

التحري عن بعض الفطور المنتجة للأفلاتوكسين في طحين وحبوب القمح المصابة بخنفساء الخبيرة (Trogoderma granarium) ومكافحتها ببعض الطرائق الفيزيائية

أزهار علي الحداد^{*}، إيمان موسى عمران و محمد صبري الامارة

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق.

^{*}البريد الإلكتروني للباحث المراسل: azhar.hassan@uobasrah.edu.iq

الملخص

الحاد، أزهار علي، إيمان موسى عمران و محمد صibri. 2025. التحري عن بعض الفطور المنتجة للأفلاتوكسين في طحين وحبوب القمح المصابة بخنفساء الخبيرة (Trogoderma granarium) ومكافحتها ببعض الطرائق الفيزيائية. مجلة وقاية النبات العربية، 43(3):326-335.

<https://doi.org/10.22268/AJPP-001339>

استهدف البحث عزل وتشخيص وختبار بعض الفطور المصابة لحبوب وطحين القمح/الحنطة المصابة بخنفساء الخبيرة (Trogoderma granarium). تم عزل 26 عزلة من فطر Aspergillus flavus و 10 عزلات من فطر Aspergillus ustus من الطحين بطريقة العزل المباشر. وبعد الاختبار بطريقة بخار الأمونيا، تم اختيار خمس عزلات فقط من فطر A. flavus كمنتجات قوية للأفلاتوكسين B1. أظهر اختبار التردد للفطور المعزولة من بيرقات وبالغات T. granarium أن أعلى تردد للفطر Cordyceps pseudoloddii كان 25 و 23% في هذين الطورين، على التوالي، في حين بلغت أقل نسبة ظهور لـ C. pseudoloddii 9.37%، في هذين الطورين، على التوالي. أظهرت النتائج المتحصل عليها أن راشح الفطر C. pseudoloddii تسبب في هلاك الحشرات والتي بلغت 56.89%، في حين تسببت بنسبة 49.11% و 49.45% على التوالي. ووجد أيضاً أن 1.0 مل من الراشح الفطري تسبب في أعلى نسبة هلاك للحشرات والتي بلغت 0.5 مل من الراشح الفطري في هلاك 16.67%. علاوةً على ذلك، تم في الدراسة الحالية استخدام طرائق فيزيائية أخرى للسيطرة على T. granarium بما في ذلك غاز الأوزون وأشعة الميكروويف. أوضحت النتائج أن معدل الهلاك كان 100% للبيرقات و 96.67% للبالغات T. granarium بعد تعرضها لغاز الأوزون لمدة 10 ساعات. كما تسببت التعرض لأشعة الميكروويف لمدة 30 ثانية بأعلى معدل هلاك للحشرات بجود الغذاء بنسبة 100% مقارنة بـ 72.72% عند الحشرات التي حرمت من الغذاء، وبأعلى معدل هلاك للحشرات البالغ 89.44% مقارنة بالبيرقات 83.23%. كما أظهرت النتائج أن نسبة الهلاكات زادت نمطاً مع زيادة فترة التعرض لأشعة الميكروويف حيث سجلت 93.25% و 78.33% في البالغات ويرقات الحشرات بعد ثلاثة أيام من المعاملة، على التوالي.

كلمات مفتاحية: قمح، طحين، حشرة الخبيرة، الفطور المنتجة للأفلاتوكسين، الطرق الفيزيائية، أشعة الميكروويف.

المقدمة

الفطريّة (الجوهري، 2012). لقد أشار Kumar *et al.* (2012) أن Fusarium، Chaetomium، Aspergillus، Cladosporium، Trogoderma، Alternaria، و *Aspergillus* من أهم الأجناس الفطريّة ذات القدرة على النمو على الحبوب وإفراز السموم الفطريّة.

تعد حشرة الحبوب الشعريّة (الخبيرة) T. granarium من أهم الآفات الحشرية التي تصيب الحنطة بنسبة عالية (Intania & Warng, 2007)، تعددت وسائل مكافحة الآفات الحشرية وبصورة رئيسية باستخدام المبيدات الكيميائية إلا أنه في الآونة الأخيرة بدأ العمل على استبعاد المبيدات الكيميائية لأنها تؤثر سلباً على صحة الإنسان والنظم البيئية من خلال تأثيرها على الكائنات غير المستهدفة والتنوع الأحيائي (Aktar, 2009)، فضلاً عن تراكم المركبات النشطة

يحتل محصول القمح/الحنطة المرتبة الأولى عالمياً من حيث المساحة المزروعة ويعتمد عليه غذاء أكثر من 40% من سكان العالم، كما يعد المحصول الأكثر إنتاجاً (الفين، 2013). ولقد أشارت البحوث ما نسبته 25-40% من الحبوب تتلوث سنوياً بالسموم الفطريّة بمستويات متفاوتة (El Khoury & Atoui, 2010) ويمكن أن يحدث هذا التلوث في الحقل أو أثناء التخزين ولاسيما في البلدان ذات الظروف المناخية الرطبة والحرارة (Nguyen *et al.*, 2007). كما تسبّب الفطور خسائر اقتصادية كبيرة على حيويّة البذور وتقلّل من نسبة إنباتها مما يؤثّر على الإنتاج الزراعي عند استخدام الفطر Penicillium و Aspergillus على إنتاج السموم

تحضير وسط خلاصة جوز الهند الصلب

تم تحضير الوسط بأخذ 100 غ من مبروش جوز الهند مع إضافة 300 مل من الماء المقطر، وترك على النار لمدة 15 دقيقة. رشح محلول من خلال قطعة قماش مملأ ثم أكمل الرشح إلى 600 مل ماء مقطر. أضيف 9 مل من الأجار للوسط الزرعي والمضاد الحيوي البكتيري Chloramphenicol بمقدار 250 مغ/لتر ثم عقم الوسط بجهاز الأوتوكلاف الكهربائي.

حساب النسبة المئوية لتردد الفطور

حسبت النسب المئوية لتردد كل نوع من الفطور وفقاً لما نشر سابقاً (Gonzalez *et al.*, 1995) على الشكل التالي:

$$\% \text{ لتردد الفطور} = \frac{\text{عدد مستعمرات النوع أو الجنس}}{\text{العدد الكلي للمستعمرات}} \times 100$$

اختبار قابلية بعض عزلات الفطور على إنتاج الأفلاتوكسين B1 باستخدام طريقة بخار الأمونيا

اختبرت قابلية بعض عزلات الفطور المنمرة على وسط خلاصة جوز الهند وذلك بوضع ورقة ترشيح في غطاء طبق بتري وتم اشبعها بمحلول الأمونيا بتركيز 20%， ثم وضعت الأطباق بصورة مقلوبة في الحاضنة عند درجة حرارة $27 \pm 1^\circ\text{C}$ وفحست بعد مرور ساعة و 24 ساعة من مدة الحضن مع ملاحظة تغير لون مقلوب الطبق من الأبيض إلى الوردي مما يدل على إنتاج العزلات للأفلاتوكسين B1 (Saito & Machida, 1999).

تحضير الرشح السمي للفطر *C. pseudolloydii*

نمي الفطر المعزول من يرقات وبالغات خفف새 الخاير على وسط البطاطا/البطاطس والسكرزون السائل (Potato sugar broth) المعقم بالأوتوكلاف عند درجة حرارة 121°C لمدة ربع ساعة وترك الوسط ليبرد ثم أضيف إليه المضاد الحيوي Chloramphenicol بمقدار 10 مغ/لتر. وزع الوسط الغذائي في دورقين زجاجيين سعة 500 مل ثم أخذ 125 مل من كل دورق ولقح بقرص قطره 6 مم مأخوذ من حافة مستعمرة الفطر *C. pseudolloydii* بعمر أسبوع. حضنت الدوارق الزجاجية عند حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ لمدة 30 يوم. رشح النمو الفطري بتميره من خلال أوراق ترشيح معقمة للتخلص من الغزل الفطري بمساعدة جهاز التفريغ الهوائي. أخذ الرشح الفطري وعقم باستخدام المرشحات الغشائية Membrane filter 0.22mm لمنع مرور الجراثيم من خلاله ثم حفظ بالثلجة لاستخدامه لاحقاً.

ومركبات الأيض الثانوية لتلك المبيدات في البيئة والكائنات الحية مما يؤدي إلى دخولها في السلسلة الغذائية ويشكل تهديداً خطيراً لحياة الإنسان والحيوان (Gill & Garg, 2014)

اهتم الباحثون بإيجاد بدائل عن استخدام المبيدات الحشرية لمكافحة الآفات المواد المخزنة مما أسفر عن ظهور خلل في التوازن الطبيعي وتدور مكونات البيئة، وقد استخدمت تقنية غاز الأوزون في مكافحة حشرات وأفات الحبوب المخزنة (Tiwari *et al.*, 2010). كما بين سابط وصبر (2015) أن استعمال غاز الأوزون ودرجات الحرارة العالية قد ثبط نمو طوري البيض والعداري لخفف새 الحبوب الشعرية مختبرياً.

هدف البحث إلى الكشف عن الفطور المنتجة للسموم الفطرية (الأفلاتوكسين) من الحبوب والطحين المصاب بحشرة الخاير واستخدم بعض الطرائق الفيزيائية لمكافحة الحشرة.

مواد البحث وطرائقه

عزل وتنقية الفطور من حبوب القمح والطحين المصاب بخفف새 الخاير

عزلت الفطور من حبوب قمح مخزونه مصابة بخفف새 الخاير حيث أخذت خمسة حبوب عشوائياً وعمقت سطحياً بمادة هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 10% لمدة 3 دقائق ثم غسلت بماء مقطر معقم وتركت على ورق ترشيح لتجفّ، ثم زرعت في طبق بتري حجم 9 مل يحتوي على وسط PDA الجاهز المصنع من شركة Himedia Laboratories بواقع 3 مكررات مع ترك 3 مكررات أخرى من دون تعقيم سطحي. أجريت طريقة العزل للطحين المصاب بخفف새 الخاير بعمل 5 تخفيفات للطحين وأخذ 1 مل من كل تخفيف وزررته على الوسط الغذائي بـ 3 مكررات أيضاً. حضنت الأطباق عند درجة حرارة $25 \pm 1^\circ\text{C}$ لمدة 5-7 أيام. شخصت الفطور مظاهرياً اعتماداً على الصفات الشكلية وشكل الأبouغ وحومالها والتراكيب والتركيب الجنسي واللاجنسي التي تكونها.

عزل وتنقية الفطور من يرقات وبالغات خفف새 الخاير

عزلت الفطور من يرقات حشرة خفف새 الخاير بأخذ خمسة يرقات وتعقيمها سطحياً كما ذكر في الفقرة أعلاه وبـ 3 مكررات وأخرى تركت بدون تعقيم سطحي وأجريت نفس الطريقة للحشرات البالغة. حضنت الأطباق عند درجة حرارة $25 \pm 1^\circ\text{C}$ لمدة 5-7 أيام. شخصت الفطور مظاهرياً اعتماداً على الصفات المظاهيرية وشكل الأبouغ وحومالها والتراكيب الجنسي واللاجنسي التي أنتجها.

تعریض الیرقات والبالغات لأشعة المیکرویف

تم أخذ 10 غ من القمح المعقم ووضعت في أوعية بلاستيكية ثم أدخلت عليها 10 يرقات والبالغات، كلاً على حدة، بثلاث مكررات وربطت فوهة العلب البلاستيكية برباط من المطاط، ثم وضعت في جهاز المیکرویف لمدة 30 ثانية وبعدها أخرجت العلب البلاستيكية وتركت تحت ظروف المختبر الطبيعية. أما معاملة التعریض بدون قمح، فقد اتبعت نفس الطريقة أعلاه ولكن بدون إضافة حبوب القمح. أما معاملة الشاهد، اتبعت فيها نفس الطريقة أعلاه ماعدا عدم ادخال العلب البلاستيكية إلى جهاز المیکرویف. أخذت القراءات بعد 24، 48 و 72 ساعة من المعاملة، وحولت النتائج إلى النسب المئوية وحسبت النسبة المئوية للموت المصحة حسب معادلة أبوت (شعبان والملاح، 1993) كما في المعادلة أعلاها.

التحلیل الاحصائی

استعمل التصميم العشوائي الكامل (CRD) واختبار أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 1% باستخدام برنامج IBM SPSS.

النتائج والمناقشۃ

الفطور المرافق لحبوب القمح المصابة بخنساء الخابرة

بيّنت نتائج الدراسة وجود الأنواع التالية: *A. niger*, *A. flavus*, *Cladosporium oxysporum*, *F. oxysporum*, *Penicillium sp.* في حبوب القمح المخزونة المصابة بخنساء الخابرة قبل وبعد التعقيم السطحي. شخصت الفطور من قبل يحيى عاشور صالح، قسم وقاية النبات، جامعة البصرة حيث تم تأكيد وجود الفطر *A. flavus* بأعلى نسبة تردد بلغت 14.28 و 11.45% قبل وبعد التعقيم السطحي، تلاه الفطر *A. niger* بتردد بلغ 11.12 و 9.37%، على التوالي، في حين سجلت الأنواع *F. oxysporum* و *Penicillium sp.*, *C. oxysporum* أقل نسب تردد في القمح بلغت 8.33، 7.61 و 4.16% على التوالي (جدول 1). تشابهت نتائج هذه الدراسة مع ما أكّته Asela et al. (2020) عند عزل الفطور من القمح المخزون إذ وجدت أنواع الفطر *Aspergillus spp.* التي وجدت بأعلى نسبة تردد وبخاصة *A. flavus* و الأنواع الأخرى مثل (2009) Reza et al. *P. chrysogenum* و *F. oxysporum* أن أكثر أنواع الفطور سيادةً في حبوب القمح كانت *Aspergillus spp.* و *Penicillium spp.* حيث وجد أن نسبة تردد الفطر *A. flavus* بلغت 26%， ويعود ذلك إلى الظروف المثلى لنمو الفطور (جدول 1).

إختبار تأثير راش راش الفطر *C. pseudolloydii* في يرقات والبالغات الخابرة حيث وضعت 10 حشرات في قناني زجاجية سعة 25 مل وبمعدل 3 مكررات ورشت بالراش الفطري 0.5 مل و 1 مل لكل مكرر بواسطة مرشة صغيرة معقمة. أجريت التجربة تحت ظروف درجة حرارة المختبر 25±5°س ثم سجلت النسب المئوية للموت بعد 24، 72 و 168 ساعة وصحّحت القيم حسب معادلة أبوت (شعبان والملاح، 1993) على الشكل التالي:

$$\frac{100 \times \frac{\% \text{ للموت في المعاملة}}{\% \text{ للموت في الشاهد}}}{\frac{\% \text{ للموت في الشاهد}}{\% \text{ للموت في الشاهد}}} = \frac{\% \text{ للموت في الشاهد}}{\% \text{ للموت في الشاهد}}$$

طريقة تعریض الحشرات لغاز الأوزون

استخدم صندوق من البلاستيك الشفاف بأبعاد 25 × 29 × 45 سم يحتوي على فتحتين لدخول غاز الأوزون وخروج الفائض منه مع إمكانية التحكم بفتح وغلق الفتحتين. وضعت البالغات واليرقات كلًّ على حدة داخل أقفاص بلاستيكية تحتوي على شبكة سلكية ذات فتحات صغيرة تسمح بدخول الغاز وخروجه بسهولة وتم ضخ 2000 مغ/ساعة غاز في كل قفص، دون خروج الحشرات منه. تم تثبيت الحرارة عند 30±2°س ورطوبة نسبية 45±3%. استخدمت 3 أقفاص (3 مكررات) لكل تجربة ووضعت 10 أفراد من الحشرة في كل قفص. أجري الاختبار بواقع بالغات بدون غذاء وأخرى بوجود الغذاء، ويرقات بدون غذاء وأخرى بوجود الغذاء، حيث وضع داخل القفص 5 غ حبوب قمح في حالة التغذية فقط. أخذت القراءات بتكرار التجربة لكل 2، 4، 6، 8 و 10 ساعة وتم حساب نسبة الموت بعد مرور 24 ساعة من انتهاء كل اختبار للتأكد من عدد الأفراد الميتة، ولحساب النسبة المئوية للموت استخدمت معادلة أبوت (شعبان والملاح، 1993) المذكورة أعلاه.

جهاز توليد غاز الأوزون

استخدم جهاز توليد غاز الأوزون من إنتاج شركة HIHAP الصينية موديل HE-150W بقدرة ضخ الغاز 2000 مغ/ساعة، يعمل بطريقة الشحن والتغريغ الكهربائي (Corona discharge) من خلال ضخ الهواء إلى داخل الجهاز (Input) بطريقة الضغط المستمر (Free exposure) فيمر عبر معالج تقيية مصنوع من الألمنيوم ومنه يتكون تيار هوائي في عازل زجاجي بين قطبين كهربائيين متوازيين، ونتيجة للفولاذية العالية للجهاز تكسر جزيئه الأوكسجين، ويعاد تشكيل الذرات لتكوين جزيء ثلاثي (O_3) فيضخ تيار من الغاز المتولد عبر أنبوبية إخراج (Output) إلى صندوق تعریض الحشرات بواسطة أنبوب مطاطي. حدد وقت التعريض كحد أقصى 180 دقيقة لكل دفعة، ويعاد تكراره حسب متطلبات التجربة من خلال مؤقت الكتروني (الامارة، 2021).

جدول 1. النسب المئوية لتردد الفطور المعزولة من بذور القمح المصابة بخنفساء الخبيرة.

Table 1. Frequency (%) of fungi isolated from wheat infested with the khapra beetle.

المعدل العام لتردد الفطور Overall average frequency of fungi	% لتردد الفطور المعزولة بعد التعقيم السطحي Frequency of fungi isolated after surface sterilization	% لتردد الفطور المعزولة قبل التعقيم السطحي Frequency of isolated fungi before surface sterilization	الفطور Fungi
12.87	11.45	14.28	<i>Aspergillus flavus</i>
10.25	9.37	11.12	<i>Aspergillus niger</i>
3.81	0.00	7.61	<i>Penicillium</i> sp.
2.08	4.16	0.00	<i>Fusarium oxysporum</i>
4.17	8.33	0.00	<i>Cladosporium oxysporum</i>

الفطور المعزولة من يرقات وبالغات خنفساء الخبيرة

بيتلت النتائج وجود الفطرين *Cordyceps pseudolloydii* و *Cladosporium oxysporum* في كل من يرقات وبالغات خنفساء الخبيرة، حيث ظهرها بنساب تردد بلغت 25.00 و 23.95 للفطر الأول و 8.33 و 9.37 للفطر الثاني، على التوالي. كما أشارت النتائج أن عملية التعقيم لا تخفض من نسبة ظهور هذه الفطور لأنها فطور داخلية (endophytes) وليس خارجية وأن الهدف من التعقيم السطحي بهيبوكلوريت الصوديوم هو إزالة الميكروبات السطحية.

اختبار قابلية بعض عزلات الفطور على إنتاج الأفلاتوكسين B1 باستخدام طريقة بخار الأمونيا

تم الحصول على 26 عزلة للفطر *A. flavus* من الطحين بطريقه العزل المباشر والتخفييف و 10 عزلات من *A. ustus* أيضاً من كلا الطريقتين و 3 عزلات *A. parasiticus* عند العزل من الطحين المصايب بشكل مباشر (شكل 1).

أما نتائج الشكل 2، فقد أظهرت أن هناك 5 عزلات للفطر *A. flavus* قوية لإنتاج الأفلاتوكسين B1 عند اختبارها بطريقه بخار الأمونيا و 8 عزلات أخرى كانت ضعيفة و 7 لم تكن منتجه للأفلاتوكسين B1 وقد ظهر ذلك عند ملاحظة تغير لون مقلوب الطبق من الأبيض إلى الوردي في العزلات القوية، أما العزلات الضعيفة أبدت تغيراً ضعيفاً في اللون في حين لم يظهر أي تغير في لون مقلوب الطبق في العزلات غير المنتجة وهذا ينطبق أيضاً على الفطر *A. Ustus* و *A. parasiticus* ، وقد أبدت عزلات الفطر *A. flavus* التي تم عزلها من القمح المصايب قابليتها في إنتاج السم فكانت عزلاتان قويتان وواحدة غير منتجة للأفلاتوكسين B1 عند العزل بشكل مباشر أما العزل بطريقه التعقيم السطحي لحبوب الحنطة فكانت عزلة واحدة قوية واشتان ضعيفتي الإنتاج للسم (شكل 3).

الفطور المرافق للطحين المخزون المصايب بخنفساء الخبيرة

أظهرت نتائج فحص عينتين من الطحين المخزون المصايب ببشرة الخبيرة بوزن 250 غ لكل منها تواجد أنواع الفطور التالية: *A. flavus*, *Penicillium* sp., *A. astus*, *A. terrus*, *A. niger*, *A. parasiticus* في كلا العينتين بنساب تردد بلغت 6.83، 5.46، 5.46، 3.55، 4.09، 2.45 و 1.90، على التوالي، عند عزلها بشكل مباشر من الطحين (جدول 2).

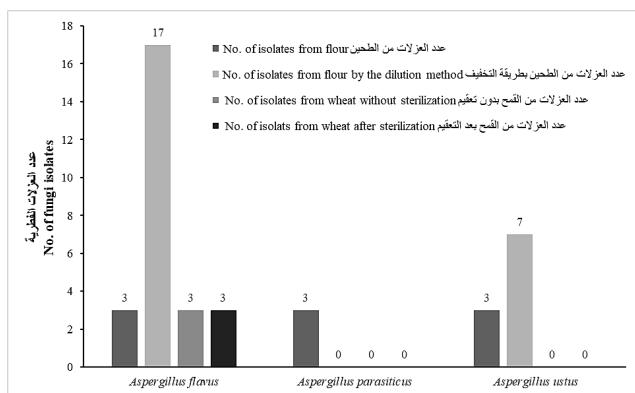
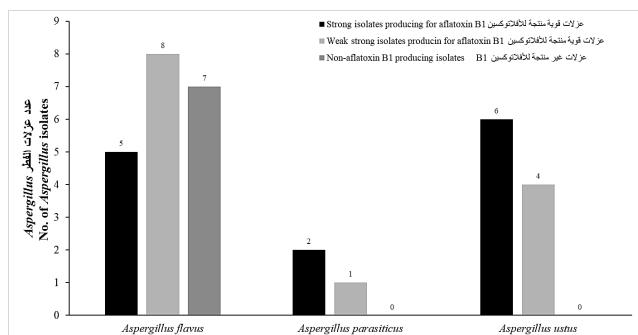
في حين ظهرت هذه الأجناس نفسها عند العزل من الطحين المصايب بخنفساء الخبيرة بطريقه التخفييفات وبنسب تردد مختلفة، إذ تفوق الفطر *A. flavus* على باقي الفطور الأخرى عند العزل في التخفييفات الأربع بنساب تردد بلغت 17.28، 12.12، 19.04 و 22.22، على التوالي، ثم تلاه الفطر *Penicillium* sp. بنساب تردد 7.00، 15.15، 14.28 و 11.11، على التوالي، في حين أظهرت الأنواع الأخرى تذبذباً في وجودها، كالفطر *A. niger* الذي ظهر في التخفييف 10⁻¹ و 10⁻² بنساب تردد 6.17 و 6.06، على التوالي. أما الفطر *F. oxysporum* فقد ظهر في التخفييف 10⁻¹ فقط بنسبة تردد بلغت 2.46 في عينة الطحين الأولى (جدول 3)، وتشابه هذه النتائج مع ما أشار إليه Minutillo *et al.* (2022).

جدول 2. النسب المئوية لتردد الفطور المعزولة من الطحين.
Table 2. Frequency (%) of fungi isolated from flour.

رقم العينة Sample No.	الفطور Fungi	تردد الفطور (%) Frequency of fungi (%)
1	<i>Cladosporium</i> sp.	1.90
	<i>Penicillium</i> sp.	3.55
	<i>Aspergillus terrus</i>	4.09
	<i>A. flavus</i>	6.83
2	<i>A. parasiticus</i>	5.46
	<i>A. niger</i>	5.46
	<i>A. ustus</i>	3.55
	<i>Eurotium amstelodami</i>	2.45

Table 3. Frequency (%) of fungi isolated from flour by the dilution method.

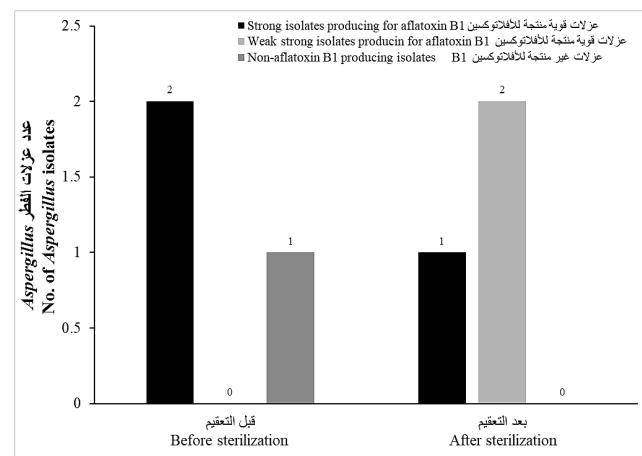
معدل تأثير الفطور Fungi effect rate	النسبة المئوية لتردد الفطور Fungal frequency rate (%)					رقم العينة Sample No.
	الخفيف 4 Dilution 4	الخفيف 3 Dilution 3	الخفيف 2 Dilution 2	الخفيف 1 Dilution 1	الفطور Fungi	
3.60	0.00	0.00	6.06	6.17	<i>Aspergillus niger</i>	1
17.67	22.22	19.04	12.12	17.28	<i>A. flavus</i>	
11.99	11.11	14.28	15.15	7.40	<i>Penicillium</i> sp.	
0.62	0.00	0.00	0.00	2.46	<i>Fusarium</i> sp.	
4.23	0.00	0.00	8.33	8.57	<i>A. niger</i>	2
18.08	22.22	20.83	15.00	14.28	<i>A. flavus</i>	
9.47	11.11	12.50	6.66	7.61	<i>A. ustus</i>	
1.55	0.00	0.00	3.33	2.85	<i>Penicillium</i> sp.	
	8.33	8.33	8.33	8.33	Dilution effect rate	

شكل 1. عزلات أنواع الفطر *Aspergillus* التي عزلت من الطحين وحبوب القمح.Figure 1. Isolates of *Aspergillus* spp. isolated from wheat flour and grains.شكل 2. قابلية عزلات أنواع الفطر *Aspergillus* المعزولة من الطحين مباشرةً ومع التخفيفات على إنتاج الأفلاتونوكسین B₁ بطريقة بخار الأمونيا.Figure 2. Ability of isolates of *Aspergillus* spp. isolated from flour directly and with dilutions to produce aflatoxin B₁ by the ammonia vapor method.

تأثير راشن الفطر *C. pseudolloydii* في بعض أطوار حشرة الخابرة أوضحت النتائج (جدول 4) وجود فروقات معنوية بين التراكيز عند مستوى احتمال 1% في موت كل من اليرقات والبالغات، حيث بلغت كل منها 16.67 و 56.89% في التراكيز 0.5 و 1 مل، على التوالي. كما بينت النتائج أن الأطوار الحشرية أظهرت فروقات معنوية فيما بينها إذ بلغت نسب الموت لكل منها 46.11 و 29.45% لليرقات والبالغات، على التوالي. وقد يعود الاختلاف في نسب الموت إلى التغيرات في التركيب الكيميائي والحيوي في جدار الجسم مثل وجود مركبات سامة والتي من الممكن أن تمنع إنبات الأبواغ الفطرية على الأطوار المتأخرة (Mohammed *et al.*, 2019). كما وجد أن الفترات الزمنية دور كبير في موت اليرقات والبالغات إذ بلغ أعلى معدل للموت 53.82% بعد 168 و 24 ساعة من المعاملة، على التوالي. كما أشارت النتائج إلى فروقات معنوية للتدخل الثلاثي بين التراكيز والأطوار والفترات الزمنية، إذ بلغ أعلى معدل موت للبالغات 100% بعد 168 ساعة من المعاملة وبتركيز 1 مل، في حين بلغ أقل معدل موت صفر في اليرقات بعد 24 ساعة من المعاملة وبتركيز 0.5 مل. وقد يكون تأثير الفطور المرضية على جميع أطوار الحشرات، إذ تنتقل هذه الفطور عن طريق الجهاز الهضمي أو عن طريق جدار الكيتوكل أو كليهما (سمارة وعلي، 2012). كما أكد عويد وعلي (2015) أن الفطور المرضية للحشرات تدخل عن طريق الملامسة بسبب امتلاكها أنزيمات خلوية تساعدها في الدخول إلى أجسامها عبر الجلد وبعد ذلك يتم حصول عمليات كيموحيوية بين العائل والمسبب الممرض لغرض الانبات. أما بالنسبة لتأثير المدة الزمنية في اختلاف نسب الموت فكلما طالت المدة الزمنية، كلما ساعدت الفطر في إحداث الاصابة واحتراق أنسجة الجسم مما يسبب الموت للحشرة.

التعريض وأن هناك علاقة طردية بينهما، كما أشارت النتائج أن عامل التغذية قد أسمهم في حصول زيادة في نسبة الموت لمدة فترة التعريض نفسها لمعاملتي نوع التغذية.

أشارت النتائج إلى ارتفاع معدل قتل اليرقات بوجود الغذاء مقارنة بالييرقات غير المتغذية مع وجود فروق معنوية بين المعاملتين ويعزى ذلك إلى شراهة ييرقات الخابرة ونشاطها في الطور اليرقي مما يؤدي إلى ارتفاع معدل التنفس وبالتالي دخول كميات أكبر من غاز الأوزون إلى جميع أجزاء جسم الحشرة على العكس من الكاملات والتي تكون عادة غير متغذية (Harris, 2006; Buss & Fasulo, 2006)، لذلك لم نلاحظ وجود فروق معنوية في معاملة الكاملات بوجود الغذاء وعدم وجوده لجميع مدد التعريض. كذلك أشارت النتائج (جدول 5) إلى فعالية غاز الأوزون في موت كاملات الخابرة، حيث زادت نسبة الموت كلما طالت مدة التعريض لغاز الأوزون، حيث بلغت أقل نسبة موت 3.33% عند زمن تعريض 2 ساعة لكلا المعاملتين بوجود الغذاء وبدون غذاء، في حين بلغت أعلى نسبة موت 93.33% بدون غذاء و 96.67% بوجود الغذاء بعد مرور 10 ساعات من التعرض لغاز الأوزون وبفارق معنوية عالية (P=0.01). كما أشارت النتائج أن عامل التغذية قد أظهر زيادة في نسب الموت لمدة التعريض نفسها لمعاملتي التغذية وبدون غذاء وللمدتين 4 و 6 ساعات فقط في حين لم تكن هناك فروق معنوية لباقي الفترات. أما بالنسبة للتدخل بين عامل زمن التعريض ونوع التغذية لم تظهر أي فروقات معنوية بينهم.



شكل 3. قابلية عزلات *Aspergillus* على إنتاج الأفلاتوكسين B1 بطريقة بخار الأمونيا في حبوب القمح.

Figure 3. Ability of *Aspergillus* isolates to produce aflatoxin B1 by ammonia vapor method in wheat grains.

تأثير فعالية غاز الأوزون في موت ييرقات وبالغات حشرة الخابرة أشارت النتائج (جدول 5) إلى فعالية غاز الأوزون في قتل ييرقات الخابرة وازدادت نسبة الموت بزيادة فترة التعريض للأوزون، حيث بلغت أقل نسبة موت 6.67% عند فترة تعريض 2 ساعة عند عدم وجود الغذاء، و 10% بوجود الغذاء وبلغت أعلى نسبة موت 96.67% بعد عدم وجود الغذاء، في حين بلغت نسبة القتل 100% بوجود الغذاء بعد مرور 10 ساعات من التعرض لغاز الأوزون وبفارق معنوية عالية مما يؤكد أن لمرة التعريض دور كبير في زيادة نسبة القتل وأن هذه النسبة ترتفع كلما طالت مدة تعريض.

جدول 4. تأثير تركيز راشح الفطر *Cordyceps* في بعض الأدوار الحشرية لحشرة الخابرة.
Table 4. The effect of the concentration of *Cordyceps* filtrate on some insect stages of the khapra beetle.

معدل تأثير الطور	معدل تأثير التركيز	معدل تأثير العام	معدل تأثير التركيز	٪ لموت الأطوار الحشرية بعد مدد زمنية مختلفة (ساعة)			التركيز (مل)	
				168	72	24		
Mean stage effect	Overall concentration effect	Mean concentration effect	Mean concentration effect	16.67	6.67	0.00	يرقات	0.5
				53.33	53.33	46.67	Larvae	1.0
46.11		25.56	43.33	16.67	16.67	بالغات	0.5	معدل تأثير المدة الزمنية Time effect rate
		66.67	100.00	76.67	23.33	Adults	1.0	
				53.82	38.34	21.67		

أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 1% كان على الشكل التالي: للتركيز 5.5، للطور الحشرى 5.5، بعد مدد زمنية مختلفة 6.7، للتدخل بين التركيز والأطوار الحشرية 7.7، للتدخل بين التركيز والمدة الزمنية 9.5، للتدخل بين الطور الحشرى والمدة الزمنية 9.5، للتدخل بين التركيز والطور الحشرى والمدة الزمنية 10.4.

LSD at P=0.01 was as follows: for concentration=5.5, For Insectoid stage= 5.5, after different time periods = 6.7, for the overlap between the concentration and the insectoid stage = 7.7, for the overlap between the concentration and the time periods = 9.5, for the overlap between the insectoid stage and the time period = 9.5, for the overlap between the concentration and the insectoid stage and the time period = 10.4.

جدول 5. تأثير غاز الأوزون في نسبة موت يرقات وبالغات حشرة الخبيرة.

Table 5. The effect of ozone gas on the mortality rate of larvae and adults of Khabra beetle.

موت البالغات (%) Adult mortality rate (%)		موت اليرقات (%) Larvae mortality rate (%)		مدة التعرض (ساعة) Exposure period (hr)
بوجود غذاء With food	بدون غذاء Without food	بوجود الغذاء With food	بدون غذاء Without food	
0.00	0.00	0.00	0.00	Control الشاهد
3.33	3.33	10.00	6.67	2
30.00	20.00	33.33	23.33	4
46.67	40.00	53.33	43.33	6
73.33	70.00	83.33	76.67	8
96.67	93.33	100.0	96.67	10
50.00	45.33	56.00	49.33	معدل تأثير التغذية Mean food effect

أقل فرق معنوي لنسبة موت اليرقات عند مستوى احتمال 1%: للتغذية = 3.24، لمدة التعرض = 5.13، للتداخل بين التغذية ومدة التعرض = 7.3.

أقل فرق معنوي لنسبة موت البالغات عند مستوى احتمال 1%: للتغذية = 3.44، لمدة التعرض = 5.44، للتداخل بين التغذية ومدة التعرض = 7.8.

$LSD_{0.01}$ for the mortality rate of larvae: for feeding = 3.24, for exposure time = 5.13, for the interaction between feeding and exposure time = 7.3.

$LSD_{0.01}$ for the mortality rate of adults: for nutrition = 3.44, for exposure period = 5.44, for the interaction between nutrition and exposure period = 7.8.

تأثير الأشعة الميكروية في موت يرقات وبالغات حشرة الخبيرة (Holmstrup *et al.*, 2011). كما يمكن للأوزون أن يعمل كمادة كيميائية سامة تسبب أضراراً مؤكدة للأنسجة والممواد العضوية حتى عند التراكيز المنخفضة (Liu *et al.*, 2007; Jian *et al.*, 2013).

أظهرت النتائج (جدول 6) أن الأشعة الميكروية لها دور كبير في موت الأطوار الحشرية لحشرة الخبيرة إذ وجدت فروقات معنوية بين توفر الغذاء (وجود أو عدم وجود الغذاء) أثناء المعاملة، إذ تفوقت معاملة عدم وجود الغذاء مقارنة مع وجود الغذاء وبلغت نسب الموت (100 و 72.77 %)، على التوالي كما أظهرت نتائج التحليل الإحصائي $P < 0.01$ عدم وجود فروقات معنوية بين الأطوار إذ بلغت نسب الموت (83.28 و 89.44 %) في كل من اليرقات والبالغات على التوالي. كما أظهرت النتائج أن للمدة الزمنية دور كبير في زيادة نسب الموت، إذ تفوقت المدة الزمنية بعد 72 ساعة من المعاملة مقارنة بقيمتها بعد 24 ساعة من المعاملة إذ بلغت 93.25 و 97.833 % على التوالي. وهذا يتفق مع Fukude (2007) إذ أشار أن زيادة المدة الزمنية للتعرض أدى إلى موت الأطوار كافة لحشرة خنفساء الطحين، وقد يعود السبب إلى تأثير الإشعاع على المعي الوسطي وقلة تغذية جسم الحشرة في الأطوار الأولى فضلاً عن زيادة المحتوى المائي للأطوار غير البالغة مقارنة مع الحشرات الكاملة فضلاً عن قلة تطور الجهاز المناعي للمراحل المبكرة مقارنة مع المراحل البالغة. يمكننا أن نستنتج مما سبق أن حبوب القمح والطحين تصيب أثناء التخزين بحشرات المخازن وكذلك بالعديد من الفطور المنتجة للسموم الفطرية مثل الأفلاكتوكسين. كما أتضح أيضاً أن راشح الفطر *Cordyceps* ذو دور كبير في موت يرقات وبالغات خنفساء الحبوب الشعرية (الخبرة)،

تبدأ فعالية غاز الأوزون عند دخوله للجهاز التنفسى للحشرة الذى يتكون من أنابيب شديدة الشعuber مبطنة للبشرة وممتدة في جميع أنحاء جسم الحشرة (McDonough *et al.*, 2011; Lemic *et al.*, 2019; Tiwari *et al.*, 2010) مما يتسبب في حدوث إجهاد تأكسدي للإنزيمات والبروتينات والحمض النووي الريبيوزي منقوص الأوكسجين (DNA)، وبالتالي يحدث الضرر والتلف الخلوي (Hollingsworth & Armstrong, 2005). ويحدث هذا التأثير على مرحلتين، يكون تأثيره في الأولى منخفضاً بسبب انخفاض معدل تنفس الحشرة كرد فعل تجاه وجود غاز الأوزون للحد من سميته (Lu *et al.*, 2009)، عن طريق الآلية التي تمتلكها الحشرات في مقاومة المواد المؤثرة على التنفس (Hetz & Bradley, 2005) من خلال التنفس المقطوع وبذلك يمكنها تقليل ضرر الإجهاد التأكسدي المتسبب عن وجود غاز الأوزون، ولهذا السبب يعزى تأخر حدوث تأثيره بشكل مباشر إلى ما بعد انتهاء المرحلة الأولى، ثم يبدأ هذا التأثير بالتصاعد تدريجياً مع ازدياد مدة التعرض، وعلى الرغم من ذلك، قد يتسبب غاز الأوزون بتلف بعض الأنسجة المؤكدة حتى عند التراكيز المنخفضة. من جهة أخرى يسبب وجود الأوزون خللاً في التوازن بين مستوى تركيز غازي الأوكسجين وثاني أكسيد الكربون داخل أنسجة الحشرة بسبب أن ثاني أكسيد الكربون يمكن أن ينتشر بسهولة أكبر عبر الأنسجة مقارنة بالأوكسجين (Mohammed *et al.*, 2019) مسبباً انخفاضاً عاماً في التمثيل الغذائي بما في ذلك نسخ الجينات اللازمة لإزالة السموم من أنواع الأوكسجين التفاعلية بسبب إغلاق فتحات التنفس لفترة أطول من المعتاد لتقليل دخول المواد السامة الموجودة بالجو مما يحرم الحشرات من إمدادات الأوكسجين لمدة طويلة استجابةً لوجود الأوزون وبالتالي يحدث انخفاض عام للتمثيل الغذائي

تحطيم السموم الفطرية الخطيرة الموجودة في المواد الغذائية المخزونة كالطحين والقمح والتي يجب المحافظة عليها من الإصابة بحشرات المخازن.

وأن للطرائق الفيزيائية كاستخدام الأوزون والأشعة الميكروية دور مهم في موت اليرقات والبالغات كلما زادت المدة الزمنية للتعرض، لذا نوصي بإجراء المزيد من الدراسات التي تعزز استخدام التكنولوجيا الحديثة في

جدول 6. تأثير الأشعة الميكروية في موت اليرقات والبالغات حشرة الخبيرة بعد 30 ثانية من التعرض.

Table 6. The effect of microwave radiation on the death of adults and larvae of the khapra after 30 seconds of exposure.

معدل تأثير توفر الغذاء Effect rate of food availability	معدل تأثير الأطوار Stages effect rate	% لموت اليرقات والبالغات بعد مدد تعریض (ساعة) Mortality of larvae and adults after different exposure periods (hr)			توفر الغذاء Food availability	
		72	48	24	اليرقات Larvae	مع غذاء With food
72.72	83.28	79.67	66.67	53.33	With food	بدون غذاء Without food
100.00		100.00	100.00	100.00		
					البالغات Adults	
	89.44	93.33	83.33	60.00	With food	مع غذاء With food
		100.00	100.00	100.00	Without food	بدون غذاء Without food
		93.25	87.50	78.33		معدل تأثير المدة الزمنية Time effect rate

أقل فرق معنوي لمعدل تأثير الأشعة الميكروية على موت الحشرة عند مستوى احتمال 1% للأطوار = 15.2، لتوفر الغذاء = 15.2، لمدة التعرض = 18.6. LSD_{0.01} for mean effect of microwave radiation on insect mortality stage= 15.2, for food availability=15.2, for radiation exposure duration= 18.6.

Abstract

Alhaddad, A.A., I.M. Omran and M.S. AL-Emara. 2025. Investigating Some Aflatoxin-Producing Fungi in Wheat Flour and Grains Infested with *Trogoderma granarium* and its Control with Some Physical Methods. Arab Journal of Plant Protection, 43(3):326-335. <https://doi.org/10.22268/AJPP-001339>

This study aimed to isolate, diagnose and biotest some associated fungi with wheat grain that infested with khapra beetle, *Trogoderma granarium*. 26 isolates of *Aspergillus flavus* and 10 isolates of *Aspergillus ustus* were isolated from the flour by direct method. Post the testing by the ammonia vapor method, only five isolates of *A. flavus* were selected as strong producers for aflatoxin B1. Frequency test of isolated fungi from larvae and adults of *T. granarium* showed that the highest frequency of *Cordyceps pseudoloddii* was 25 and 23%, respectively. While the lowest frequency of *Cladosporium oxysporum* was 8.33 and 9.37 % respectively. Obtained results exhibited that *C. pseudoloddii* filtrate caused mortality to larvae of *T. granarium* at portion 49.11 and for the adults at 29.45 %. We also found that the 1.0 ml of fungal filtrate caused the highest insect mortality rate 56.89%, whereas 0.5 ml of fungal filtrate caused a mortality of 16.67%. Furthermore, in the current study other physical methods were utilized to control *T. granarium* including ozone gas and microwave radiation. The result displayed that the mortality was 100% for larvae and 96.67% for adults of *T. granarium* after 10 hours exposure of ozone gas. Likewise, the exposure to microwave radiation for 30 seconds caused the highest mortality rate of 100% for insects that provided with food compared to 72.72 % mortality for insects that were deprived from food, and with higher mortality of adults 89.44 % compared to the larvae 83.23%. Results also showed that the mortality percentage increased in pattern with increasing in the exposure period of microwave radiation which recorded 93.25 and 78.33% for the adults and larvae of insects after three days of treatment respectively.

Keywords: Wheat, flour, khapra beetle, aflatoxin producing fungi, physical methods, microwave radiation.

Affiliation of authors: A.A. Alhaddad*, I.M. Omran and M.S. AL-Emara. Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Basrah University, Iraq. *Email address of the corresponding author: azhar.hassan@uobasrah.edu.iq

References

- Tribolium castaneum* (Herbest) (Coleoptera: Tenebrionidae) and degradation of fungal toxins in stored wheat grains. Ph.D. thesis, Faculty of Agriculture, Basrah University, Iraq. 202 pp. (in Arabic)]
- الجوهري، احسان فليح حسن. 2012. تأثير المستخلصات الأسيتونية لبعض النباتات على الفطور المرافق لبذور الشعير في مدينة مصراته. مجلة جامعة ذي قار للبحوث الزراعية، 1(2):20.

المراجع

- الامارة، محمد صبري جبر. 2021. تقييم كفاءة غاز الأوزون ودرجات الحرارة المختلفة في مكافحة خنفساء الطحين الصدئية Coleoptera: (*Tribolium castaneum* (Herbest)) (Tenebrionidae) وتحطيم بعض السموم الفطرية في حبوب الحنطة المخزونة. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق. 202 صفحة.
- [Elelara, M.S.B. 2012. Efficiency of ozone gas and different temperatures on the control of flour beetle

- InTechOpen, Rijeka, Croatia.
<https://doi.org/10.5772/57399>
- Gonzalez, H.H.L., S.L. Resnik, R.T. Boca and W.F.O. Marasas.** 1995. Mycoflora of Argentinian corn harvested in the main production area in 1990. *Mycopathologia*, 130:29-36.
<https://doi.org/10.1007/BF01104346>
- Harris, D.L.** 2006. Khapra Beetle, *Trogoderma granarium* Everts (Insecta: Coleoptera: Dermestidae). EDIS, 2006(10):10. <https://doi.org/10.32473/edis-in667-2006>
- Hetz, S.K., and T.J. Bradley.** 2005. Insects breathe discontinuously to avoid oxygen toxicity. *Nature*, 433(7025):516-519.
<https://doi.org/10.1038/nature03106>
- Hollingsworth, R.G. and J.W. Armstrong.** 2005. Potential of temperature, controlled atmospheres, and ozone fumigation to control thrips and mealybugs on ornamental plants for export. *Journal of Economic Entomology*, 98(2):289-298.
<https://doi.org/10.1093/jeo/98.2.289>
- Holmstrup, M., J.G. Sørensen, L.H. Heckmann, S. Slotsbo, P. Hansen and L.S. Hansen.** 2011. Effects of ozone on gene expression and lipid peroxidation in adults and larvae of the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). *Journal of Stored Products Research*, 47(4):378-384.
<https://doi.org/10.1016/j.jspr.2011.07.002>
- Intania, W. and E.C. Warng.** 2007. Control of Chinese-kale damping of caused by anti-fungal metabolites of *Trichoderma virens*. *Songklamakarin. Journal of Science and Technology*, 29(4):919-929.
- Jian, F., D.S. Jayas and N.D. White.** 2013. Can ozone be a new control strategy for pests of stored grain *Agricultural Research*, 2(1):1-8.
<https://doi.org/10.1007/s40003-012-0046-2>
- Kteo, B.K. and A.A. Mohammed.** 2019. *Aspergillus flavus* isolate associated with wheat grains infested with Khapra beetle *Trogoderma granarium* and their ability to Produce Aflatoxin B1. *Plant Archives*, 19(2):1765-1770.
- Kumar, R., K.M. Ansari, N. Saxena, P.D. Dwivedi, S.K. Jain and M. Das.** 2012. Detection of Ochratoxin A in wheat samples in different regions of India. *Food Control*, 26(1):63-67.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.01.004>
- Lemic, D., D. Jembrek, R. Bažok and I. Pajač Živković.** 2019. Ozone effectiveness on wheat weevil suppression: preliminary research. *Insects*, 10(10):357.
<https://doi.org/10.3390/insects10100357>
- Liu, H.H., Y.C. Wu and H.L. Chen.** 2007. Production of ozone and reactive oxygen species after welding. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 53(4): 513-518.
<https://doi.org/10.1007/s00244-007-0030-1>
- Lu, B., Y. Ren, Y.Z. Du, Y. Fu and J. Gu.** 2009. Effect of ozone on respiration of adult *Sitophilus oryzae* (L.), *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.). *Journal of Insect Physiology*, 55(10):885-889.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.05.014>
- [Gohari, I.F.H.]** 2012. Effect of acetonic extracts of some plants on fungi associated with barley seeds in Misurata city. *Journal of the University of Thi-Qar for Agricultural Research*, 1(2):20. (in Arabic)
- سابط، فلاح عبود وسعدي حسن صبر. 2015. تقييم كفاءة استعمال غاز الأوزون ودرجات الحرارة العالمية على طوري البيض والعذاري *Trogoderma* (الخابر) (Coleoptera : Dermestidae) (Everts) (*granarium* .2169-2164. المجلة العراقية للعلوم، 56(3)
- [Sabit, F.A and H.S Sadi.]** 2015. Laboratory evaluation of ozone and high temperature use efficiency on the egg and pupae phases of the capillary beetle: *Trogoderma granarium* everts coleoptera dermestidae. *Iraqi Journal of Science*, 56(3):2164-2169 (in Arabic)
- سمارة، فوزي وسارة حسن علي. 2012. أساسيات المكافحة والمبيدات .الجزء النظري. جامعة دمشق، سورية. 395 صفحة.
- [Samara, F. and S.H. Ali.]** 2012. *Fundamentals of Pest Control and Pesticides (theoretical part)*, University of Damascus, Syria. 395 pp. (in Arabic)
- شعبان، عواد ونزار مصطفى الملاح. 1993. المبيدات . مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق. 520 صفحة.
- [Shaban, A. and N.M. Al-mallah.]** 1993. *Pesticide. Dar al-kutub for Printing and Publishing*, University of Mosul, Iraq. 520 pp. (in Arabic)
- عويد، عايد نعمة وسارة حسن علي. 2015. تأثير الفطور المزعولة من بعض انواع المفترسات من الدعاسيق وفراشها المختلفة على الفريسة والمفترس. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية، 7(1):117-136
- [Owaid, A.N. and S.H. Ali.]** 2015. The fungi isolated from some types of predators and their various preys and their effect on prey and predator. *Kufa Journal for Agricultural Sciences*, 7(1):117-136. (in Arabic)
- الفين، فرحان احمد. 2013. تفانة طحن الحبوب. الجزء النظري. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية. 202 صفحة.
- [Alvin, F.A.]** 2013. *Grain Milling Technology*, Al-Baath University Press, Homs 202 pp. (in Arabic)
- Aktar, M.W., D. Sengupta and A. Chowdhury.** 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1):1-12.
<https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>
- Asela, K., C. Alemayehu and S. Elfinesh.** 2020. Fungi Associated with wheat (*Triticum* spp.) in South East Ethiopia under storage conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*. 16(1):34-41.
<https://doi.org/10.14662/ARJASR2020.005>
- Buss, L.B. and T.R. Fasulo.** 2006. *Stored Product Pests*. UF/IFAS. SW 185.CD-ROM.
- El Khoury, A. and A. Atoui.** 2010. Ochratoxin A: general overview and actual molecular status. *Toxins*, 2(4):461-493. <https://doi.org/10.3390/toxins2040461>
- Fukude, M.P.** 2007. Eradication of storage insect pests in Maize using microwave energy and the effects of the latter on grain quality. *Food science. M.Sc. thesis*, Department of Food Science, University of Pretoria, South Africa. 124 pp.
- Gill, H.K. and H. Garg.** 2014. Pesticides: Environmental Impacts and Management Strategies. pp. 187-230. In: *Pesticides Toxic Aspects*. S. Soloneski, (ed.).

- and ochratoxin A in rice in five provinces of the central region of Vietnam. *Food Chemistry*, 105(1):42-47. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.040>
- Reza, K., M.H. Yadegari, S. Razaie, A. Allameh, N. Safaie, F. Zaini and F.K. Yazdi.** 2009. Investigation of stored wheat mycoflora, reporting the *Fusarium* cf. *langsethiae* in three provinces of Iran during 2007. *Annals of Microbiology*, 59(2):383-390. <https://doi.org/10.1007/BF03178344>
- Saito, M., and S. Machida.** 1999. A rapid identification method for aflatoxin producing strains of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by ammonia vapor. *Mycoscience*, 40(2):205-208. <https://doi.org/10.1007/BF02464300>
- Tiwari, B.K., C.S. Brennan, T. Curran, E. Gallagher, P.J. Cullen and C.P. O'Donnell.** 2010. Application of ozone in grain processing. *Journal of Cereal Science*, 51(3):248-255. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.01.007>
- McDonough, M.X., L.J. Mason and C.P. Woloshuk.** 2011. Susceptibility of stored product insects to high concentrations of ozone at different exposure intervals. *Journal of Stored Products Research*, 47(4):306-310. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2011.04.003>
- Minutillo, S.A., D. Ruano-Rosa, A. Abdelfattah, L. Schena and A. Malacrinò.** 2022. The fungal microbiome of wheat flour includes potential mycotoxin producers. *Foods*, 11(5):676. <https://doi.org/10.3390/foods11050676>
- Mohammed, A.A., J.K. Kadhim and A.M. Hasan.** 2019. Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi for the control of khapra beetle (Coleoptera: Dermestidae) and their effects on the beetles fecundity and longevity. *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 35(1):1-11. <https://doi.org/10.3954/1523-5475-35.1.1>
- Nguyen, M.T., M. Tozlovanu, T.L. Tran and A. Pfohl-Leszkowicz.** 2007. Occurrence of aflatoxin B1, citrinin

Received: April 4, 2024; Accepted: June 30, 2024

تاریخ الاستلام: 2024/4/4؛ تاریخ الموافقة على النشر: 2024/6/30