دراسة تأثير الأحياء المجهرية المنماة في بيئات غذائية مختلفة في الحد من إصابة نباتات الطماطة بمــرض الذبــول تــحت ظــروف البيــت الزجاجــي

عبد الكريم سليمان النعيمي
جامعة تكريت
كلية التربية للبنات

عبد الرضا طه سرحان
جامعة القادسية
كلية العلوم

الخلاصـــــــة

تم اختيار هذه الدراسة محاولة لاستخدام بعض الأحياء المجهرية (5,4,3,2,1) عوامــل مكافحــة بايولوجية فضلا" عن أنواع واحد من البيئات المزرعية واختيـــــارها ضـد مرض ذبول الطماطة المتسبب من الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* والمرباة في البيت الزجاجي ،مبين من النتائج:

1. *Trichoderma harzianum*
2. *Trichoderma pseudokoningii* فطريات مضادة
3. *penicillium pinophilum*
4. *Bacaillus cereus*
5. *Leconostoc mesenteroids* بكتريا مضادة

أعطت النتائج في بيئة النخالة وللقاح الفطريات المضادة الثلاثة تأثيرا جيدا في تقليل دليل المــرض ،ونسبة تلون نسيج الخشب ونسبة النباتات المريضة بالمقارنة مع بيئة البتموس ونشارة الخشب. وقد أدى لقاح الفطر *T.harzianum* من بيئة النخالة وبالتركيزين 1% و 5% تأثيرا عاليا في تقليل دليل المرض ونسبة تلون نسيج الخشب والنبــــــاتات المريضة.

أما بالنسبة لإضافة البكتريا فأوضحت النتائج أن البكتريا *L.mesenteroids* خفضت دليل المرض لنباتات الطماطة بفرق معنوي قياسا بمعاملة المقارنة.

المقدمـــــــــة

تعــــد الطماطـــــة *Lycopersion esculntum* من الخضراوات العائلية الباذنجانية ويتعرض هذا المحصول إلــى خســائر اقتصادية تحدث عن طريق الإصابة بعــدد مــن الأمراض ومنهــــــا أمراض الذبـــول الفيــــوزارمي الــــذي يســـببه الفطـــر المهمة في اغلب المناطق الزراعية في العراق.

تاريخ أ ستلام البحث: 2005/10/17

, *oxysporum.f.sp. Lycopersici* و يتواجد هذا الفطر في التربة ويهاجم النباتات عن طريق المجموع الجذري ويتركز في الأوعية الناقلة لنسيج الخشب مما يسبب عرقلة نمو النسغ الصاعد ويؤدي إلى ظهور أعراض الذبول على الأجزاء الهوائية للنبات فضلا" عن أعراض أخرى كالاصفرار والتقزم (9).

وتشير الدراسات إلى ما تحقق في استخدام المكافحة الحيوية في السيطرة على العديد من الأمراض النباتية في محاصيل اقتصادية مختلفة (4,3) وقد تبين انه يمكن في السيطرة على الفطر *Rhizoctonia solani* باستخدام عدد من الفطريات والبكتريا المضادة(2).

تهدف الدراسة إلى:-

1. دراسة تأثير نوع الفطر ونوع البيئة الغذائية المستخدمة في تحضير لقاح الفطريات المضادة المضافة للتربة في إصابة نباتات الطماطة بمرض الذبول المعامل مجموعها الجذري بمعلق ابواغ الفطر الممرض تحت ظروف البيت الزجاجي.
2. تأثير إضافة بعض أنواع البكتريا إلى التربة في الحد من إصابة نباتات الطماطة بمرض الذبول المعامل مجموعها الجذري بمعلق ابواغ الفطر الممرض تحت ظروف البيت الزجاجي.

مواد العمل و طرائقه

تم تحضير البيئات الغذائية للفطريات وبنسبة (1:1 وزن- وزن)من:-

1. رمل + نخالة الحنطة.
2. رمل + بتموس.
3. رمل + نشارة الخشب.

ثم رطبت البيئات المستخدمة بالماء وعقمت مدة ساعة واحدة مرتين يومين متتاليين واستخدام لتحضير الفطريات المضادة وتنميتها (8) وقبل إضافة الفطريات إلى التربة ثم حساب الـــ *colony forming unit c.f.u* وحسب ما جاء في الطريقة الموصوفة في(6) بعد ذلك أضيف لقاح الفطريات المضادة إلى التربة المعقمة بنسبة 1% و5%.

رطبت التربة وتركت لمدة (7)أيام لإعطاء الفطر فرصة لتكوين الغزل والابواغ. وأما بالنسبة للبكتريا المضادة فقد تم تحضير العالق البكتيري اذ حضر (100مل) من وسط دكستروز البطاطا السائل (PD) ولقح بإضافة /1مل/ من مزرعة البكتيريا بعد تخديشها بالناقل Loop وحضنت في درجة حرارة 25درجة سليزية مدة 24 ساعة ثم تم ترسيب البكتريا باستخدام جهاز الطرد المركزي (centerfuge) على (10000) دورة/دقيقة واحدة مدة نصف ساعة و الراسب حضر منه العالق البكتيري بإضافة الماء المقطر المعقم وللحصول على تركيز من خلايا البكتيريا في العالق ثم أضيفت إلى التربة بعمل(9) ثقوب في تربة الأصص وسكب (30) مل من العالق في كل أصيص وقد استخدمت أربعة مكررات لكل معاملة . تمت معاملة المجموع الجذري للنباتات بمعلق ابواغ الفطر الممرض، أما بالنسبة لمعاملة المقارنة فقد استخدمت نباتات ملقحة بالفطر

المرض وقد تم اخذ القياسات بعد 6 أسابيع لظهور أعراض مرض الذبول على النباتات اذ تم قياس دليل المرض (Disease Index) باستعمال مقياس مكون من خمس درجات (0–100) والذي استخدمه(9) وكما يأتي:

صفر= لا يوجد تأثير

20= ورقة واحـدة عليها أعراض المرض.

40 = ورقتـــــان عليها أعراض المرض. 100 = موت نباتات عليها أعراض المرض.

80 = كـل الأوراق عليها أعراض المرض.

كما تم قياس النسبة المئوية لتلوين نسيج الخشب في النباتات المصابة وذلك بعمل مقطـع طـولي للساق في النبات المصاب وحساب

طول الجزء المتلون نسبة إلى طول النبات ×100 (1)

أما النسبة المئوية للنباتات المريضة فتتمثل بـــ:

$$\frac{\text{عدد النباتات المريضة في المعاملة الواحدة}}{\text{عدد النباتات الكلي}} \times 100.$$

النتائـــــــج

وضح الجدول (1) تأثير أنواع الفطريات الثلاثة المستخدمة عوامل مقاومة في الحد مـن تأثير الفطر *Fusaarium oxysporum .f.sp Lycopersici*. في تسببه لمرض الـذبول فـي الطماطة، تبين من النتائج أن لقــاح الفطريــات المضادة الثلاثة والمنماة على بيئة النخالة بتركيز الجدول 1% و5% كان لها تأثير معنــوي فــي تقليل دليل المرض مقارنة بنباتات السيطرة. أما في حالة النباتات المنماة في بيئة البتموس فقـد أبدى الفطر *T.harzinum* دورا" فــي التقليـل المعنوي لدليل المرض فقط عند التركيـز 5%. وان تركيز اللقاح 5 % في بيئة نشارة الخشـب لجميع الفطريات المضادة هو الذي أعطى فرقـا معنويا في خفض دليل المـرض.وكـذلك فـي اختيار نوع البيئة للفطريات الثلاثة فـي نسـبة تلون نسيج الخشب اذ يوضح الجدول أن بيئـة النخالة بتركيز 1%و 5% أعطى فرقا معنويا في تخفيض نسبة تلون نسيج الخشب.أبدت الفطريات في بيئة البتموس فقد اعطت النتائج نفسها لنسبة تلون نسيج الخشب للفطريات الثلاثة كمـا فـي خفض دليل المرض وبالتركـــيز أعلاه.

أما بيئة نشارة الخشـب فـان الفطـرله *T. harzianum* بتركيز 1% أعطى فرقا معنويا في خفض تلون أوعية الخشب بالقياس للمقارنة، أمــا الفطران الآخران فلم يظهرا أي فرق معنوي. وان النسبة المئوية للنباتات المصابة فقـد انخفضـت معنويا في بيئـة النخالـة وبــالتركيز 1% و5% للفطــرين المضــادين *T. harzianum* و *T.psuedokningii* فقط.

ويلاحظ أن بيئات البتموس ونشارة الخشـب لـم

تبديا أي تأثير في خفض نسبة النباتات المريض أما الجدول رقم (2) فقد توضح منه تأثير لمعاملة التربة بالبكتريا المضادة في إصابة نباتات الطماطة بمرض الذبول اذ يبين أن المعاملة بالبكتريا *B. cereus* لم تؤد إلى خفض معنوي في دليل المرض مقارنة" مع نباتات مجموعة السيطرة.

أما بالنسبة لمقياس تلون نسيج الخشب فقد أدت البكتريا أعلاه إلى خفض معنوي من75.7% مقارنتا بـــ 5.4% في المعاملة بالبكتريا أعلاه.

أما بالنسبة للنباتات المصابة فان البكتريا *B. cereus* لم تكن معنوية بالقياس للمقارنة. أما البكتريا المضادة *L. mesenterodis* فأدت إلى خفض معنوي في دليل المرض كما في الجدول (2) أما تلون الخشب ونسبة النباتات المصابة فلم يخفضا معنويا بالقياس للمقارنة.

من هنا نوصي ان بيئة النخالة للفطر *T.harzianum*أعطت أفضل النتائج في تقليل دليل المرض وخفض نسبة تلون الخشب والنباتات المريضة وهذا يتفق و ما ذكره الباحث (7)، بان لقاح الفطر يكون أفضل من النخالة وقد قلل من نسبة حدوث مرض سقوط البادرات الذي يسببه الفطر *R. solani* لنبات الطماطة والباذنجان و يتفق وما توصل إليه (5) .

لذا نوصي باستخدام البكتريا *L. mesenterodis* في خفض دليل المرض نباتات الطماطة وهذا لا يتفق و ما توصل اليه الباحث (2) الذي استخدم البكتريا نفسها ضد الفطر *R. solani*.

جدول (1) تأثير نوع البيئة المستخدمة في تحضير لقاح الفطريات المضادة في إصابة الطماطة بمرض الذبول تحت ظروف البيت الزجاجي.

المعاملات	نوع البيئة	تركيز اللقاح %	دليل المرض	تلون الخشب %	النباتات المريضة%
لمقارنة الممرض فقط	النخالةس	1	60أ* ب ج د	34و42 أ ب ج	100أ
		5	70أ ب ج	68و23أ ب ج د ه	100أ
	البتموس	1	80أ ب	93و37أ ب ج	100أ
		5	85أ	52و38أ ب ج	100أ
	نشارة الخشب	1	60أ ب ج د	57و41أ ب ج	100أ
		5	70أ ب ج	17و29أ ب ج د	100أ
T.	النخالة	1	0ه	0و 0 ح	0ب

harzianum		5	0ه	0و ح	0ب
	البتموس	1	20د ه	15و ز ح ط	050أب
		5	10 ه	9ز ح ط	50أب
	نشارة الخشب	1	30ج د ه	27د ه و	75أ
		5	5ه	5و 6 ح	50أب
T. psuedokninat	النخالة	1	0ه	0و ح	0ب
		5	0ه	0و ح	0ب
	البتموس	1	30ج د ه	25ب ج ده	100أ
		5	15ه	10ز ح ط	50أب
	نشارة الخشب	1	35ب ج د ه	29ج د ه و	75/أ
		5	15ه	2و13و ز ح ط	50أب
p. ptnophilum	النخالة	1	20ه	15و ز ح ط	50أب
		5	10ه	8و3 ح	50أب
	البتموس	1	40ب ج د ه	22 ج د ه و	100أ
		5	30ج د ه	15و ز ح ط	75أ
	نشارة الخشب	1	40ب ج د ه	42 أ	100أ
		5	25د ه	12 و ز ح ط	50أب

*القيم تمثل المعدل لعدد النباتات في كل مكرر والأحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية(Pc0.05) .

جدول رقم (2) تأثير معاملة التربة بالبكتريا المضادة في إصابة نباتات الطماطة بمرض الذبول تحت ظروف البيت الزجاجي.

المعاملات (البكتريا المضادة)	إصابة الطماطة بالفطر الممرض *F.oxysporum f.sp.Lycopersici*

النباتات المريضة %	تلون الخشب%	دليل المرض	
100 أ	7و75 أ*	80أ	المقارنة(الممرض فقط)
100 أ	4و5 ب	50 أ ب	*B.cereus*
100 أ	5 و5 أ ب	45 ب	*L.mesenterdis*

*القيم تمثل المعدل لعدد النباتات في كل مكرر والأحرف المختلفة تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية (pc 0.05).

المصـــــــــــادر

- يونس،احمد برزان (1986) تأثير بعض العناصر المعدنية الصغرى على مرض الـذبول الفيـوزارمي لنباتي الطماطة والفلفل، أطروحة ماجستير، كلية العلوم، جامعة صلاح الدين. اربيل- العراق.
- إبراهيم ،طه موسى (1988) المكافحة الحيوية لتعفن جذور الباقلاء. أطروحـة ماجسـتير، كليـة العلوم، جامعة صلاح الدين. اربيل - العراق.
- حناوي، محمد جبر (1986) دراسة مقاومة حياتية للفطر *Sclerotinia sclerotium* على بعض محاصيل الخضر في البيوت البلاستيكية، اطروحة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.
- تكانة ،عبد العزيز (1983) المقاومة الحياتية لعفن فطريات التربة المرضية باستخدام عزلة غيـر مرضية للفطر *R.solani* . أطروحة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

References

- Elsd. Y., Y.Hader.I. Chet and Y.Henis(1981) Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation plant disease 65: 675-677.
-. Blak .C. A (1965) Method of Soil Analysis Chemical and Micobiological polani Agron. No. (g) Dart 2. US.A.
-Heacer. Y..I. chet and Y, Henis (1979) Biological control of *Rhizoctonia solani* damping off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianium* . Phytopathology 69: 64-68.

- Mihuta- Grimm. L.and R.C. Rowe(1986).*Trichoderma spp.* As biological. agenst of *Rhizoctonia* damping- off. Acta Phytopathological Academiae Scientiarum Hungarica. 16: 9-14.
- Sarhan, A. R.T, ,B Branac and Z. kiraly (1982). Effect of nitrogen on *Fusarium* wilt of tomato plant, Appl. 101:245-250.

The Effect of Antagonistic Organisms Growth on Different Media on Wilt Disease Under Green House Conditions

Abdul-karim S. Alnoimi
Tikrit University
College ofEducation for Women
Dep. of Biology

Abdul - Reda T. Sarhan
Alkadesia University
College of Science .
Dep. of Biology

Summary

This study was planned to determine the efficiency of some antagonistic microorganisms in controlling *Fusarium oxysporum.f.sp. Lycopersici* wilt disease of tomato.

The antagonistic microorganisms were as follows:

1. ***Trichoderma harzanum.***
2. ***Trichoderma pseudokonigii.***
3. ***Penicillium pinophilum.***
4. ***Leuconostoc mesenteroides.***
5. ***Bacillus cereus.***

The use of the different media for growing the antagonistic fungi showed that fungi grow profusely on wheat bran.

The inoculum of *T.harzianum* from this media showed the best results in reducing the disease index and the percentage of vascular dicolouration disease plants and *L.mesenteroides* reducing the disease index through adding to the soil.

تأثيرات سموم الأفلا والأوكرا على كيمياء الدمّ والتفاعل المناعي الخلويِ في افراخ الدجاج النامية

د.كركز محمد ثلج | د.محمد نجيب الشاهري | د. موفق محمود أحمد
كلية الزراعة | كلية الطب البيطري | كلية الزراعةوالغابات
جامعة تكريت-تكريت-العراق. | جامعة الموصل- - العراق. | جامعةالموصل - العراق.

الخلاصـة

تضمنت الدراسة تجربة كان الهدف منها معرفة تأثير سموم الأفلا بتركيـز 2.5 ملغـم أو الأوكـرا بتركيز 4 ملغم/كغم منفردين أو معا وتأثير إضافة مركب بنتونايت الصوديوم المنشط بنسبة 0.5% مانعـا للتسمم إلى العلف الخالي من السموم أو الذي يحتوي على سموم الأفلا أو الأوكرا أو كليهما معاً على أفراخ فروج اللحم المغذاة من عمر يوم واحد إلى ثلاثة أسابيع.

تبين من النتائج أن وجود كل من سموم الأفلا أو الأوكرا أو كليهما معاً في العلف سـبب انخفاضـاً معنوياً (P<0.05) في البروتين الكلي والألبومين والكلوكوز وحامض اليوريـك والكليسـيريدات الثلاثيـة والكوليستيرول، ماعدا حامض اليوريك الذي ازدادت قيمته عند وجود سموم الاوكرا وحـدها. وأدى أيضـاً وجود كلا السمين منفردين أو مجتمعين في العلف الى الانخفاض المعنوي في فعالية كـل مـن الانزيمـات alanine amino transferase (ALT) و aspartate amino transferase(AST) و lactate dehydrogenase (LDH) وalkaline phosphatase (AP) ماعدا انزيم gamma glutamyl transferase(GGT) الذي انخفضت فعاليته عند وجود كل من سموم الأفـلا او الأوكـرا منفـردين أو مجتمعين في العلف.

الأفراخ التي حقنت عضلياً بأعداد 4.0×10^6 من بكتريا *Escherichia coli* في اليـوم 21 مـن العمر ، جمعت منها نماذج دم بعد 60 و 120 و180 دقيقة من الحقن ثم اخذ الكبد والطحال بعد180 دقيقة، بينت النتائج ان وجود سموم الأفلا والأوكرا كل على حده او سوية سببت في الزيادة المعنوية فـي اعـداد الخلايا البكتيرية في الدم والكبد والطحال عند موازنتهما بمجموعة السيطرة.

من جهة أخرى ، تبين من الدراسة أن اضافة مركب بنتونايت الصوديوم المنشط بتركيز 05% الـى مجاميع الأفراخ التي أحتوى علفها على سموم الأفلا أو الأوكرا أو كليهما معاً ادى الى التحسـن المعنـوي (P<0.05) في قيم المعايير المقيسة في التجربة موازنة بها في حالة وجود السموم ، ولكنها لم تتحسـن الى مستوى مجموعة السيطرة.

Phillips, T.D. L.F. Kubena, R.B. Harvey D.K. Taylor and N.D. Heidelbaugh 1988. Hydrated sodium calcium aluminosilicate: a high affinity sorbent for aflatoxin. Poultry Sci. 67: 243-247.

Richard, J.L , J. R Thurston,., and A. C. Pier 1978. Effect of mycotoxins on immunity. In Toxins:animal, plant and microbial. Edited by P.Rosenberg. Pergamon Press, NY. Pp.801-817.

SAS Version , Statistical Analysis System 2001 . SAS Institute Inc., Cary , NC. 27512 – 8000 , U.S.A.

West, S. ; R.D. Wyatt and P.B. Hamilton 1973 .Increases yield of aflatoxin by incremental increases of temperature. Appl. Microbiol. 25:1018–1019.

Wiseman, H.G. ; W.C. Tacobson and W.E. Harmeyer 1967 . Note on removal of pigments from chloroform extracts of aflatoxin cultures with copper carbonate . J.Assoc. of Agric. Chem. 50: 982–983.

Shotwell, O.L.; C.W. Hessettine ; R.D. Stubblefield and W.G. Sorenson 1966.Production of aflatoxin on rice .Appl.Microbiol.14:425-428.

Thaxton, J.P. ,H. T. Tung, and P.B. Hamilton 1974. Immunosuppression in chickens by aflatoxin. Poultry Sci. 53:721-725.

Tietz, N.,ed., 1976. Fundamentals of clinical chemistry. W.B. Saunders, Philadelphia.

phagocytic and lytic capacity of the mononuclear phagocytic system was compromised.

REFRENCES

Anderson, R.A. 1983. Detoxification of aflatoxin-contaminated corn. Pages 87-90 in: Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn. U. diener, R. Asquith and J. Dickensm ed. Southern Cooperative Series Bulletin 279, Auburn University. Auburn, Al.

Association of Official Analytical Chemists (1984). Official methods of analysis. 4th ed. Assoc. Offic. Anal. Chem. Virginia. USA.

Berry, C.L. 1988. The pathology of mycotoxins. J. Pathol. 154: 301-311.

Campbell, M. L. , J. D. May, W.E. Huff, and J.A. Doerr 1983. Evaluation of immunity of young broiler chickens during simultaneous aflatoxicosis and ochratoxicosis. Poultry Sci. 62: 2138-2144.

Duncan, D.B. 1955. Multiple range and F; test. Biometric 11:42.

Huff, W.E. , R.D. Wyatt T.C. Tucker and P.B. Hamilton 1974. Ochratoxicosis in the broiler chicken. Poultry Sci. 53: 1585-1591.

Huff, W.E. and J.A. Doerr 1981. Synergism between aflatoxin and Ochratoxin A in broiler chickens. Poultry Sci. 60 : 550-555 .

Huff, W.E. ; J.A. Doerr ; C.J. Wabeck ; G.W. Chaloupka ; J.D. May and J.W. Merkley 1984.The individual and combined effects of aflatoxin and ochratoxin A on various parameters of broiler chickens. Poultry Sci. 63 : 2153-2161.

Huff, W.E. ;L.E. Kubena ; R.B. Harvey and T.D. Phillips 1992. Efficacy of hydrated calcium Aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of aflatoxin and ochratoxin A. Poultry Sci. 71 : 64-69 .

James, J.P. and G. S. Bondy 1990. Alteration of immune function following dietary mycotoxin exposure.Can.J.Physiol. pharmacol. 68:1009-1016.

King, J. 1974. Enzymes: in Clinical Biochemistry principles and Methods. Curtius, H.ch. and M. Roth, ed. Walter DeGruyter, Berlin, West Germany.Pages 1148-1151.

Nabney, J. and B.F. Nesbitt 1965 . A spectrophotometric method of determining the aflatoxin . Analyst . 90: 155-160 .

Qureshi, M.A., J.D. Garlich, W.M. Hagler,Jr., and D. Weinstock, 1992. *Fusarium proliferatum* culture material alters several production and immune performance parameters in white leghorn chickens. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 17:791-804.

Qureshi, M.A. J. Brake, P.B. Hamilton, W.M. Hagler,Jr., and S. Nesheim, 1998. Dietary exposure of broiler breeders to aflatoxin results in immune dysfunction in progeny chicks. Poultry Sci. 77:812-819.

Patten, V.H. , S.J. Shin, J. Cole, C.W. Waston, and W. H. Fales 1995. Evaluation of a commerical automated system and soft-ware for identification of veterinary bacterial isolates. J.Vet. Diagn. Invest. 7: 506-508.

Peraica, M., B. Radic, A.Lucic, and M. pavlovic 1999. Toxic effects of mycotoxins in humans. Bulletin of the World Organization. 77(9):754-766.

and AF and OA singly or in combination (Phillips et al. 1988).

TABLE 3. Individual and combined Effects of AF and OA with or without ASB on *Escherichia coli* clearance from blood and tissue in broiler chicks.

AF	OA	ASB	Time postinjection (log10cfu/ml blood)			(log10cfu/gm tissue after 180 min postinjection)	
Mg/kg		%	60 min	120 min	180 min	Liver	Spleen
0	0	0	2.79± 0.01g	2.32±0.02 g	1.02± 0.01 g	4.58±0.02 g	4.90±0.03 g
0	0	0.5	2.80±0.02 g	2.33±0.02 g	1.04±0.02 g	4.60±0.01 g	4.91±0.01 g
2.5	0	0	3.31±0.01 c	3.29±0.01 c	3.19± 0.01 c	5.01±0.03 b	6.03±0.02 b
2.5	0	0.5	3.08±0.01 d	3.02±0.03 d	2.87±0.01 d	4.78± 0.01 d	5.85± 0.01 d
0	4	0	2.99±0.02 e	2.80 ±0.01 e	1.61±0.01 e	4.73± 0.03 e	5.32± 0.02 e
0	4	0.5	2.95±0.01 f	2.78±0.02 f	1.58±0.02 f	4.60± 0.01 f	5.30±0.02 f
2.5	4	0	3.54± 0.01 a	3.49±0.01 a	3.39±0.01 a	5.11±0.02 a	6.11±0.01 a
2.5	4	0.5	3.38 ±0.02 b	3.33±0.02 b	3.24±0.01 b	4.97±0.03 c	6.00±0.02 c

-a-g Values within columns with no common superscript differ significantly ($p<0.05$).

Decreased bacterial clearance associated with reduced phagocytic system has been showed in chicks fed aflatoxin (Qureshi, 1992). Results of the *E. coli* challenge study indicated that poults after 60, 120 and 180 min postinjection, bacterial clearance rate in the blood and after 180 min postinjection in the liver and spleen showed increased in poults fed AF and OA singly or in combination diets, that's indicating that the ability of these poults to eliminate bacteria from the blood system was diminished. The diminished systemic bacterial clearance was associated with increased numbers of bacterial colonies in tissues, indicating that the

pyruvate, can be associated with myocardial infarction or with liver disease (Tietz, 1976).

TABLE 2. Individual and combined Effects of AF and OA with or without ASB on serum Enzyme activities in broiler chicks.

AF	OA	ASB	ALT*	AST	LDH	GGT	AP
g/kg		%	IU/ml				
0	0	0	20.2±0.92 a	146±0.31 a	445±1.97 a	10.5±0.15 e	6.3± 0.01 a
0	0	0.5	19.7±0.14 a	145±0.26 a	442±2.1 a	10.5±0.2 e	6.1±0.01 a
2.5	0	0	10.4±0.18 e	87±0.42 f	357±2.9 d	13.5±0.15 c	4.1±0.01 f
2.5	0	0.5	13.8± 0.13c	121±0.84 d	392±2.0 c	11.4±0.15 d	4.9±0.01 b
0	4	0	15.7±0.02 b	124±0.98 c	421±6.7 b	14.1±0.14 b	4.2±0.01 d
0	4	0.5	16.2±0.54 b	130±0.82 b	422±2.2 b	11.9±0.28 d	4.4±0.01 c
2.5	4	0	10.0 ±0.14 e	81±0.75 g	388±2.20 c	14.9±0.21 a	3.8±0.01 g
2.5	4	0.5	12.5±0.23 d	90±0.55 e	392± 2.1c	13.0±0.37 c	4.2 ±0.01 d

a-h Values within columns with no common superscript differ significantly ($p<0.05$).

*ALT - Alanine amino transferase
AST =Aspartate amino transferase.
LDH - Lactate dehydrogenase.
GGT - Gamma glutamyl transferase.
AP - Alkaline phosphatase.

Systemic bacterial clearance in poults fed AF and OA was showed in table 3. At 60, 120, and 180 min post injection there were significantly ($p<0.05$) higher number of *E. coli* colonies in the blood system. Similar number of *E. coli* colonies were observed in tissue homogenecses at 180 min post injection in liver and spleen, were observed in poults fed AF and OA in the diet singly or in combination.

The addition of ASB did not offer total protection as evidenced by all values which determined that were intermediate between those of controls

2.5	4	0	1.49±0.01 e	0.46±0.01 e	241±2.3 f	18.2±0.43 a	44±1.67 e	78 ±1.73 e
2.5	4	0.5	1.88±0.02 d	0.60±0.02 d	246±2.8 e	14.4±0.27 b	59±2.06c	113±0.95 d

a-f Values within columns with no common superscript differ significantly ($p<0.05$).
***TP**=Total protein, **Alb**=Albumin, **Glu**=Glucose, **UA**=Uric acid, **TG**=Triglycerides, **Cho**=Cholesterols.

A significant decrease of total protein and albumin with the dietary of AF and OA singly or in combination was agreement with Huff et al. (1992), these results suggest that a reduced hepatic synthesis may be the predominant cause of the decreased concentration of serum protein in the blood, hypoprotenemia can result either from a decreased synthesis of protein or an increased water content. The increased of uric acid suggest reduced rates of glomerular filtration caused by an impaired renal function. The concentration of serum triglycerides and cholesterol was decreased which may be due to reduced hepatic synthesis or to greater cholesterol clearance.

Table 2. Illustrated the effects of AF and OA individually or in combination on the enzyme activities .The enzymes ALT, AST, LDH, and AP was significantly lower ($p<0.05$) except GGT was higher at the poults was fed diets containing AF or OA individually or in combination when compared with the control group.

The AST,GGT and AP exists as acytoplasmic and mitochonderial enzyme that is most abundant in the heart, liver and skeletal muscules (King, 1974). In a clinical sense, elevated activated normally indicate myocardial infraction, liver disease or muscular dystrophy.

The activity of GGT increased significantly when the birds was fed with the diet AF and OA singly or in combination, that's increased of GGT in the serum normally can be attributed to renal, hepatic or pancreas damage (Tietz, 1976).

The AP activity, normally associated with estrogenic activity, was directly related to the proportion of protein in the diet. Elevated concentration of serum lactate dehydrogenase, which catalyzes the interconversion of lactate and

previously reported methods (Patten et al. 1995).

Data were analyzed by the ANOVA analysis, using the general linear model of the Statical Analysis System (SAS Institute, 2001). Significant treatment differences were evaluated using Duncan's multiple-range test (Duncan,1955). All statements of significance are based on the 0.5 level of probability.

RESULTS AND DISCUSSION

Individual and combined effects of AF and OA on serum biochemical values are summarized in table 1. When the compared with control, total protein, albumin, glucose, uric acid, triglycerides and cholesterol were significantly lower ($p<0.05$) for poults fed diets containing AF and OA individually and in combination except the uric acid was significantly increased for poults fed diets containing OA alone or combination with AF over the total 3-wk period of experiment.

TABLE 1. Individual and combined Effects of AF and OA with or without ASB on blood biochemistry in broiler chicks.

AF	OA	ASB	TP*	Alb	Glu	UA	TG	Cho
mg/kg		%	gm/100 ml		mg/100 ml			
0	0	0	3.13±0.02 a	1.21±0.01 a	271±2.8 a	6.2±0.01 d	105 ±1.6a	179±1.70 a
0	0	0.5	3.13±0.02 a	1.19±0.01 a	269±2.0 a	6.7±0.01 d	104±1.4 a	182±1.4 a
2.5	0	0	2.39±0.01 c	0.79±0.01 c	250 ±2.4 d	5.3±0.10 e	71±1.12 b	120±2.1 c
2.5	0	0.5	2.81±0.01 b	0.92±0.01 b	259±1.83 b	5.1 ±0.10 e	71±0.8 b	154±0.8 b
0	4	0	1.50±0.01 e	0.49±0.01 e	254±2.1 c	18.5±0.04 a	49±0.7 d	77 ±0.8 e
0	4	0.5	2.38±0.01 c	0.93 ±0.01 b	261 ±2.0 b	12.3±0.24 c	62±0.9 c	117±1.2 c

desired level of 2.5 mg AF and 4.0 mg OA/kg of diet (AOAC, 1984). The Activated sodium bentonite (ASB) was kindly provided by the state of Vegetable oil and incorporated into the appropriate diets at the level of 0.5%.Feed and water were available for *ad labium* consumption.

At 21 days of age, five poults per pen were bled via cardiac puncture. The serum was collected using corvac serum separator tubes. Serum concentration of total protein, albumin, glucose, uric acid, triglycerides, cholesterol, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST). Lactate dehydrogenase (LDH), γ-glutamyl transferase (GGT) and alkaline phosphatase (AP) were determine using a clinical chemistry analyzer according to the manufacturer's recommended procedure (obtained from Rondex Laboratories Ltd.).

The other five poults were intravenously injected with 4.0×10^6 *E. coli*. The amount of *E. coli* used was based on pilot experiments, for this study, a dose was chosen that showed complete elimination of bacteria from circulation but did not cause severe homodynamic changes, influencing clearance function. One milliliter blood was collected from the jugular vein into heparinized tubes at 60, 120 and 180 min post injection. Prior to *E. coli* inoculation, blood samples from each bird were collected and checked for the presence of *E. coli* in order to insure no preexisting infection. At 180 min post injection, poults were killed, and tissue samples of liver and spleen were taken for quantitative bacterial determination. Whole blood samples were serially diluted with sterile PBS and 100 µl of each dilution at each time point was plated into MacConkey agar plates. Approximately one gram of tissue sample was homogenized with 5 ml of sterile PBS. Serial dilution of tissue suspension (100 µl) was plated onto MacConkey agar plates. Plates were then incubated at 37 °c for 18 h, and number of colonies on the plates were determined and expressed as *E. coli* colony forming units. Each samples run in duplicate plates. The final bacterial concentrations were calculated as the number of colonies per milliliters of blood and as colonies per gram of harvested tissue. The colonies grown on the plates were confirmed to be *E. coli* colonies by

limited success (Anderson, 1983). Recent approach has been the addition of non-nutritive sorptive materials to the diet in order to reduce the absorption of mycotoxins from the gastrointestinal tract. The dietary additions of bentonite have been shown to diminish the effects of aflatoxin and ochratoxin in chicks (Phillips et al. 1988). Bentonite acts as an insoluble carrier that nonspecifically adsorbs molecules, thereby preventing their adsorption.

Our objectives in this study were to determine the effects of aflatoxin and ochratoxin on biochemical blood values and immunity in chicks and the effects of activated sodium bentonite on reducing the toxic effect on these values.

MATERIALS AND METHODS

In this experiment 160 day-old male broiler chicks (Fao-bro-1) were housed in heated starter batteries under continuos fluorescent lighting. Chicks were fed a corn soybean meal based starter diet obtained from a commercial mill; it contained 22% crude protein and 2950 K cal/kg metabolizable energy. The chicks were randomly assigned to the following treatment groups:

1) Control with 0 mg AF, 0 mg OA, 0% ASB; 2) 0.05% ASB; 3) 2.5 mg AF/kg of diet; 4) 2.5 mg AF/kg of diet plus 0.05% ASB; 5) 4 mg OA/kg of diet; 6) 4 mg OA/kg of diet plus 0.05% ASB; 7) 2.5 mg AF plus 4 mg OA/kg of diet; 8) 2.5 mg AF plus 4 mg OA/kg of diet plus 0.05% ASB. Each treatment consisted of two replicates of ten chicks per replicate. Aflatoxin was prepared through inoculation of rice by Aspergillus parasiticus NRRL 2999 described by Shotwell et al. 1966, as modified by West et al. 1973. Fermented rice was autoclaved and ground and the AF content measured by Spectrophotometric analysis (Nabney and Nesbitt, 1965 ; Wiseman et al. 1967). The total AF content in the rice powder , 80% was AFB1 , 14% was AFG1, 5% was AFB2 and 1% was AFG2. Ochratoxin A (OA) was produced from the static fermentation of wheat by Aspergillus ochraceus as described by Huff and Doerr 1981. The OA was extracted, purified and crystallized from benzene as described by Huff et al. 1974. Powdered of AF and OA was incorporated into the basal diet and conferment by HPLC to provide the

INTRODUCTION

Mycotoxins are secondary metabolites of molds that can be a toxic compounds to humans or animals upon ingestion. These compounds are structurally diverse and are capable of causing a variety of well-characterized biological and toxicological effects (Berry 1988). Severity, which depends on the toxicity of the mycotoxin, the extent of exposure, age and nutritional status of the individual and possible synergistic effects of other chemical structure of mycotoxins vary considerably. Mycotoxins occur in many agricultural commodities and are resistant to milling and processing (Peraica et al. 1999). Based on the observation that marked immunosuppression is a frequently observed effect in field cases of low-level mycotoxin exposure in livestock (Richared et al. 1978). Aflatoxin (AF) is a mycotoxin produced by strains of *Aspergillus flavus and A. parasiticus*. Aflatoxin is cutely toxic, immunosuppressive, hepatotoxin in young broiler chickens (Thaxton et al. 1974). Experimentally induced effect of this toxin include thymic aplasia, reduced T-cell function and number, diminished antibody response, suppressed phagocytic activity, and complement reduction (Qureshi et al. 1998). Because of their potent hepatocarcinogenicity, aflatoxins are regulated in the low parts per billion range in diet in most developed countries (James and Bondy 1990).

Ochratoxin A (OA) is a mycotoxin that has been demonstrated to be approximately three times more toxic to young broiler chicks than aflatoxin (Huff et al. 1984). Ochratoxin are a group of structurally related, secondary metabolites produced by *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum*, and certain other species of the genera *Aspergillus*. Ochratoxin A induced suppression of the antibody response to both thymus –dependent antigens, and thymus-independent antigens (Campbell et al. 1983).

Both aflatoxin and ochratoxin A are extremely toxic to poultry, yet these two mycotoxins interact synergistically to become even more toxic when they occur as simultaneous contamination's of poultry feeds (Huff et al. 1992).

Practical methods to detoxify mycotoxin-contaminated grain on large scale and in cost-effective manner are not currently available. A variety of physical, chemical, and biological

The Effects of Aflatoxin and Ochratoxin A on Blood Chemistry and Cellular Immune Response in Broiler Chicks

K. M. Thalij
College of Agric.,
Univ. of Tikrit, IRAQ.

M.N. Al-Shahery and
Veterinary College,
Univ. of Mosul, IRAQ.

M.M. Ahmad
College of Agric. And Forestry
Univ. of Mosul, IRAQ.

SUMMARY

This study investigate the effect of each Aflatoxins (AF) at 2.5 mg and Ochratoxin A(OA) at 4 mg/kg of feed alone or in combination and the effect of activated sodium bentonite(ASB) at a concentration of 0.5% for each groups as alleviation of toxicity on one – day-old broiler chicks feed for three weeks. Results of the experiment indicated that (AF) or (OA) alone or in combination caused a significantly ($p<0.05$) decrease in total protein, albumin, glucose, uric acid, triglycerides and cholesterol except the uric acid was increased significantly at the chicks that fed OA alone. The presence of these toxin alone or in combination also resulted significantly decrease in enzyme activities such as alanine amino transferase (ALT), aspartate amino transferase(AST), lactate dehydrogenase(LDH) and alkaline phosphatase(AP) except gamma glutamyl transferase(GGT) that was decreased in chicks that fed AF or OA singly or in combination. Chicks were fed diets for 3 wk_s and were injected intravenously with 4.0×10^6 *Escherichia coli* on day 21, then blood samples were collected at 60, 120,and 180 min post injection, and liver and spleen were collected after 180 min. Chicks fed AF and OA singly or in combination caused a significant ($p<0.05$) increase in numbers of bacterial colonies in blood, liver and spleen than control chicks.

The addition of activated sodium bentonite at a concentration of 0.5% of the feed give a significant ($p<0.05$) alleviation the negative effect of each AF and/or OA in broiler chicks as the results of all toxicity parameters studded were moved closer to the results in the control group.