميته في الوسط المغذي ، وتم التشخيص حتى مرتبة النوع من خلال التعرف على الهايفات الفطرية النامية في الوسط المغذي اكار البطاطا والدكستروز وذلك بكونها عديمة اللون في بداية النمو ثم يتحول لونها الى اللون الغامق وبعدم تكوينها للابواغ الفطرية اللاجنسية والميسليوم عقيم يتميز بكونه يحتوي على خلايا برميلية متطاولة تحتوي على اكثر من ثلاث نوى كونها عديدة النوى في اغلب الاحيان وغالباً ما تشكل منطقة اتصال الافرع مع الفرع الرئيسي زاوية قائمة مع وجود تعنق بسيط في منطقة الاتصال اضافة الى احتوائه على جدر عرضية مثقبة ويُكوّن مايسيليوم الفطر اجسام حجرية sclerotia [12 و 13 و 14] .

6 – الاختبار الحيوي :

اختبار تاثير الاحماض الكاربوكسيلية العضوية في تثبيط نمو فطريات تعفن الجذور :

اجري الاختبار الحيوي لتاثير خمسة تراكيز من الاحماض الكاربوكسيلية المشخصة والمستخلصة من عسل النحل بمواقع(2,5 ملغم / مل وسط مغذي ،5 ملغم / مل ، 7,5 ملغم / مل ، 1 ملغم / مل ، 2 ملغم / مل) اضافة الى معاملة المقارنة التي استخدم فيها وسط مغذي من اكار البطاطا والدكستروزفقط وبدون اضافة الاحماض اليه ، وتم مزج كل حامض عضوي على حدة مع الوسط المغذي وتحضير التراكيز منه قبل التعقيم بالاوتوكليف وحسب النسب السابقة الذكر ثم لقحت الاطباق بقرص قطره 4 ملم من الفطريات المختبرة والتي شملت الفطريات *Macrophomina phaseolina* و *Rhizoctonia sp.* و *Fusarium chlamidospoium sp* و *Fusarium culmorum* كل على حدة وكررت العملية بواقع ثلاث مكررات / فطر مع التراكيز جميعها ولجميع الفطريات وقد كان مصدر الفطريات العزل من شتلات الكاتالبا المصابة بتعفن الجذور السابقة الذكر في فقرة العزل وحسبت النتائج بقياس متوسط قياس قطرين متعامدين لنموالفطريات وحسبت النسبة المئوية للتثبيط حسب القانون التالي :

$$\% \text{ للتثبيط} = \left(\frac{\text{متوسط نمو المقارنة} - \text{متوسط قياس نمو المعاملة}}{\text{متوسط نمو المقارنة}} \right) \times 100$$

حللت النتائج احصائياً باستخدام التصميم العشوائي الكامل (Completely Randomized Design (CRD واختبرت بطريقة دنكن عند مستوى احتمال 0,05 [15] .

7- تاثير نوعي العسل على نمو وتطور دودة الشمع الكبرى:

اما في ما يتعلق بتاثير نوعي العسل المذكور على نمو وتطور دودة الشمع الكبرى (*Galleria mellonella* L.) فقد اختيرت معاملتان تمثل الاولى عسل ناضج والثانية عسل غير ناضج لمنطقتين القاضية والدندان لمعرفة تاثير العسل المذكورين وكذلك المنطقة من حيث نوعية الازهار اعتمادا على الغطاء النباتي التي تنتج الرحيق الذي بدوره يحدد نوعية العسل الناتج لمعرفة الفترة الزمنية لكل من اليرقات والعذارى وفترة بقاء الحشرات حية وكمية البيض الذي تضعه الاناث اعتماداعلى التغذية وتاثير ذلك على خلايا نحل العسل من تاثير وتدمير للاطارات الشمعية ، اذ تم وزن 50غم لكل مكرر من عشرة مكررات لكل معاملة من المنطقتين المذكورتين لزيادة دقة التجربة من شمع العسل يحتوي على عسل غير ناضج تمثل المعاملة الاولى وعسل ناضج للمعاملة الثانية مع قليل من حبوب اللقاح لكل منهما ، ووضعت في اوعية بلاستيكية على شكل كاس ووضع لكل منها يرقة من دودة الشمع الكبرى في الساعات الاولى لفقسها ووضع معها القليل من القطن لترطيبها بين الحين والاخر لتوفير الرطوبة لها ، غطيت بقطعة من الشاش وثبتت بحلقة مطاطية حيث جرى تربيتها في درجة حرارة 35 م في الحاضنة ، جرى اخذ البيانات لطور اليرقة والعذراء والحشرة الكاملة وكمية البيض الذي تضعه الاناث من المكررات المخصصة للتجربة وحللت النتائج احصائيا باستخدام التحليل الاحصائي لطريقة دنكن المتعدد المدى التي تعتمد على الفروق المعنوية عند مستوى أحتمال 0,05 .

النتائج والمناقشة :

التشخيص الوصفي للاحماض الكاربوكسيلية (العضوية) في عسل النحل :

يتبين من نتائج تشخيص الاحماض الكاربوكسيلية (العضوية) في عينات العسل الاربعة باستخدام صفيحة كروموتوغرافي الطبقة الرقيقة ولجميع عينات العسل المستخدمة ظهور حامض الاوكزاليك والذي تراوحت قيم سرع جريانه (0,10 –0,13) في عينات العسل جميعها الجدول (1) بنوعيها الناضج وغير الناضج وللموقعين (موقعي الدندان وكلية الزراعة والغابات)

، في حين ظهر الحامض مجهول 1 ذو قيمة سرعة الجريان 0,64 مقتصراً في عينة عسل غير الناضج (دندان) ، كما شخصت الاحماض العضوية كحامض الترتاريك والاسكوربيك والستريك ذات قيم الجريان (0,20، 0,27 ، 0,43) على التوالي في عينة العسل الناضج / القاضية والتي تطابقت مع قيم الجريان القياسية لهذه الاحماض والموجودة في الجدول المذكور كذلك اظهرت نتائج مطابقة البقع الظاهرة في عينة العسل غير الناضج / القاضية مع القيم القياسية لسرع الجريان للاحماض العضوية تشخيص اكبر عدد من الاحماض العضوية في العينة المذكورة من العسل حيث شخصت الاحماض العضوية حامض الترتاريك (0,20) ، حامض الاسكوربيك (0,32) ، حامض الستريك (0,42) ، حامض الماليك (0,50) ، حامض السكسونيك (0,70) ، فيها . ويتضح من خلال ماسبق اختلاف عدد الاحماض العضوية في عينات العسل باختلاف الموقع حيث بلغ عدد الاحماض العضوية المشخصة في موقع الدندان(1–2) حامض عضوي في كلا العينتين في حين ارتفع عدد الاحماض العضوية في عينة عسل موقع القاضية ليبلغ (4 – 6) احماض عضوية في كلا العينتين معاً وتبين من خلال نتائج التشخيص لهذه الاحماض العضوية ايضاً تباين في عدد الاحماض العضوية في نوعي العسل الناضج وغير الناضج ولكلا الموقعين حيث لوحظ انخفاض عدد الاحماض العضوية في عينات العسل الناضج مقارنة بعينات العسل غير الناضج ولكلا الموقعين ولربما يعود ذلك الى تحول نسبة كبيرة من الاحماض العضوية الى سكريات بعد نضج العسل ، كذلك فان مذاق العسل السكري يؤيد ماتوصلنا اليه من نتائج حيث يكون العسل الناضج اكثر حلاوة من العسل غير الناضج .

جدول (1) : قيم سرع الجريان للاحماض العضوية الكاربوكسيلية في عينات عسل النحل والقيم القياسية للاحماض العضوية .

العينات	سرعة الجريان Rf المقاسة للاحماض العضوية						
عسل ناضج / دندان	0,13						
عسل غير ناضج / دندان	0,12						0,64
عسل ناضج / زراعة	0,12	0,20	0,27	0,43			
عسل غير ناضج / زراعة	0,10	0,20	0,32	0,42	0,50	0,70	
سرع الجريان القياسية للاحماض العضوية	اوكساليك ***	الترتاريك **	اسكوربيك **	ستريك *	ماليك *	سكسينيك **	مجهول
	0,14	0,22	0,30	0,45	0,50	0,74	0,64

* قيم سرع الجريان حسب [16]

** قيم سرع الجريان حسب [17]

***قيم سرع الجريان حسب [18]

وتتفق النتائج المستحصل عليها مع الدراسات السابقة حول ماتم تشخيصه في البحث حول محتويات العسل من الاحماض الكاربوكسيلية فقد بين [6] ان الاحماض الموجودة في العسل هي حامض الستريك ، حامض الفورميك ، حامض الماليك ، حامض السكسنيك ، حامض الخليك ، حامض اللاكتيك ، حامض البيروكلوتاميك ، حامض الكلوتاميك ، حامض الفسفوريك ، حامض الهيدروكلوريك [7] كما ذكر [1] بأن عسل النحل يحتوي على العديد من الأحماض العضوية والمعدنية والأمينية، وبالرغم من أن هذه الأحماض تمثل نسبة ضئيلة جداً في تركيب العسل إلا أن لها تأثير على الطعم ، كما أنها مسؤولة جزئياً عن قدرة العسل القوية على منع نمو الأحياء الدقيقة فيه ، وأول الأحماض العضوية التي اكتشفت بالعسل حمض النمل ، وقد أمكن التعرف إلى حوالي 18 حامض عضوي أهمها: حمض الكلوكونيك، حامض الماليك، حمض اللبنيك، حمض الليمونيك، حمض الخليك، حمض الأوكزاليك [2 و 3] .

عزل الفطريات :

تبين من نتائج العزل من شتلات كتالبا عمر سنتين مصابة بمرض تعفن الجذور عزل الفطريات *Macrophomina phaseolina* وانواع من الفطر *Fusarium* و *Rhizoctonia solani* وقد ذكر الباحثين ان هذه الفطريات تعد من الفطريات المرافقة لجذور شتلات اشجار الغابات فقد عزل [5] هذه الفطريات من شتلات اشجار الصنوبر البروتي والسرو الايطالي والكازورينا في مشتلي نينوى وحمام العليل في محافظة نينوى .

الاختبارالحيوي :

اجري الاختبار الحيوي لبعض الاحماض الكاربوكسيلية المشخصة بطريقة كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة وباستخدام حوامض كاربوكسيلية قياسية نقية مطابقة لقيم جريانها (Rfs) تم الحصول عليها من مختبر الكيمياء العضوية التابع لفرع العلوم الاساسية / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل ويتضح من الجدول (2) تفوق حامض الاوكزاليك في تثبيط فطريات تعفن جذور الكاتالبا مقارنة بالحوامض الاخرى وعند اقل تركيز(2,5غم / لتر) حيث اظهر تثبيطاً معنوياً للفطرين *Rhizoctonia sp.* و *Macrophomina phaseolina* بلغ 100 % تلته حوامض الترتاريك والاسكوربيك والستريك التي اظهرت اعلى تثبيطاً للفطر *R.solani* بلغ 100 % عند التراكيز (5 و 7,5 و 10 و 20 غم / لتر) ايضاً ، في حين اظهر حامض الستريك ادنى تثبيط للفطر المذكور عند التركيز (2,5غم/ لتر) كذلك اظهرت حوامض الترتاريك والاسكوربيك والستريك اعلى تثبيطاً معنويا عند التركيز(100 %) ضد الفطر *Macrophmina phaseolina* بينما اظهر حامض الستريك اقل تثبيط معنوي لنفس الفطر عند التراكيز(5 و 7,5 و 10) غم / لتر . ان وجود تباين في نسب التثبيط لكلا الفطرين ولمختلف نسب الاحماض المختبرة لربما يعود الى اختلاف في قابلية مقاومة الاحماض من قبل الفطربن حيث اعطى الفطر *R.solani* اكثر حساسية للتثبيط مقارنة بالفطر *M.phaseolina* الذي اظهر اكثر مقاومة للحوامض عند التراكيز المنخفضة لاغلب الحوامض المختبرة .

ان الجانب التطبيقي للبحث يظهر بامكانية استخدام بعض الاحماض العضوية المستخلصة من انواع عسل النحل في المكافحة الكيميائية لبعض الفطريا ت الممرضة لتعفن جذور شتلا ت اشجار الغابات كونها مبيدات فطرية منتجة من مصادر طبيعية وليست مبيدات كيميائية وخاصة بعد اختبارها في تثبيط الفطريات الممرضة انفة الذكر .

جدول (2): الاختبارالحيوي للاحماض الكاربوكسيلية في فطريات تعفن جذور شتلات الكاتالبا .

الفطريات	% لتثبيط نمو الفطريات						
	تراكيز الاحماض الكاربوكسيلية						
R. solani	**الاحماض**	**0 غم / لتر**	**2,5 غم/لتر**	**5 غم / لتر**	**7,5 غم / لتر**	**10 غم / لتر**	**20 غم / لتر**
	ترتاريك	صفر هـ	87 ب	100 أ	100 أ	100 أ	100 أ
	اوكزاليك	صفر هـ	100 أ	100 أ	100 أ	100 أ	100 أ
	اسكوربيك	صفر هـ	86 ج	100 أ	100 أ	100 أ	100 أ
	ستريك	صفر هـ	47 د	100 أ	100 أ	100 أ	100 أ
M.phaseolina	**ترتاريك**	صفر و	5,6 هـ	15 د	15,66 د	97 أ	100 أ
	اوكزاليك	صفر و	100 أ	100 أ	100 أ	100 أ	100 أ
	اسكوربيك	صفر و	23 د	26 د	88 ب	94 أ	100 أ
	ستريك	صفر و	صفر و	صفر و	صفر و	59 ج	100 أ

* الارقام التي تحمل حروف متشابه لايوجد فروقات معنوية بينها عند مستوى اختبار 0.05 .

ويحتوي عسل النحل العديد من الأحماض العضوية والمعدنية والأمينية، وبالرغم من أن هذه الأحماض تمثل نسبة ضئيلة جداً في تركيب العسل إلا أن لها تأثير على الطعم، كما أنها مسؤولة جزئياً عن قدرة العسل القوية على منع نمو الأحياء الدقيقة فيه [3 و 4] .

تاثير نوعي العسل الناضج وغير الناضج على نمو وتطور دودة الشمع الكبرى (*Galleria mellonella* L.) .

بينت النتائج في الجدول (3) من خلال تربية يرقات ديدان الشمع على عسل بنوعين العسل الناضج وغير الناضج لمنطقتين القاضية والدندان لطور اليرقة تفوق العسل الناضج في اعطاء اقل فترات التربية أعتمادا على التحليل الاحصائي لطريقة دنكن المتعدد المدى التي بينت وجود فروق معنوية عند مستوى أحتمال 0,05 ، فقد اعطى الجدول المذكور المتوسط 29,2يوم لمنطقة الدندان ، والمتوسط 31,3 يوم لمنطقة القاضية وهي اقل الارقام بينما كان متوسط العسل غير الناضج 35,9يوم لمنطقة الدندان و 36,3يوم لمنطقة القاضية وهي اعلى الارقام بوجود الحرف أ لعمود فترة اليرقة ، وهذا يشير الى ان العسل الناضج اعطى اقل فترات او ايام التربية لديدان الشمع اذ زاد من سرعة نمو وتطور اليرقات نظرا للقيمة الغذائية له لان الرطوبة القليلة في العسل الناضج التي تتراوح مابين 15– 18% وكثافة المواد السكرية وغيرها من المكونات يعطي تغذية لليرقات افضل من العسل الغير ناضج مما يقلل من فترات النمو ويزيد ويسرع في تطور اليرقات حتى تبلغ طور العذراء بوقت اقل ، وهذا يقلل من الفترة الزمنية لنموها وبذلك يزيد من فرص عدد اجيال الحشرة خلال السنة وبالتالي زيادة المواد المستهلكة من موجودات الخلية من العسل والاساسات الشمعية التي تتغذى عليها اليرقات ، وكذلك تدميرها محتويات خلية نحل العسل لان التغذية شرهة ، بخلاف العسل الغير الناضج الذي يزيد فترة الطور اليرقي وبالتالي يقلل من عدد الاجيال لها خلال السنة ، اذ ان تغذية اليرقة تكون محدودة على مواد بقدر مناسب للتحول الى طور العذراء ، وكلما زادت الفترة قل التدمير الذي يحدث داخل الخلية للاساسات الشمعية لمحدودية عدد الاجيال ، كما ان العسل الغيرالناضج في الخلية يقلل من فرص حركة وانتشار اليرقات داخل الاساسات الشمعية اذ يحدد حركة اليرقات وانتشارها لوجود المحتوى المائي الاكثر فيه وبالتالي يقلل من فرص انتشار اليرقات داخل الخلية وانشاءها الانفاق الحريرية التي تتنقل داخلها هربا من مقاومة النحل لها ، كذلك بينت النتائج ان فترة طور العذراء للعسل الناضج اعطت اقل المتوسطات اذ اعطى الجدول (3) المتوسط 11,4يوم لمنطقة الدندان و 11,6يوم لمنطقة القاضية ، بينما اعطى العسل الغير ناضج المتوسط 13,6يوم لمنطقة الدندان و 14,0يوم لمنطقة القاضية وهذا يشير ان العسل الناضج تفوق معنويا في اعطاء اقل الارقام في فترة زمنية اقل لطور العذراء عن العسل الغير الناضج الذي اعطى اعلى الارقام بوجود الحرف أ لعمود فترة العذراء ، اما عن فترة بقاء الحشرة الكاملة حية فقد اعطى الجدول المذكور للعسل الناضج المتوسط 13,5يوم لمنطقة الدندان و 12,9يوم لمنطقة القاضية اذ تفوق معنويا للتغذية الافضل في بقاء الحشرة حية عن العسل غير الناضج الذي اعطى المتوسط 12,2يوم لمنطقة الدندان و 10,7يوم لمنطقة القاضية ، وعن كمية البيض الذي تضعه الانثى فقد بين الجدول (3) ان اليرقات التي تغذت على العسل الناضج اعطت حشراتها البالغة بعد خروجها من طور العذراء اعلى المتوسطات بعدد البيض اذ تفوقت معنويا للعسل الناضج بالمتوسط 334,5بيضة/انثى لمنطقة الدندان و 298,6بيضة/انثى لمنطقة القاضية قياسا بالعسل غير الناضج الذي اعطى المتوسط 177,3 بيضة/انثى لمنطقة الدندان و 127,0 بيضة/انثى لمنطقة القاضية .

من هذه النتائج يتبين ان العسل الناضج الذي تركيزه (15– 18%) ماء بمحتواه الغذائي وقلة الرطوبة فيه اعطى اقل الفترات في نمو وتطور ديدان الشمع لطور اليرقة والعذراء قياسا بالعسل الغير الناضج ذو المحتوى الرطوبي الاعلى (40–50%) ماء اواكثر كما اعطى العدد الاعلى لكل من فترة بقاء الحشرة الكاملة حية لوضع البيض ولعدد البيض مما زاد من فرص التغذية لها بغذاء ذو قيمة غذائية افضل من العسل الغير الناضج لهذه الديدان على الغذاء المتوفر لها ، ولهذا فان

تغذيتها عليه وعلى الشمع تكون بشغف مما يقلل من فترة تطورها ويزيد من التدمير الذي يحدث داخل الخلية من تغذية لعدة اجيال ولفترات قصيرة متتابعة الامر الذي يحدث افدح الخسائر للخلية ، كذلك بينت النتائج ان منطقة الدندان كانت هي الافضل في نوعية العسل المنتج لنمو وتطور هذه الديدان قياسا بمنطقة القاضية لما تحويه مزارعها من تنوع في النباتات التي يرتادها نحل العسل لتلك المنطقة .، ذكر [19] . مورس و كيم،(2003) ان دورة حياة دودة الشمع الكبرى تستغرق اربعة اسابيع الى ستة اشهراعتمادا على الظروف البيئية السائدة والملائمة ، وان الانثى تضع بيضا يتراوح مابين 300 - 1800 بيضة ، وبينا نقلا عن[20] انها تتغذى على العسل وحبوب اللقاح الموجودة في النخاريب الشمعية ، واذا لم يتوفر ذلك فانها تتناول الشمع من الاقراص الشمعية المتوفرة .

جدول (3): تاثير نوعي العسل الناضج وغير الناضج والمنطقة التي يجنى منها على نمو وتطور دودة الشمع الكبرى (*Galleria mellonella* L.) .

نوع المعاملة	المنطقة	المتوسطات				
		فترة طور اليرقة (يوم)	فترة طور العذراء (يوم)	فترة طورالحشرة الكاملة (يوم)	فترة دورة الحياة(يوم)	كمية البيض
العسل الناضج	القاضية	31,3 ب	11,6 ب	12,9 أ ب	55,8 ج	298,6 ب
	الدندان	29,2 ج	11,4 ب	13,5 أ	54,1 ج د	334,5 أ
العسل الغيرناضج	القاضية	36,3 أ	14,0 أ	12 ,2 ب	62,5 أ	127,0 د
	الدندان	35,9 أ	13,6 أ	10,7 ج	60,2 ب	177,3 ج

الارقام التي تحمل حروف متشابه لاتوجد فروقات معنوية بينها عند مستوى اختبار 0.05 .

المصادر :

1. Sahioni,H. An Analytical study of certain honey samples produced in the costal region. Tishreen Univ.J.for studies and Sci.Res.- Agr Series.Vol. 19, No.9, pp.127-139, 1997.
2. Atrouse, O.; Oran A. ; Al-Abbadi, Chemical analysis and identification of pollen grains from different Jordanian honey samples International Journal of Food Science & Technology .Vo.39 Issue 4 Page 413 – April, Y2004.
3. Anklam,E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey .Food Chemistry ,63:549-562, 1998.

4. عبد اللطيف ، محمد عباس واحمد محمود ابو النجا. عالم النحل ومنتجاته . دار المطبوعات الجديدة . 310 ص ، 1974.
5. محمد ، انور نوري دراسات حول تعفن جذور شتلات الصنوبر البروتي والسرو والكازوارينا في مشتلي نينوى وحمام العليل . رسالة ماجستير . كلية الزراعة والغابات . جامعة الموصل ، 1987.
6. سعد ، عوض حنا وعادل حسن امين الحشرات الاقتصادية في شمال العراق ، الجمهورية العراقية ,وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل ، ص488 ، 1983.
7. حجازي، محمد عصمت آفات وامراض نحل العسل ، ماهيتها ، تشخيصها ، علاجها ، الناشر منشأة المعارف بالاسكندرية ، جلالي حربي وشركاه ، 490 صفحة ، 1998.

8. Harborne, J. B. Phytochemical Methods Halsed Press , A Division of John Wiley and Sons Inc. New York, 1973.
9. Barnett, H. L. and B. B. Hunter Illusrated Genera of Imperfect Fungi Burgess Publishing Company pp.241, 2006.
10. Adam, G. C. Thanatephorus cucumeris (Rhizoctonia solani) a species of wide host range. In Advances in Plant Pathology, Vol. 6. Genetics of Plant Pathogenic Fungi. (G.S. Sidhu, ed.), pp. 535-552. Academic Press, New York, 1988.
11. Anderson, N.A. The genetics and pathology of Rhizoctonia solani. Ann. Rev. Phytopathol. 20:329-347, 1982 .
12. Cubeta, M.A., and R. Vilgalys. Population biology of the Rhizoctonia solani complex. Phytopathology 87:480-484, 1994.
13. Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. Identification of Rhizoctonia species.133pp. APS Press, St. Paul, MN, USA, 1991.
14. Vilgalys, R., and M. A. Cubeta. Molecular systematics and population biology of Rhizoctonia. Annu. Rev. Phytopathol. 32:135-155, 1997.
15. الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله ، تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، الجمهورية العراقية ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل ، ص 488 ، 1980.
16. Gallander,J.(1985). Major organic acids in fruit , Department of Horticulture, Ohio State University : The Science Workbook Student Research Projects in Food-Agriculture : C. F. Stein, W. H. and S. Moore. "Chromatography". Scientific American March Vol. 41, 1966, pp. 116- 120, 1951.
17. المشهداني ، محمود فائز محمد التقدير النوعي والكمي لبعض الاحماض العضوية في مزارع كالس نباتات الكركية *Hibiscus sabdariffa* كروموتوغرافيا ، رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل ، 2007.
18. Goncharova, I. A., A. N. Khomenko and A. D. Semenov Nasa technical translation NASA TT F-,15942 , Determination of nonvolatile carboxylic acids in naturar waters Translation of "K opredeleniyu neletuchikh, karbonovykh kislot v prirodnykh vodakh," Gidrokhimicheskiye Materialy, Vol. 41, 1966, pp. 116-120, 1974.
19. مورس ، روجر و كيم فلوتم، آفات نحل العسل وامراضه واعداؤه ، ترجمة المهندس محمد دريد نوايا ، الناشر شركة روت ،الطبعة الثالثة ، ترجمة دمشق ، 830 صفحة ، 2003.
20. Nielsen,R.A. and C.D. Brister. Greater wax moth: behavior of larvae. Annals of the Entomological Society of America 72: 811- 815, 1979.