تأثير الأشعة فوق البنفسجية UV-C في نمو الفطر Aspergillus flavus المعزول من حشرة خنفساء الطحين الحمراء Tribolium castaneum وإنتاج الافلاتوكسينات

*رؤى كامل محمود صباح لطيف علوان سعدي محمد هلال

وقاية النبات- كلية الزراعة- جامعة الكوفة قسم علوم الحياة -كلية العلوم للبنات- جامعة بابل

جمهورية العراق جمهورية العراق

المستخلص :

أجريت هذه الدراسة لتقييم كفاءة الأشعة فوق البنفسجية UV-C في نمو الفطر Aspergillus flavus المعزول من الأطوار المختلفة لحشرة خنفساء الطحين الحمراء Tribolium castaneum وقدرته على إنتاج الافلاتوكسينات Aflatoxins وقد أظهرت النتائج بان عند تعريض الفطر A.flavus لمدد مختلفة 2 ,4 ,8 , 16، 24 ،32 دقيقة للأشعة الفوق البنفسجية UV-C وبطول موجي 254 نانوميتر فقد أدى ذلك إلى تناقص النمو القطري للفطر مع زيادة مدة التعريض إذ بلغ اقل نمو قطري 1.12 سم في اليوم السادس عند تعريض الفطر لمدة 32 دقيقة بالمقارنة مع 8.42 سم في معاملة السيطرة وبفارق معنوي على مستوى 5%.

عند استخدام جهاز HPLC وجد بان معدل إنتاج سم الافلاتوكسين قد انخفض وذلك عند تعريض الفطر A.flavus إلى مدد مختلفة من الأشعة الفوق البنفسجية UV-C وبطول موجي 254 نانوميتر حيث بلغ اقل تركيز (تحت مستوى خط التعرف U.D.L) عند التعريض لمدة 32 دقيقة بالمقارنة مع معاملة السيطرة حيث بلغ 2.6 جزء بالمليون .

كلمات مفتاحية: Aflatoxin , Aspergillus flavus , UV-C

---

*البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الاول

The effect of UV-C on growth of Aspergillus flavus isolated from the Red flour beetle Tribolium castaneum and the production of Aflatoxins.

*Roaa K. Mahmod Sabah L. Alwan ** Saidi M. Hilal

Department of plant protection- Faculty of Agriculture – University of Kufa – Republic of Iraq.

**Department of Biology—College of Science for Women – University of Babylon – Republic of Iraq.

Abstract

The present study was carried out in order to evaluate the efficiency of UV-C on the growth of the fungi Aspergillus flavus which was isolated from different instars of Tribolium castaneum in addition to its effect on the production of aflatoxin by the fungi the results showed the following

When A.flavus exposed to different periods (2, 4, 8, 16, 24 and 32 min) of times to UV-C 254 nanometer wave length the radial growth of the fungi was reduced significantly as time of exposure was increased from 2 to 32 min being the lowest radial growth of the fungi was 1.12 cm after six day from time of exposure to UV-C for 32 min as compared with 8.42 cm in the control one ($p>0.05$).

When HPLC technique used to detect the presence of aflatoxine produced by the fungi it was found that the rate of producing this kind of toxin was reduced significantly when A.flavus exposed to different periods of UV-C the lowest rate was zero (under detection limit) when A.flavus exposed to UV-C for 32 min in comparison to 2.6 ppm in the control one.

Keywords: Aflatoxin, Aspergillus flavus, UV-C

---

*Part of M.Sc thesis of the first author

المقدمة :

تتعرض منتجات الحبوب للإصابة بأنواع مختلفة من الآفات الحشرية خاصة خنافس الطحين Tribolium castaneum والتي تسبب تلف مايقارب 10-40% من المحاصيل المخزونة في العالم (6) وقد تقف الإصابة حاجزا أمام إمكانية التوسع في التسويق لأنها وبسبب الإصابة العالية والمستمرة لهذه المنتجات فإنها تترك أثرا ورائحة لها على المادة الغذائية المصابة مما يجعلها غير مقبولة وعديمة الفائدة للإنسان،وقد أصبح من الواضح لدى الكثير من المختصين في مجال الخزن والوقاية ماتسببه خنفساء الطحين الصدئية الحمراء T.castaneum وحشرات خنافس الطحين عموما من أضرار ورائحة للمادة التي تتغذى عليها وتمكث فيها فترة من الوقت وخصوصا مادة الطحين التي تكتسب نتيجة الإصابة بهذه الحشرة رائحة وطعم ولون غير طبيعي فضلا عن العفونة المميزة التي تبقى مرافقة له حتى بعد تعرضه لدرجات حرارة عالية أثناء عمليات التصنيع للخبز والمعجنات الأخرى ، وتشمل الأضرار التي تحدثها الحشرة مجموعة من الصفات التي تحدد صلاحية الطحين والمواد المصنعة منه للاستهلاك البشري كنقص البروتين والنشا والمعادن والفيتامينات المختلفة الموجودة في مادة الطحين (3).

تعتبر إصابة البضائع الغذائية بعدوى الحشرات والفطريات إحدى المشاكل الشائعة بسبب بعض الممارسات الزراعية التي تؤدي إلى التلوث بالفطريات ، إن هذه العوامل المسببة للتلف تؤدي إلى تدهور السلع الغذائية المتمثل بالخسارة بالوزن والقيمة الغذائية والتسمم من خلال إنتاجها للسموم الفطرية، حيث ذكر كل من Allotey و Odamtten (8) بان بعض أنواع الفطريات التي تعود للأجناس Aspergillus و Penicillium و Cladosporium تستقر مختبئة في الحبوب التي تعتبر مصدرا لتغذية الحشرات وتطورها ، وعادة ما تصاحب فطريات الخزن الإصابة بالحشرات مثل خنافس الطحين المختلفة (22).

وكذلك فان بعض أنواع الفطريات التابعة لأجناس Aspergillus و Penicillium وFusarium التي تعد من اخطر الملوثات الغذائية المعروفة بإنتاجها للسموم الفطرية (Mycotoxins) مثل سموم Aflatoxins و Ochratoxins و Fumonisin لما لها من تأثيرات مرضية مسرطنة للإنسان والحيوان(20) ويعد الفطر A.flavus من الفطريات المنتجة لسموم الافلاتوكسين ونتيجة لاستهلاك المحاصيل الملوثة بتلك السموم أو انتقال تلك السموم بالسلسلة الغذائية وان هذه السموم لاتختفى حتى بالمعالجة الحرارية في حالة الطبخ (34) وإنها تصيب النظام المناعي للإنسان مسببة اضعافة (24) فضلا عن قدرة هذه السموم على التفاعل مع الحامض النووي DNA مما يؤدي إلى حدوث تغيرات غير قابلة للإصلاح (25). لذلك يجب استخدام طرق فعالة وغير ملوثة للبيئة مثل الأشعة فوق البنفسجية UV-C لتقليل إصابة الفاكهة والخضر المخزونة (15 و10) لما لهذه الأشعة من تأثير تثبيطي على الفطرين Aspergillus وPenicilium واللذان لهما التأثير على جودة حبوب الحنطة (16). وقد استخدمت الاشعه فوق البنفسجية (UV-C) بشكل واسع في مصانع الطعام وفي تعقيم الهواء وأسطح الثمار من الفطريات المتواجدة عليها ،وكذلك في خزن

المحاصيل الحقلية والفاكهة والخضر (12 و 26).

المواد وطرق العمل:

عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لحشرة خنفساء الطحين الحمراء T.castaneum

تم تعقيم مجموعة من الحشرات الكاملة واليرقات بأعمار مختلفة، بمادة هايبوكلورات الصوديوم تركيز 2% لمدة دقيقتين ،ثم تم غسلها بالماء المقطر المعقم مرتين لإزالة أثار المادة السامة ،ثم تنشيفها من الماء الزائد بوضعها على ورق ترشيح،بعدها تمت زراعتها على وسط P.D.A حيث تم زراعة ثلاث عينات في كل طبق وبثلاثة مكررات،ثم حضنت بدرجة 27±2م°.

تمت مراقبتها كل 24 ساعة،لحين ظهور الفطريات ،حيث تم تشخيصها وتنقيتها لحين الاستعمال وقد وجدت أنواع من الفطريات التي ترافق حشرة خنفساء الطحين الحمراء T.castaneum هي:

Aspergillus flavus و A.niger و A.parasiticus A.ochraceus و Alternaria alternate وكان الفطر A.flavus الأكثر ترددا وظهورا من الفطريات الأخرى المعزولة من الأطوار المختلفة للحشرة

اختبار تأثير الأشعة فوق البنفسجية UV-C (254 نانومتر) في الفطر flavus Aspergillus المرافق لحشرة T.castaneum:

بناء على نتيجة العزل والتشخيص تم انتخاب الفطر A. flavas لغرض هذه الدراسة:

تم تحضير 30 طبقاً قطر 9 سم يحوي كل منها على 20 مل من الوسط الغذائي P.D.A, إذ تم تلقيح مركز ثلاث أطباق بقرص قطره 0.5 سم بثاقب الفلين لكل طبق من حافة المستعمرة للفطر أعلاه ووضع في الحاضنة بدرجة حرارة 27±2 م° وبعد يوم واحد تم اخذ غزل فطري من الأطباق وزراعته في مركز الأطباق وقد قسمت الأطباق على ستة مجاميع وعرضت للأشعة الفوق البنفسجية وبواقع أربع مكررات لكل معاملة ولأوقات مختلفة (0,2,4,8,16,24,32) والمسافة 12سم مع ترك المجموعة السادسة بدون تعريض للمقارنة.

اختبار قدرة بعض العزلات الفطرية على إنتاج الافلاتوكسينات B_2, B_1

الكشف عن الافلاتوكسينات باستعمال كشف الامونيا

تم تحضير وسط PDA وصب في أطباق بتري (9 سم) وبعد تصلبها لقحت الأطباق بأقراص 5 ملم منمى عليها عزلات من الفطريات A. flavus بعمر (7) أيام وضعت في مركز كل طبق وكررت العملية ثلاث مرات للفطر بعدها حضنت بدرجة حرارة 27± 2 م° لمدة أسبوع بعدها عوملت الأطباق بالامونيا (20 %) وذلك بقلب الأطباق بحيث تكون قاعدة الطبق إلى الأعلى ووضع ورقة ترشيح مشبعة بالامونيا في غطاء كل طبق ثم حضنت الأطباق بالحاضنة بدرجة حرارة 25 م° ولمدة (24) ساعة ومتابعة تغير لون قواعد مستعمرات الفطرية فتغير اللون من اللون الأبيض الشفاف إلى اللون الأحمر دليل على قدرة العزلة على إنتاج الافلاتوكسينات (27) .

تنمية عزلات الفطر

تم تهيئة أطباق بتري (9 سم) التي تحوي على وسط PDA ، وحضرت عزلات الفطر A. flavus وذلك بأخذ لقاح (قرص 5 ملم) من مستعمرات فتية للفطر ووضعها في مركز أطباق حاوية على PDA للحصول على مستعمرات فتية للفطر وعملت الطريقة لجميع العزلات.

تحضير لقاح الفطر A. flavus:

حضر الوسط الغذائي السائل P.D.B ووزع في دوارق سعة (500) مل وبمعدل (250)مل لكل دورق ، عقمت الدوارق في جهاز الموصدة ولقحت بثلاثة أقراص من مستعمرة الفطر A.flavus قطر الواحد منها 5 ملم المنماة مسبقا على وسط P.D.A وبعمر 7 أيام ، وحضنت الدوارق بحرارة 25 مْ ± 2 ولمدة 4-3 أسابيع بعدها تم إزالة النمو الفطري من كل دورق بوساطة إبرة معقمة ومن ثم رشح الوسط الزرعي عبر أوراق الترشيح Whatman No.1 وحفظ الراشح في دوارق معقمة في الثلاجة لحين استعمال اللقاح في التجارب المختبرية اللاحقة (1).

طريقة هرس عزلات الفطر A. flavus باستعمال الخلاط

تم استخلاص المزارع الفطرية بإتباع طريقة Jones (17) والمعدلة من قبل الجراح (2) والتي تتلخص بالآتي:

تم أخذ كل ثلاث أطباق حاوية على الفطر A.flavus إلى الخلاط وأضيف إليها الماء المقطر بمقدار (30) مل ،بعدها تم تشغيل الخلاط الكهربائي لمدة عشرة دقائق ، بعدها تم ترشيح الخليط الناتج بوساطة قطع الشاش ووضعه في بيكر حجم (500) مل ومن ثم وضع الراشح في جهاز الفصل وأضيف أليه مادة الكلوروفورم بنفس كمية المادة المترشحة ويرج جهاز الفصل عدة مرات مع فتح الفوهة بعد الرج للتخلص من الغازات المتكونة بعد ذلك ترك الجهاز على الحامل فترة (20) دقيقة بعد ذلك تكونت طبقتان– العليا :هي طبقة الفطر – السفلى :هي طبقة المادة الأيضية الثانوية المراد دراستها حيث تستخرج هذه المادة من جهاز الفصل بوساطة المفتاح السفلي ، وتوضع مباشرة في بيكر نظيف حجم (500) مل ، وبعد ذلك يتم ترشيح هذه المادة بوساطة ورق الترشيح (Filter Paper) لغرض التخلص من سبورات الفطر العالقة بالمادة الأيضية الثانوية المستخلصة ثم يوضع بالفرن تحت درجة حرارة 50 درجة مئوية إلى أن جفت العينة وهكذا كررت العملية نفسها مع عزلات الفطر المدروسة جميعها.

تقدير سم افلاتوكسين باستعمال جهاز الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء High performance liquid Chromatography (HPLC)

تم استخدام جهاز (HPLC) العائد لكلية الزراعة/جامعة القاسم الخضراء وتم تحليل عينات التجربة.

حيث جرى التقدير الكمي لسم افلاتوكسين .باستعمال جهاز الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC) لتقدير سم أفلاتوكسينB_1 واستعمل عمود فصل من نوع Reverse phase C18-ODS (4.5 m mid) والطور المتحرك Mobile phase مكون من خليط من 40 مل Acetonitrile و 60 مل ماء مقطر خلطت بالمازج قبل الاستعمال وتم التخلص من الفقاعات الغازية بالخليط ،وكان

زمن التحليل 15 دقيقة والطول الموجي 365nm وسرعة الجريان 1ml/min حيث تم اخذ 20 مايكروليتر من العينة بواسطة حقنة دقيقة وحقنت في الجهاز .

وتم قياس الافلاتوكسين لكل من المعاملات التي استخدمت فيها تقنية الأشعة فوق البنفسجية UV-C ولمدد مختلفة (2 و 4 و 8 و 16 و 24 و 32) دقيقة وكذلك قياس معاملة السيطرة ومقارنة النتيجة مع السم القياسي.

أما تركيز السموم الفطرية لكل من المعاملات فقد تم حسابها من المعادلة التالية

$$\frac{\text{تركيز السم القياسي}}{\text{مساحة منحني السم القياسي}} = \frac{\text{تركيز النموذج}}{\text{مساحة منحني النموذج}}$$

حيث إن تركيز السم القياسي ومساحة منحناه ومساحة منحني النموذج معلومة وتركيز النموذج يبقى مجهولا ومن حاصل ضرب الوسطين بالطرفين تم الحصول على تراكيز النماذج.(7 و 5)

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لحشرة خنفساء الطحين الحمراء T.castaneum:

لقد تم تشخيص العديد من الفطريات المرافقة لحشرة خنفساء الطحين الحمراء T. castaneum منها A.ochraceus و A.niger و A.flavus و A.parasiticus بالإضافة إلى الفطر Alternaria alternata حيث كان الفطر A.flavus الأكثر ترددا بالمقارنة مع بقية الفطريات ولذلك تم اختياره للدراسة .

اختبار تأثير الأشعة فوق البنفسجية UV-C (254 نانومتر) في الفطر A. flavus المرافق لحشرة T.castaneum:

يشير الجدول (1) إلى إن تعريض الفطر A.flavus للأشعة فوق البنفسجية (UV-C) ولأوقات تعريض مختلفة 2 و 4 و 8 و 16 و 24 دقيقة قد أدى إلى تناقص النمو القطري للفطر وبفروق معنوية على مستوى 5% مقارنة بمعاملة السيطرة التي بلغت 8.42 سم بينما كان اقل نمو قطري للفطرA.flavus عند مدة التعريض 32 دقيقة التي بلغت 1.12 سم في اليوم السادس من التعريض حيث تبين انه كلما ازدادت مدة التعريض يقل النمو القطري للفطر A.flavus وكذلك بالنسبة لعامل الوقت والتداخل بينهما حيث تتناسب طرديا مع النمو القطري للفطر. وقد ذكر Annie وآخرون (11) إن زيادة أي مادة مؤثرة سواء كانت فيزياوية كالتشعيع أو كيميائية ولو بكميات قليلة تزيد من احتمالية وصولها إلى المواقع الحساسة في الكائن الحي إضافة إلى صعوبة التخلص منها بعمليات الايض المختلفة مما يؤدي إلى موت الكائن الحي أو تقليل نشاطه وتقليل معدل الأوزان لتلك الفطريات .

أما الأسباب التي تؤدي إلى انخفاض النمو القطري للفطر A.flavus تعود إلى آلية تأثير الأشعة فوق البنفسجية UV-C في قتل الفطريات والتي تؤثر على الحامض النووي DNA إذ تتأثر قاعدة الثايمين وتتحول إلى

مركب غير معروف أي تتغير إلى Thymine-dimmer مما يسبب موت الفطر المعرض للأشعة فوق البنفسجية UV-C (32و30).

إن ال DNA هو احد الأهداف الرئيسية للضرر الذي تحدثه الأشعة، وان هذه الأشعة قادرة على تكوين اثنين من أكثر أفات DNA مسببة للطفرات الجينية وتسمم الخلية هما: الدايمرات الثنائية Cyclobutane-pyrimidine و6-4 منتجات ضوئية photoproducts (28). وأشار الصالحي (4) إلى إن العوامل الفيزياوية كالأشعة والتيار الكهربائي يؤدي إلى تكوين مركبات داخلية سامة للفطر تعرف Thiophosagen كما انه يمنع عملية التنفس عند كثير من الفطريات مما يؤدي إلى تجمع الفسفور غير العضوي ويعرقل نمو الأحماض الامينية والنووية إضافة إلى تأثيره في إنتاج الطاقة.

وهذه النتيجة تتفق مع Danon وآخرون (14)الذي بين بان الأحياء متعددة الخلايا بما فيها الفطريات والحشرات إذا ما تم التدمير الذاتي لعدد كاف من الخلايا فان الكائن الحي كله سيموت . وLevetin وآخرون(18) الذي وجد إن امتصاص الأشعة من قبل جزيئه DNA يسبب موت الكائن الحي المجهري .وAllende وآخرون(10) الذي وجد إن الأشعة فوق البنفسجية تطبق لتقليل الإصابة الفطرية على الفاكهة والخضروات المخزونة وKubota,Hidaka (16) الذي وضح بان للأشعة فوق البنفسجية تأثير تثبيطي على الفطرين Penicilium وAspergillus اللذان لهما تأثير على جودة حبوب الحنطة . تقدير سم الافلاتوكسين باستعمال جهاز الكروماتوغرافي السائل ذو الأداء العالي .(HPLC)

يشير الجدول (2) إلى تأثير الأشعة UV-C ذات الطول الموجي 254 نانومتر في الافلاتوكسينات المفرزة من قبل الفطر A.flavus ولمدد تعرض مختلفة هي 2 و 4 و 8 و 16 و 24 و 32 دقيقة ، إذ تبين عند تعريض الفطر A.flavus في فحص سموم الافلاتوكسين إلى مصدر الأشعة ولمدة 2 و 4 و 8 و 16 و 24 و 32 دقيقة وعلى بعد 12.5 سم من المصدر أدى إلى انخفاض في سموم الافلاتوكسينات AFB1 إذ بلغت (1.5 و 0.83 و 0.71 و 0.61 و 0.25 و U.D.L) جزء بالمليون على التوالي قياسا بمعاملة السيطرة التي بلغت 2.6جزء بالمليون من البروث و2.00 جزء بالمليون من الأطباق، حيث تبين انه كلما ازدادت مدة التعريض قلت نسبة السموم الفطرية،إذ كان أعلى انخفاض عند مدة التعريض 24 دقيقة إذ بلغت 0.25 جزء بالمليون وعند التعريض 32 دقيقة حصل إبادة تامة للافلاتوكسينات ويعود السبب إلى تأثير الأشعة UV-Cفي سموم الافلاتوكسينات من خلال تأثيرها في نهاية حلقة Furan الذي يتأثر الموقع الرابط والفعال لهذه الحلقة فسوف يتفكك (19).

كذلك فان الأشعة تسبب تحوير بناء القواعد النتروجينية Pyrimidine (Thyamine و Cytosine) مسببة تكوين مركب Thyamine dimmer والذي يسبب تشوه في بناء الحامض النووي DNA مانعا بذلك أي عمليات بناء جديدة له (31) .

حيث تحدث تغييرات أو تلف في أجزاء من DNA الخلايا الفطرية وخاصة تلك التي تمتلك آليات ضعيفة لإصلاح نفسها (23) أو حدوث تغييرات في استنساخ DNA الخلايا عند التعرض لهذه الأشعة وان بعض مستويات هذا

التغيير يحدث خلال تعرض الفطر للأشعة فوق البنفسجية لمدة ساعة (21).

ويعد DNA من أكثر أجزاء الخلية تضررا بسبب وقوع طيف امتصاصها في منطقة الأشعة فوق البنفسجية وكما تسبب تلف الأحماض النووية والبروتين (13).

أو قد يعود هذا إلى حدوث طفرة نتيجة للتعرض للأشعة وتعد الأشعة فوق البنفسجية من المطفرات الفيزيائية بسبب الامتصاص القوي عند الأطوال الموجية المختلفة وتسبب مايسمى dimerization photo chemical للأحماض الامينية المتجاورة وهذا بدوره يؤدي إلى الأضرار بسلسلة الحامض النووي DNA وهذا النوع من الطفرات يسمى طفرات مستحثة (33).

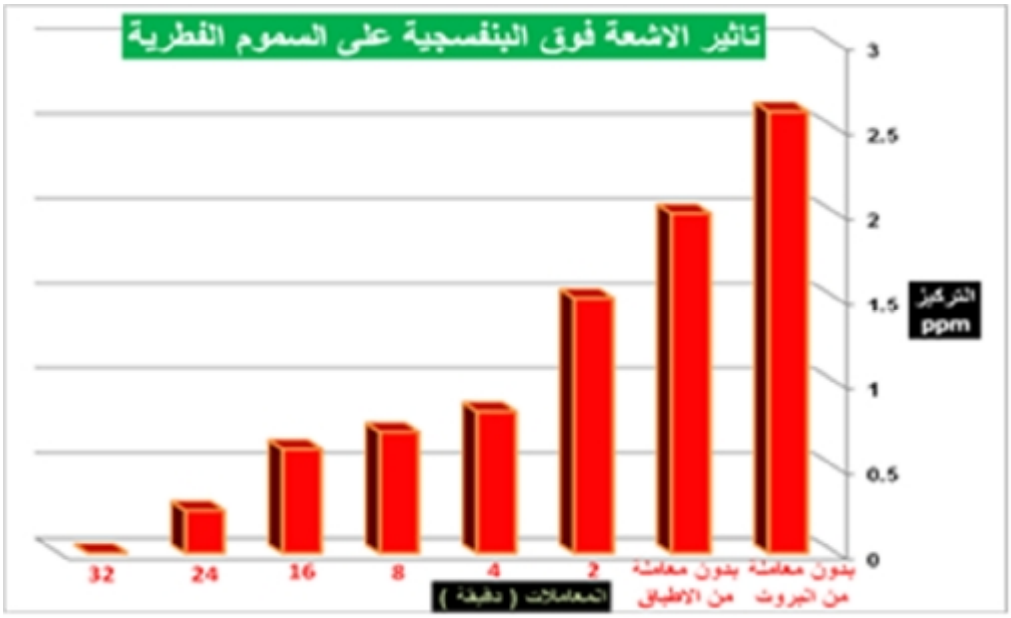
جدول 1- تأثير اختلاف مدة التعرض لفطر A.flavus للأشعة فوق البنفسجية UV-C

مدة التعريض	النمو القطري للفطر (سم) بعد مرور (ساعة)					
(دقيقه)	24	48	72	96	120	144
2	1.13	2.30	2.75	3.22	4.57	5.07
4	1.13	2.27	2.88	3.27	4.45	4.85
8	1.17	2.28	2.88	3.32	4.50	4.70
16	1.11	2.26	2.87	3.25	4.40	4.67
24	0.58	1.67	2.13	2.60	3.67	4.67
32	0.05	0.22	0.35	0.52	0.85	1.12
السيطرة	1.36	2.55	3.22	3.66	4.92	8.42
L.S.D(0.05)	للتداخل بين مدة التعريض وعدد الأيام = 0.36					

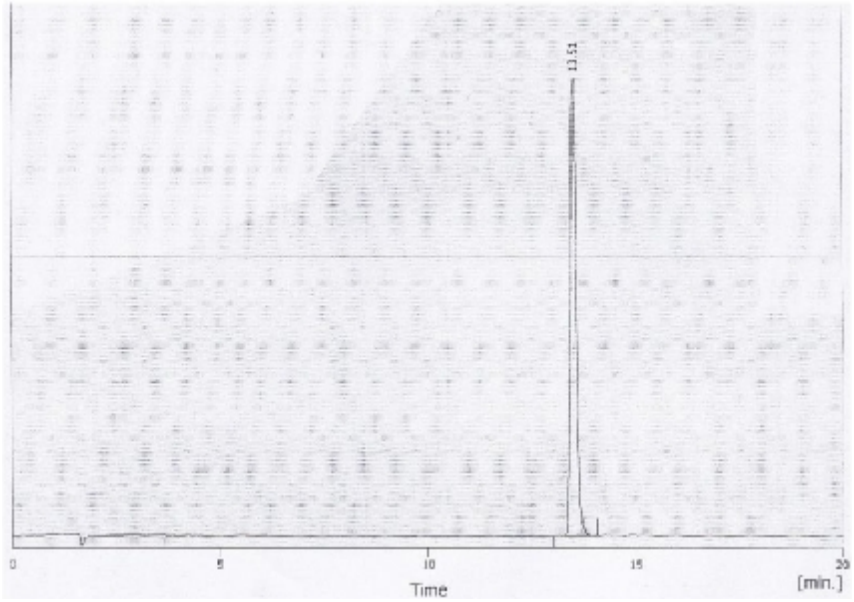
جدول 2 – تأثير اختلاف المعاملات للأشعة فوق البنفسجية UV-C في السموم الفطرية:

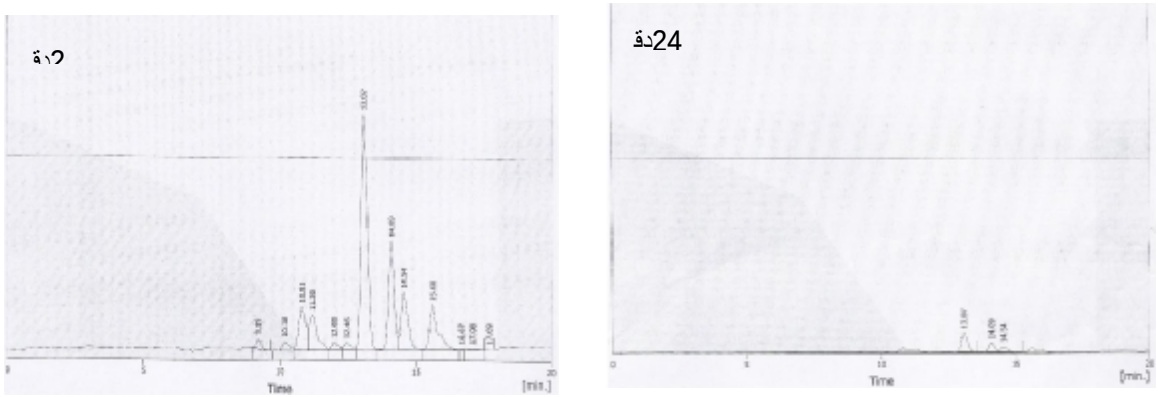
تركيز السموم الفطرية(ppm)	المعاملات (الدقيقة)
2.6	بدون معامله(من البروث)
2.0	بدون معاملة(من الأطباق)
1.5	2
0.83	4
0.71	8
0.61	16
0.25	24
* U.D.L	32

*U.D.L (Under Detection limit) : تحت مستوى خط التعرف.



شكل (1) تأثير تعريض الفطر A.flavus لأشعة UV-C ولأوقات مختلفة على إنتاج سم الافلاتوكسين





شكل (2) تأثير الأشعة فوق البنفسجية UV-C على مستوى الافلاتوكسين باستخدام جهاز HPLC

المصادر:

1- الجنـابي ،بيـداء عبـود حسـن .2009. دراسـة التـأثيرات السمية للفطر A.flavus فـي بعض المعـايير الفسـيولوجية والكيموحيويـة لـدى إنـاث الجـرذ الأبـيض وإمكانيـة السيطرة الحيويـة علـى الأضـرار الناجمـة عنهـا. رسـالة ماجسـتير- كليـة العلوم- جامعة الكوفة- العراق.

2- الجـراح، نيـران سـالم. 1988. دراسـة تعفـن ثمار الكمثري والرمان والسموم المفرزة من قبل مسـببات الـتعفن بفتـرة مـا بعـد الجنـي. رسـالة ماجستير- كلية الزراعة – جامعة بغداد – العراق .

3- السبعاوي، رياض محمد حمود .2008. تقييم جـودة طحـين بعـض أصـناف الحنطـة المخلوطـة بنسـب مـن الحنطـة المصـابة بالسـونة وسـبل تحسـينها ، رسـالة ماجسـتير- كليـة الزراعـة والغابات - جامعة الموصل- العراق.

4- الصـالحي،علي عبـد الأميـر مهـدي. 2002. حساسية البطاطا (Solanum tuberosum L.) المكثرة خارج الجسم الحي لأشعة گاما. أطروحـة دكتوراه- كلية الزراعة-جامعة بغداد- العراق .

5- حسـين وسـلومي .2012. الكشـف عـن سـم الزيرالينون في الذرة الصـفراء وإمكانيـة اختزالـه ،مجلـة العلـوم الزراعيـة العراقيـة،43(2):18-26.

6-Al-jaber, A. 2006. Toxicity and repellency of seven plant essential oils to Oryzaephilus surinamensis (Coleopteran: Siluanidae) and Tribolium castaneum (Coleopteran: Tenebriodae). Scientific Journal of King Faisat University Basic and Applied Science. 7(1): 49-59.

7-Al-Juboori, I.A.K. 2012. Lipid production from some local algae at different cultivation conditions, MSc. Thesis College of Science, Baghdad University.

8- Allotey, J. and G.T Odomtten. 1996. Hidden infestation in maize from Kaneshie and team warehouses (Ghana) after 4 months storage under laboratory conditions in relation to resident mycoflora in: Odamtten, G. T., Clerk, G. (Eds) Mitigation of stack burn in woven polypropylene Bag-stack maize Grains for improved food security in sub-Saharan Africa University of Ghana ISBN 999-7756-0-1:pp.80-85.

9- Allende A.M.C.; Evoy, J.; Luo, L.Y.; Artes F. and Waing, C.Y. 2006. Effectiveness of two-side UV-C treatments in inhibiting natural micro flora and extending the shelf - life of minimally processed, ,"Red Oak Leaf" lettuce .Food Microbiology, 23:241-249 .

10- Allende A.M.C.; Evoy, J.; Luo, L.Y., Artes, F. and Waing, C.Y. 2006. Effectiveness of two- side UV-C treatments in inhibiting natural micro flora and

15- Guerrero, B.J.A. and C.G.J. Barbosa. 2004. Review: Advantages and limitations of processing foods by UV Light. Food Science and Technology International, 10: 137-147.

16- Hidaka, Y. and K, Kubota. 2006. Study on the sterilization of grain surface using UV radiation Development and evaluation of UV Irradiation Equipment. Japan Agricultural Research Quarterly, 40:157-161.

17- Jones, B.D. 1972. Methods of Aflatoxin Analysis. G. 70. Tropical Products Institute.

18- Levetin, E.; Shaughness, R., Rogers, C.A. and Scheir , R.2001.Effectivevess of germicidal UV radiation for reducing fungal contamination within air - handling units, Applied Eniviron. Microbiol., 67: 3712-3715 .

19 - Lillard, D.A. and R.S. Lantin. 1970. Some chemical characteristics and biological effect of photo modified aflatoxins. Journal of the Association of Analytical Chemists, 53:1060-3.

20 - Meerdink, G.L. 2004. Aflatoxins. In: Plumlee, K. H. (Ed.). Clinical veterinary toxicology. Little

extending the shelf -life of minimally processed, ,"Red Oak Leaf" lettuce .Food Microbiology ,23:241-249 .

11- Annie, L.; C. Goyer; L. Ruest; R. Brezinski; D. L. Crawford and Beaulieu C. 2002. Effect of amino acids on thaxtomin A biosynthesis by Streptomycin scabies. Can. J. Microbiol, 48: 359-364.

12- Begum, M., A.D. Hocking and Liskelly, D. 2009. Inactivation of food spoilage fungi by ultraviolet UV-C irradiation. International Journal of food Microbiology. 129: 74-77.

13- Caasi-Lit, M.; Whitecross, M.I.; Nayudu, M. and Tanner, G.J. 1997. UV-B irradiation induced differential leaf damage, ultra structural changes and accumulation of specific phenolic compounds in rice cultivars. Aust. J. Physiol., 24: 261-274

14- Danon, A.; Rotari, V.I.; Gordon, A.; Mailhac, N. and Gallois, P. 2004. Ultraviolet–C overexposure induces programmed cell death in Arabidopsis, which is mediated by caspase- like activities and which can be suppressed caspase inhibitors, p35 and Defender against Apoptotic Death. J. Biol. Chem., 279-787.

26- Rivera D. M.; Gardea B.A.A.; Martínez T. M. A.; Domínguez R.M., y and González, A.G.G., 2007, Review: Postharvest biochemical effects of UV-C irradiation on Fruit and vegetables (in Spanish). Rev. Fit., A.C. 4: 361-372.

27- Satio, M. and S. Machida .1999 .A rapid identification method for aflatoxin producing strains of Aspergillus flavus and Aspergillus parasitica by ammonia vapor's ycoscience,40:250-208

28- Sinha RP and D. P. Hader .2002. UV-induced DNA damage and repair: a review. Photochem Photobiol Sci, 1:225-236.

30-Shibasaki, I. 1998. Shin shokuhin sacking kougaku (New food sterilization engineering). Korin Syoin, Tokyo Japan, 348–349.

31- Sambrook, J. and Russell D.W. 2001. Molecular cloning: laboratory manual, 3rd ed edition cold spring Harbor. Laboratory Press, Cold Spring Harbo.

32- Takano, M. and M. Yokoyama. 1998. Shokuhin no sakkin (Inactivation of food-borne microorganisms). Saiwai Syobou, Tokyo Japan, 52-55.

Rock, Arkansas, USA. pp: 231-235. Mickrochim, 1(2): 89-96.

21- Mateja, G. 2005. Combined impact of solar UV-B radiation and selenium treatment on respiratory potential of pumpkins Cucurbita pepo L. Acta Agriculturae Slovenica. 85 (2):342-337.

22- Miller, J.D. 1995. Fungi and mycotoxins in grain: Implications for stored product research. Journal of Stored Products Research, 31:1-16.

23- Nayna, G. and V. Sumitra. 1999. Effects of mercury and chromium on peroxidase and IAA oxidase enzymes in the seedlings of Phaseolus vulgaris. Turk. J. Biol. 15: 21-29.

24- Oswald, I.P.; Martin, D.E.; Bouhet, S.; Pinton, P.; Taranu, I. and Accensi F. 2005. Immunotoxiological risk of mycotoxins for domestic animals. Food Addict Contam. 22:354-460.

25 - Rily, R. T. 1998. Mechanistic interactions of mycotoxins: Theoretical

Consideration. In: Sinh, K. K. and Bhatnagar D. Mycotoxins in Agriculture and Food Safety Marcel Dekker. Inc. New York. USA. Pp: 227-253.

33 -Vreugdenhil, D. 2004. A. Is tuber sprouting the reverse of tuber initiation? The Potato Association of America, 81(1):94-93.

34 – Yasuki, A. and B. Kubota .2006. Microorganism control using ultraviolet irradiation. In Summary of 57th JSA Manual meeting, The Japanese Society of Agricultural Machinery, 227-235.