تأثير فترات خزن مختلفة لبذور بعض انواع البقوليات السليمة والمصابة بحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية (Fab) *Callosobruchus maculatus*

(Coleoptera : Bruchidae)

في مستوى تلوثها بالبكتريا الهوائية

الآء حسين عليوي

كليةالعلوم / جامعة ذي قار

المقدمة :

تعد العائلة البقولية Leguminae من العوائل النباتية المهمة كونها تضم عدد كبير من المحاصيل الاقتصادية إذ تضم 600 جنس وحوالي 1300 نوع إلا إن 18 نوع منها فقط يستعمل في تغذية الانسان من اهمها الباقلاء اللوبيا والعدس والحمص والماش وتحتوي البقوليات على نسبة عالية من البروتين النباتي تصل الى 50 %(8).

يعد تخزين بذور البقوليات مهما في حياة كثير من الشعوب في دول العالم المختلفة وخلال فترات التخزين تتعرض البذور للتلف نتيجة الاصابة بافات المخازن المختلفة ومن هذه الافات هي حشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callosobruchus maculatus* التي تعود الى رتبة غمدية الاجنحة Coleoptera التي تعد من اكبر الرتب التي تضم ثلث الأنواع حقيقية النواة(25, 10) والحشرة تصيب المحاصيل البقولية على اختلاف أنواعها وتبدأ الإصابة في الحقل بعد الإزهار أو إثناء جمع المحصول وتتابع تكاثرها داخل المخزن وليس لها بيات شتوي مما يجعلها دائمة الضرر(6) حيث تبلغ نسبة الفقد 25 – 30 % في الحقل و 80% في المخازن خلال 6- 8 أشهر في المناطق المعتدلة من العالم كما تلحق ضررا بالبذور بعد 6 أشهر من التخزين تصل إلى 100%(22).

أن ما يصل إلى الحبوب من أحياء مجهرية إثناء نمو النباتات في الحقل ومن التربة ومن المصادر الطبيعية الأخرى فإن تداول هذه الحبوب بدأ من عملية الحصاد إلى نهاية عملية التصنيع أو الخزن يؤدي إلى زيادة ما تحويه هذه الحبوب من الكائنات المجهرية والتي تستمر في الزيادة نوعا وكما باستمرار عمليات التداول أو الخزن وتعرضها إلى مؤثرات ميكانيكية أو إصابتها بالآفات المختلفة ومنها الحشرات .(19, 20)

يعد عامل الرطوبة من العوامل الرئيسة لحماية المواد الغذائية من التلف أثناء الخزن واغلب المواد الجافة تمتص الرطوبة من الجو ومعدل امتصاصها يعتمد على مستوى رطوبتها الداخلية وعند خزن المواد الغذائية ومنها البقوليات وهي ذات محتوى رطوبي واطئ يقلل من شدة تلوثها بالأحياء المجهرية والحشرات (24).

تعتبر الحشرات مصدر مباشر لتلوث المنتجات الزراعية وتشكل نسبة تلوثها بالاحياء المجهرية 12% و11% عند الخزن بالحشرات وان هذا التلوث ليس تأثير السلبي فقط على نوعية المواد المخزونة ولكن يشمل صحة الانسان فاستهلاك المواد المخزونة المتلوثة تسبب تفاعلات حساسية للانسان (14 ,13) حيث ظهر ان الاغذية المصنعة او المخزونة والمصابة بالخنافس قد ينتج عنها اصابات حساسية شديدة وسيما فئات المزارعين والعاملين في المطاحن والخبازين ومعامل صناعة الاغذية (26).

لذا هدفت الدراسة الحالية إلى تحديد التلوث البكتيري للبقوليات المخزونة لفترات مختلفة والمصابة بحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية .

المواد وطرائق العمل

1- تهيئة مزرعة دائمية لحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callosobruchus maculatus*

تم الحصول على مزرعة نقية للحشرة من الباحثة منى عبد الواحد بنيان حيث كانت موضوع بحثها لرسالة لماجستير ومشخصة من قبل الأستاذ الدكتور محمد صالح عبد الرسول / متحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد . وتم إدامة هذه المزرعة بعد كل جيل وذلك بوضع100غم من بذور الحمص في قناني زجاجية بأبعاد (15×9سم) وأصابتها بأعداد كافية من كاملات الحشرة وغطيت بقطع من الشاش ووضعت بدرجة حرارة المختبر .

2- عينات البقوليات Legumes Samples

استخدمت في هذه الدراسة بذور خمسة أنواع من البقوليات المدرجة في الجدول (1) تم جمعها من الأسواق المحلية لمدينة الناصرية وكان وزن العينة الواحدة كيلو غرام واحد نقلت العينات إلى المختبر بأكياس بولي اثيلين معقمة لإجراء التحاليل والتجارب اللازمة .

جدول (1) : أنواع البقوليات المستخدمة في الدراسة

ت	الاسم العربي	الاسم الانكليزي	الاسم العلمي
1	الحمص	Chick pea	Cicer arietinum
2	الماش	Green gram	*Vigna radiate(L.)*wilezek
3	اللوبيا	Cowpea	*Vigna unguiculata (L.)* wap
4	البزاليا	Gorden pea	*Psium Stivum*
5	الباقلاء	Broad been	*Vicio faba*

3 -تأثير فترات الخزن المختلفة في مستوى التلوث بالبكتريا

تم اختبارتأثير ثلاث فترات لخزن بذور البقوليات (الحمص، الماش ، اللوبيا ، البزاليا و الباقلاء) وهي (3 – 6 – 9 أشهر) على مستوى التلوث بالبكتريا حيث وضع 100 غم من بذور كل من انواع البقوليات السابقة الذكر في قناني زجاجية بأبعاد (15×9 سم) وادخل في كل قنينة 5 أزواج من الحشرات الحديثة الخروج (ذكر وأنثى) ووضعت في حاضنة بدرجة حرارة 28 ±1 مْ ورطوبة 50 ± 5 % للفترات الزمنية المشار إليها وبثلاث مكررات لكل حالة ومعها ثلاث مكررات من كل نوع من البذور خالية من الحشرات (معامل سيطرة) وفي نهاية كل فترة يتم عزل وتشخيص البكتريا وتقدير إعدادها.

3-1- العدد الكلي للبكتريا:

تم تقـــدير الأعـــداد الكلـية للبكتريا في البقوليات حسب ماجاء في (21) وكما يلي :

تم وزن 10غم من كل عينة مصابة بالحشرة والسليمة ووضعت في خلاط كهربائي Blender بعد تعقيمه وأضيف إليها 90مللتر من محلول التخفيف المعقم الحتوي على 0.85% كلوريد الصوديوم ، خلطت العينة لمدة 15 دقيقة ، تركت بعدها لمدة 1 – 2دقيقة ويمثل هذا التخفيف 10^{-1} وضرت سلسلة من التخافيف لغاية 10^{-6}وذلك حسب الحاجة نقل 1أو 0.1مللتر من التخافيف إلى أطباق بتري معقمة وبمكررين لكل تخفيف ثم أضيف لها الوسط ألزرعي Nutrient agarوحركت الأطباق باتجاه عقرب الساعة وبعكسه لتجانس التخفيف مع الوسط ألزرعي وضعت بعد ذلك في الحاضنة بدرجة حرارة 37مْ لمدة24-48ساعة وبعد نمو مستعمرات البكتريا تم عدها ثم تشخيصها.

3-2– تشخيص البكتريا :-

تم تشخيص البكتريا ًحسب (17) فضلا عن الاختبارات الكيموحيوية وهي :

Oxidase tests.1

مسحت بقعة بكتريا بواسطة عود خشبي على ورقة ترشيح واضيف قطرة من كاشف Oxidase الى المسحة . النتيجة الموجبة ازرق مسود.

Catalase test.2

بعد وضع البكتريا بطريقة معقمة على شريحة زجاجية يضاف اليها قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين 3%. النتيجة الموجبة ظهور فقاعات Bumbbles.

Voges Proskauar test.3

لقح وسط Methyl red – Voges Proslauar Broth (M.R-V.P.) medium بالبكتريا وحضن بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة وبعد اكتمال فترة الحضن اضيف للوسط 3مل من محلول الالفا نفثول و 1مل من محلول هيدروكسيد البوتاسوم مزجت جيدا وتركت لمدة 10 دقائق . ظهور لون وردي الى احمر يدل على ان النتيجة موجبة.

3-3- عد مستعمرات البكتريا

استخدم جهاز عد المستعمرات Colony counter لعد المستعمرات المعزولة على الأطباق حيث تم حساب العدد الكلي لكل مكرر واستخرج معدلهما ثم ضرب الناتج في مقلوب التخفيف للحصول على عدد الخلايا في (1) مل وحسب فترات الخزن (5).

4 – التحليل الإحصائي :-

نُفذ البحث حسب التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized(C.R.D.) Design وبتجربة عاملية تضمنت (3 فترات خزن× 2 حالة بذور × 5 أنواع بذور) ، حللت النتائج إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS واستخدم الفرق المعنوي الأصغر المعدل Rrvisid least)(.(R.L.S.D) (significant difference لمقارنة الفروق الإحصائية والتداخلات المختلفة بين المعدلات تحت مستوى معنوية 0.05% (2) .

النتائج والمناقشة :-

أولاً: التلوث النوعي

يبين الجدول (2) أنواع البكتريا المعزولة من بذور بعض أنواع البقوليات السليمة والمصابة بحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية خلال فترات خزن مختلفة في درجة حرارة 28مْ ورطوبة نسبية 50±5% وهذه الأنواع هي *Staphylococcus aureus* و *S. epidermidis* و *Pseudomonas aeruginosa* وهي جميعا من البكتريا الهوائية .

اذ لوحظ ان النوع الأول والثاني لهما السيادة طيلة فترات الخزن المدروسة ولجميع أنواع البذور السليمة والمصابة بالحشرة بينما تواجدت بكتريا P. aeruginosa خلال فترة الخزن 3أشهر ولجميع أنواع البذور السليمة والمصابة ثم اختفت في فترتي الخزن 6 و9 أشهر من جميع أنواع البذور السليمة والمصابة .

قد يرجع السبب في تواجد بعض أنواع البكتريا واختفاء بعضها خلال فترات الخزن إلى عدم توفر المحتوى المائي في المادة الغذائية للبذور واختلاف نسب مكوناتها من العناصر الغذائية التي يكون لها دور رئيسي في تواجد وانتشار بعض الأحياء المهجرية دون غيرها (16)

وقد أشار (23) إلى أن بعض أنواع البكتريا المتواجدة على الحبوب المخزونة غير مرضية Nonpathogenic .

ثانياً :- التلوث الكمي :-

يتضح من النتائج في جدول(3) معدل أعداد البكتريا ×10^3 مستعمرة /غم في بذور أنواع بذور البقوليات السليمة والمصابة بمستوى عددي 5 أزواج والمخزونة بدرجة حرارة 1±28مْ ورطوبة نسبية 5± 50 % لفترات مختلفة . حيث وجد أن معدل أعداد البكتريا اختلف بإختلاف فترات الخزن وبفروق معنوية بينهما حيث كان أعلى معدل في فترة الخزن 9أشهر والبالغ 2035 ×10^3 مستعمرة/غم واقل معدل في فترة خزن 3 أشهر إذ بلغ537×10^3 مستعمرة /غم أما في فترة الخزن 6 أشهر بلغ معدل أعداد البكتريا 1112× 10^3 مستعمرة/غم وذلك يشير إلى طول فترة الخزن تؤدي إلى بناء سكان اكبر من

ادوار الحشرة المختلفة مما يسبب زيادة مستوى التلوث بالأحياء المجهرية والمتأتي عن الفعاليات الايضية للحشرات الكاملة وأدوارها غير البالغة وتراكم فضلاتها وجلود انسلاخها وهذا يسبب تغيير في عوامل البيئة الداخلية (Intrinsic Factors) لمحتوى الحبوب خاصة فيما يتعلق بدرجة الحرارة ومستوى الرطوبة النسبية وتهيئة بيئة ملائمة لتكاثر وانتشار مختلف الأحياء المجهرية ومنها البكتريا (18 , 12 ,15)

وقد أكد ذلك (9) الذي أشار إلى انه عندما تكون الإصابة بالحشرات شديدة في صوامع الحبوب فأن درجة حرارة الحبوب ترتفع وقد تصل إلى 42مْ أو أكثر فينتج عنها رائحة غير مقبولة إضافة إلى تبخر الماء من المواضع الساخنة داخل البذور ثم يعود هذا الماء ويتكثف في المواضع الباردة على سطح البذور ويؤدي إلى تكتل الحبوب وتعفنها بسبب نمو الأحياء المجهرية وتنخفض قيمتها التجارية .

ومن الجدول نفسه نلاحظ أن معدل أعداد البكتريا اختلف حسب حالة البذور إذ بلغ في البذور المصابة 5999 × 10^3 مستعمرة/غم بينما في البذور السليمة بلغ 1297 بفرق معنوي بينهما .

أن تلوث المنتجات الزراعية بالأحياء المهجرية يحدث بعد الحصاد بسبب بعض العمليات كالنقل والخزن وان وجود مثل هذه الظروف تشجع على نمو الأحياء المهجرية مثل البكتريا كما أكد ذلك كل من(29,27) الحبوب الحنطة المخزونة تحتوي على أنواع من البكتريا والخمائروالفطريات .

أما من حيث نوع البذور فقد أشارت النتائج المذكورة في الجدول 3 إلى أن معدل أعداد البكتريا قد اختلف حسب نوع البذور فقد كان أعلى معدل لها في بذور اللوبيا والماش حيث بلغ 39234و 20814×10^3و مستعمرة/غم على التوالي واقله في بذور الباقلاء حيث كان 3198× 10^3 مستعمرة/غم كما أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين معدل أعداد البكتريا في كل أنوع البذور. ونستنتج مما ذكر أعلاه أن بذور اللوبيا والماش هما النوعان الأكثر تعرضا للتلوث بالبكتريا من بين الأنواع المدروسة وقد يعود السبب في ذلك إلى التفضيل الغذائي Food preferenceمن قبل الحشرة لبعض عوائلها من النباتات البقولية والذي قد يوفر لها المتطلبات الغذائية اللازمة لبناء سكان عالي من أدوار الحشرة المختلفة حيث يكون الأداء الحياتي لها في مستوياته المثلى وهذا يؤثر بدوره في مستوى التلوث البكتيري . وقد أشار العديد من الباحثين إلى أن اللوبيا والماش هما من أكثر العوائل تفضيلا من قبل الحشرة مقارنة بالعوائل الأخرى (4, 28, 1) وأوضح (7)أن الرطوبة في بذور البقوليات المخزونة تختلف باختلاف أنواعها اعتمادا على النشاط المائي Water activity والمحتوى الرطوبي حويث تزداد القابلية على التلف الإنزيمي والميكروبي بزيادة العوامل المذكورة .

ويوضح الجدول (3) التداخل بين فترة الخزن وحالة البذور إذ بلغ اعلى معدل لأعداد البكتريا في البذور المصابة خلال فترة الخزن 9أشهر إذ بلغ 8391 × 10^3 مستعمرة/غم أما اقل معدل لها كان في فترة الخزن 3 أشهر والبالغ 977 × 10^3 مستعمرة/غم .

كما يوضـــح الجدول نفسه التداخل بين فترة الخزن ونوع البذور حيث كان أعلى معدل لإعـداد البكتريـا فـي فتـرة الخـزن 9 أشـهر فـي بـذور اللوبيـا والبـالغ 1541 × 10^3 مستعمرة/غم واقــله في بذورالبزاليا حيث بلغ 930 × 10^3 مستعمرة/غم .

يوضح التـداخل بين نـوع البذور وحالتيها السليمة والمصابة بالحـشرة إن معـدل أعداد البكتريـا في البـذور المصابة قد فاق معدل أعداد البكتريا في البذور السليمة وهذا بدى واضحا في بذور اللوبيا المصابة والبالغ 20833× 10^3 مستعمرة/غم أما اقل معدل في بذور الحمص والبالغ 127 × 10^3 مستعمرة/غم أما بالنسبة إلى البذور السليمة كان أعلى معدل في بذور الحمص والبالغ 7250× 10^3 مستعمرة/غم واقله في بذور اللوبيا 56× 10^3 مستعمرة/غم. لل وجود الحشرات في البذور المصابة يهيئ الظروف المؤاتية لزيادة انتشار البكتريا إذ تساهم الحشرات في نقل الجراثيم البكتيرية من الحبوب المصابة إلى السليمة أثناء حركتها وتغذيتها في المخزن بالإضافة إلى قيامها بتحطيم الغلاف الخارجي للبذور وما تحدثه من فتحات وثقوب تسهل دخول العديد من الأحياء المهجرية ومنها البكتريا (18, 30, 11) وقـــد يـــرجع سبب هـذا التــفاوت في مــعدل أعــداد البكتريا إلـى تــفاوت نســبة المحتــوى المــائي فـــي المــادة الغذائيـة للبـذور واخـتلاف نسب مكوناتها من العـناصر الغذائيـة التـي يكون لهـا دور رئيـــسي في تواجد وانتشار البكتريا.(16).

أما بالنسبة الى التداخل بين فترة الخزن وحالة البذور ونوعها قد تميزت بذور اللوبيا والباقلاء المصابة من بين الأنواع الأخرى في ارتفاع معدل أعداد البكتريا خلال فترات الخزن الثلاثة وخاصــة فــي فترتــي 6و9 أشــهر إذ بلــغ1541 و1800 و19166و20833 × 10^3 مستعمرة/غم على التوالي .

بينما كان اقل معدل في بذور الحمص حيث بلغ 127 × 10^3 مستعمرة/غم في فترة الخزن 3 أشهر أما بالنسبة إلى البذور السليمة فقد بلغ أعلى معدل في بذور الحمص في فترة خزن 9أشهر والبالغ 7250× 10^3 مستعمرة/غم أما اقل معدل في بذور اللوبيا 56× 10^3 مستعمرة/غم في فتـرة الخـزن 3 أشـهر . أن معــدل أعـداد البــكتريا يـزداد بزيـادة الخــزن كــما أن درجـة الحرارة والرطوبة النسبية هي عوامل مهمة ومتشابهه في درجة استجابة البكتريا والحشرات لها حيث توفر ظــروف مناسـبة لنمــوها وانـتشارهـا كما أن وجود الحشرات والبكتريـا فـي بيئـة واحدة يؤدي كل منهما دور التأثر والتأثير في الآخر (3 , 19).

تأثير فترات خزن مختلفة لبذور بعض انواع البقوليات السليمة والمصابة بحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية *Callosobruchus maculatus* (Fab)

(Coleoptera : Bruchidae)

في مستوى تلوثها بالبكتريا الهوائية

الآء حسين عليوي

كليةالعلوم / جامعة ذي قار

الخـــلاصـــــة :

تم دراسة تأثير خزن بذور بعض انواع البقوليات السليمة والمصابة بحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية وهي (الحمص ، الماش ، اللوبيا ، البزاليا والباقلاء) لفترات زمنية مقدارها 3 و6و9 أشهر وأ ظهرت النتائج تلوث البذور السليمة والمصابة بالانواع التالية من البكتريا الهوائية وهي *Staphylococcus aureus* و *S. epdermidis* و *Pseudomonas aeruginosa* . لوحظ اختلاف مستوى التلوث الكمي بالأنواع البكتيرية أعلاه باختلاف فترات الخزن وحالة البذور ونوعها اذ سجل أعلى معدل لأعداد البكتريا عند فترة خزن 9 أشهر وكان 2035×10^3 مستعمرة/غم واقل معدل عند 3أشهر إذ بلغ 537×10^3 مستعمرة /غم وبفارق معنوي بينهما.أما حالة البذور فقد تفوقت البذور المصابة معنويا على البذور السليمة في معدل أعداد البكتريا ولجميع فترات الخزن اذ بلغت 5999×10^3 مستعمرة/غم في البذور المصابة بينما في البذور السليمة 1297×10^3مستعمرة /غم.أما نوع البذور فسجل أعلى معدل لأعداد البكتريا في بذور اللوبيا والماش اذ بلغ 39234و 20814×10^3 مستعمرة/غم على التوالي واقله في بذور الباقلاء حيث كان 3198×10^3 مستعمرة/غم.

Effect of different storage periods of some species of legume seeds non infected and infected with cowpea weevil

Callosobruchus maculatus(Fab.)

(Coleoptera : Bruchidae)

in their contamination with aerobic bacteria

Alaa H.Elewi

Abstract:

The effected of storage on some spieces of legume seeds infected and non-infected with cowpea weevil which (Chickpea , green gram,cowpea, gorden pea and broad bean) for a periods 3,6and 9months was studied. The noninfected and infected legume seeds showed a contamination with bacterial species of *Staphalococcus aureus S. epdermidis* and *Pseudomonas aeurgiosa*.The quantitative contamination with the previous bacterial species was differeness according to storage periods and seeds state and plant species. The highest average of bacterial numbers recorded at the storage period of 9months was 2035×10^3C.F.U.\gm while the lowest average in the storage period 3 months was reached 537×10^3C.F.U.\gm with signeficant differences between them.

The infected legume seeds was significantly increased than non infected in the average of bacterial numbers in all storage periods with average of 5999×10^3 C.F.U \gm in infected seeds while in non infected reached 1297×10^3 C.F.U \gm.Species seeds were recorded the highest average of bacterial numbers in cowpea and green gram were reached 39234 ,20814 $\times10^3$C.F.U.\gm respectively ,the lowest average of bacterial numbers in broad bean was 3198×10^3 C.F.U \gm.

جدول(2) انواع البكتريا المعزولة من بذور بعض انواع البقوليات السليمة والمصابة بحشرةخنفساءاللوبيا الجنوبية *C.maculatus* خلال فترات خزن مختلفة

انواع البكتريا	فترة الخزن /شهر	حالة البذور	أنواع بذور البقوليات

			الحمص	الماش	اللوبيا	البزاليا	الباقلاء
Staphylococcus epidermdis	3	السليمة	+	+	+	+	+
		المصابة	+	+	+	+	+
S. aureus		السليمة	+	+	+	+	+
		المصابة	+	+	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa		السليمة	+	+	+	+	+
		المصابة	+	+	+	+	+
Staphylococcus epidermdis	6	السليمة	+	+	+	+	+
		المصابة	+	+	+	+	+
S. aureus		السليمة	+	+	+	+	+
		المصابة	+	+	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa		السليمة	-	-	-	-	-
		المصابة	-	-	-	-	-
Staphylococcus epidermdis	9	السليمة	+	+	+	+	+
		المصابة	+	+	+	+	+
S. aureus		السليمة	+	+	+	+	+
		المصابة	+	+	+	+	+
Pseudomonas aeurginosa		السليمة	-	-	-	-	-
		المصابة	-	-	-	-	-

(+) البكتريا موجودة
البكتريا غيرموجودة
(-)

جدول (3) معدلات أعدادالبكتريا (مستعمرة $\times 10^3$ \غم) في بذور بعض أنواع البقوليات السليمة والمصابة بحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية *C. maculatus* خلال فترات خزن مختلفة

	الماش			اللوبيا			البزاليا			الباقلاء			متوسط حالة البذو	
مة	السليمة	المصابة	المتوسط	السليمة	المصابة	المتوسط	السليمة	المصابة	المتوسط	السليمة	المصابة	المتوسط	السليمة	

7	97	1058	1950	161	183	150	97	786	1516	56	620	1141	99	99	127
8	855	158	1800	116	215	866	65	2750	1541	396	405	650	160	123	233
1	1790	9594	19166	2216	930	8600	1000	1141	20833	2000	6141	5500	6783	37208	19166
			6390	7481		3038	3387		70463	8005		18930	22697		7209
9	1297	3198			3221			39234			20814			12447	

$R.L.S.D_{0.05}$ لفترات الخزن=1254 $R.L.S.D_{0.05}$ لانواع البذور= 1366

* الارقام تمثل معدل ثلاث مكررات

2201 فترة خزن ونوع البذور = $R.L.S.D_{0.05}$

فترة خزن وحالة البذور= 2798 R.L.S.D