تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو فطر *Aspergillus ochraceus*

منى صالح محمد دغمان*

المستخلص: في السنوات الأخيرة ازداد الاهتمام باستخدام الاعشاب الطبية في عدة دول خاصة الدول النامية مثل ليبيا. حيث تتجلي أهمية الدراسة في امكانية التعرف على فاعلية المستخلصات النباتية في مكافحة الممرضات الفطرية المنتجة للسموم، فقد هدفنا إلى تقييم كفاءة بعض المستخلصات النباتية المائية على نمو فطر *Aspergillus ochraceus*. الذي تم عزله من بعض الفواكه المجففة التي تم جمعها من أسواق مدينة مصراته بعد تقييم القدرة السمية للفطريات المعزولة والتي كان أكثرها سيادتا فطر الدراسة، أظهرت نتائج دراسة التأثير المثبط للمستخلصات النباتية المائية الحارة لمسحوق ورق نبات السدر *Zizyphus vulgaris* ونبات الزعتر *Thymus vulgaris* ومستخلص حبة البركة *Nigella sativa* على نمو فطر *A. ochraceus* تأثيرا تثبيطيا للمستخلص المائي لنبات الزعتر هو الأعلى بنسبة 50% مع تأثير تثبيطي طفيف للمستخلص المائي لنبات السدر بنسبة 12.5% وكان الأثر التثبيطي بسيط للمستخلص المائي لحبة البركة بنسبة 7.5%.). لذا لابد من نشر الوعي بين المستهلكين بخطورة التلوث الفطري والسموم الفطرية للأغذية، بالإضافة لاتباع شروط صارمة في التخزين الجيد للفواكه المجففة.

الكلمات المفتاحية: الفواكه المجففة، *Aspergillus ochraceus*، السموم الفطرية، المستخلصات النباتية.

1.المقدمة:

يعتبر الغذاء المطلب الاساسي لاستمرار الحياه على الارض وليس المطلوب دائما هو توفر الغذاء فحسب بل تقدير نسبة الفاقد في الاغذية، فالتلوث والفساد الذي تلحقه الفطريات يبلغ 25-30% (العثماني،1997).

كما يعتبر تلوث الاغذية والفواكه المجففة بالفطريات والسموم الفطرية من المشاكل التي تهدد العديد من الدول ولاسيما الدول التي تفتقر لظروف الخزن الغذائي. وتعد مصدر قلق كبيرا جدا مما دعا تلك الدول لتوفير مصادر غذائية صحية لتحقيق أمنها الغذائي (Makun et al.,2010) فالفواكه المجففة هي ثمار تم إزالة غالبية محتواها المائي أما بشكل طبيعي بالتجفيف الشمسي او باستعمال مجففات خاصة. ويعود استهلاك هذا النوع من الفواكه المجففة إلى الالف الرابعة قبل الميلاد (HUI, 2006) كما يعد تجفيف الفاكهة من الطرائق التقليدية في حفظ وخزن الثمار لفترة طويلة، وتتضمن الفواكه المجففة العديد من الثمار مثل الزبيب والخوخ والاجاص والتين والمشمش، ويباع حوالى النصف من إنتاج هذا النوع الغذائي في الأسواق المحلية لبلدان عديدة (Wu et al.,2004).

تلعب الفطريات دور كبير في حياة الانسان والحيوان والنبات، وتعتبر للإنسان الغذاء والداء والدواء. ومن ناحية أخرى تعتبر الفطريات الملوثات الرئيسية للمواد الغذائية في العالم (Boysen et al.,2000).تنمو الفطريات بمختلف أجناسها على المنتجات الغذائية الزراعية والصناعية والاعلاف عندما تكون الظروف البيئية ملائمة لنموها من درجات حرارة ورطوبة، عند نضج المحصول ونقله وتخزينه(Waliyer et al.,2015).

كما إن منظمة الصحة العالمية والاغذية التابعة للأمم المتحدة (FAO) تقدر ما يقرب من 25% من المواد الغذائية والاعلاف في العالم معرضة لخطر التلوث بالسموم الفطرية (صالح وآخرون والعبودي وآخرون، 2015) فالسموم الفطرية Mycotoxin مركبات منخفضة الاوزان الجزيئية بين 100-697 دالتون، عديمة الانتجين .Antigen أي لا تؤدي إلى تفاعلات مناعية في

* قسم الصناعات الغذائية، كلية الزراعة، جامعة مصراتة m.dughman@agr.misuratau.edu.ly

الكائنات الحية (نخيلان،2009و مطني،2014).ونظرا لخطورة السموم الفطرية ولتأثيراتها المتعلقة بالسمية الحادة والمزمنة إضافة إلى تأثيراتها المسرطنة للإنسان والحيوانات وانتقالها عبر السلسلة الغذائية فقد أجريت العديد من التحريات والدراسات من قبل المنظمات والهيئات المعنية بالسلامة الغذائية كمنظمة الصحة العالمية (WHO) وهيئة سلامة الاغذية الاوروبية (EFSA) ومنظمة الاغذية والزراعة (FAO) حول السموم الفطرية وعلى مدى واسع من السنوات (Fung and Clark,2004)

كما وجد أن تناول كميات غير قاتلة من السم الفطري لفترات طويلة تؤدي إلى سرطانات خبيثة في الكبد لبعض الحيوانات، ويعتبر سم الأفلاتوكسين B هو الأكثر نشاطا كمسبب للسرطانات الكبدية. وتم إثبات الطبيعة السرطانية للأفلاتوكسين عن طريق دراسات مزارع الانسجة لخلايا الانسان. اثبت أن الفطري يثبط المادة الوراثية (DNA) والمستويات القصوى للأفلاتوكسينات في مختلف الثمار الجوزية والحبوب والتين المجفف التي حددها الدستور الغذائي تتراوح ما بين 0.5-15 ميكروغرام/كيلوجرام (جارد، 1995).

منذ آلاف السنين عرف الانسان بالفطرة والتجربة كيف يستفيد من النباتات البرية والاعشاب التي تنمو في بيئته المتعايش فيها ليس في غذائه فحسب بل أيضا في علاج ما يصيبه من أمراض (فراج، 1984). كما كان لاستخدام المبيدات الفطرية دورا كبيرا في مكافحة الفطريات ولسنوات عديدة الا انه ظهرت العديد من المشاكل في استخدامها كالتلوث البيئي وظهور سلالات مقاومة وغيرها. لذا اتجهت الدراسات الحديثة نحو إنتاج واستخدام المستخلصات النباتية في المكافحة اذ امتازت بفاعليتها وسهولة الحصول عليها اضافة إلى كونها غير مكلفة وغير ملوثة للبيئة (Khalil & Anfoka, 2005).

يعتبر فطر*Apergillus ochraceus* من الفطريات المنتجة لسموم الاوكراتوكسين اذ يمتاز الفطر بقدرته العالية على انتاج الاوكراتوكسين A أكثر من بقية الانواع الاخرى (Council for Agricultural Science and Technology،2003) وترجع تسمية الاوكراتوكسينات إلى أول فطر عزل منه *Apergillus ochraceus* إذ اكتشف الاوكراتوكسين في جنوب أفريقيا عام 1965 من قبل Scott (Scott،1965) وهو يسبب تسمم الكلى في الانسان والحيوان على حد سواء (عبد الحميد،2000) ونظرا لقلة الدراسات حول تأثير المستخلصات لتقليل او مقاومة المسببات المرضية تم اجراء هذه الدراسة.

2. الهدف من الدراسة:

- عزل الفطريات المتواجدة من بعض الفواكه المجففة المأخوذة من الاسواق المحلية لمدينة مصراته.
- تقييم القدرة السمية للفطريات المعزولة من بعض الاغذية المجففة.
- دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية المائية (ورق نبات السدر ونبات الزعتر وحبة البركة) على نمو *فطر Aspergillus ochraceus* (فطر الدراسة) الذي تم عزله من بعض الفواكه المجففة.

3. المواد وطرائق العمل:

1.3 الاوساط الغذائية (البيئات الغذائية المستخدمة):

وسط Czapekdox agar و Rose Bengal agar.

وسط مستخلص جوز الهند Cocconut Extract Agar (CEA)

حضر الوسط بأخذ 100غرام من مبشور جوز الهند واضيف اليه 300 مل من الماء المقطر وسخن لمدة 20 دقيقة بعدها تم ترشيحه باستخدام الشاش المعقم واضيف الي الراشح 15 غرام من الاجار واكمل الحجم الي 300 مل من الماء المقطر بعد ذلك عقم الوسط لغرض الكشف عن الافلاتوكسين (العبودي وآخرون،2015).

2.3 عزل الفطريات المرافقة للفواكه المجففة وتشخيصها:

جمعت ست عينات من المشمش المجفف والعنب المجفف (الزبيب)و التين المجفف من أسواق مدينة مصراته بواقع 2 عينة من كل نوع وبوزن 250 غرام لكل عينة لغرض الحصول على عزلات من الفطريات المنتجة للسموم. وذلك بتقطيع الثمار بعد تعقيمها بواسطة محلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 2% لمدة دقيقتين ثم غسلها بالماء المقطر المعقم وتركت على ورق ترشيح ثم زرعت على أطباق بتري معقمة قطرها 9 سم، حاوية على وسط أكار (Rose Bengal agar) وذلك بوضع 5 قطع من المادة الغذائية في كل طبق بواقع 3 مكررات لكل عينة. حضنت الاطباق عند درجة حرارة 25 م°لمدة 5-7 أيام. ولتنقية الفطريات استخدم الوسط (Czapekdox agar) شخصت الفطريات النامية بعمل شرائح زجاجية لكل نوع منها وذلك بفحصها بالمجهر ضوئي مركب نوع Olympus اعتمادا على الصفات الشكلية و المورفولوجية وشكل الابواغ وحواملها والتراكيب الجنسية واللاجنسية التي تكونها وفقا للمفاتيح التصنيفية(Pittand Hocking., 2009,Samson *et al*., 2008).

حسبت النسبة المئوية لتردد الاجناس الفطرية المعزولة خلال مدة الدراسة بالمعادلة الاتية:

النسبة المئوية للتردد (%) = عدد عزلات النوع الواحد/ العدد الكلي لعزلات جميع الانواع*100

3.3 الكشف عن سموم الافلاتوكسين باستخدام محلول الامونيا:

اختبرت الفطريات المعزولة لمعرفة قابليتها على انتاج سموم الافلاتوكسين باستخدام وسط Cocconut Extract Agar (CEA) عند درجة حرارة 28م° لمعرفة تأثير الوسط ودرجة الحرارة وتم ذلك باستعمال محلول الامونيا بوضع قطرات من المحلول في غطاء الطبق ثم حضنت الاطباق مقلوبة لمدة 7 أيام. حدوث تغير في لون الوسط من اللون الشفاف الي الوردي أو الاحمر يدل على قدرة العزلات على انتاج الافلاتوكسين (العبودي وآخرون، 2015، الحداد وآخرون ، 2016).

4.3 تقدير مستوى سموم الاوكراتوكسين في الفواكه المجففة باستخدام تقنية ELISA:

تم اختبار تركيز سموم الاوكراتوكسين على عينتين من الفواكه المجففة (التين المجفف، العنب المجفف) باستخدام تقنية ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) لتقدير السموم بمركز الرقابة على الاغذية والادوية بمدينة مصراته(Patey at al.,1989). الشكل (1)

الشكل (1) جهاز ELISA لتقدير السموم الفطرية

5.3 تحضير المستخلصات: أخذ وزن 20 جرام من المسحوق الجاف لورق نبات السدر ونبات الزعتر ومستخلص حبة البركة ووضع في دورق مخروطي سعة 1000مل. وأضيف له 200 مل من الماء المقطر المغلي بدرجة 100م °تركت بعدها العينات لكي تستقر ، رشحت بعدها بثلاث طبقات من قماش الشاش ورشحت بعدها بأوراق الترشيح ؛ لفصل العوالق الكبيرة ، ثم أجري الترشيح النهائي باستعمال جهاز الطرد المركزي Centirfuge لمدة 15 دقيقة لفصل العوالق الصغيرة والحصول على محلول رائق (حسين وآخرون2011، عباس وآخرون 2012) ثم تم تعقيم هذا المحلول الرائق باستخدام مرشحات سليلوزية ؛ ليتم الحصول على محلول معقم ، وبالتالي يكون تركيز الراشح 10%.

6.3اختبار كفاءة المستخلص المائي الحار لمسحوق نبات السدر وحبة البركة والزعتر على فطر الدراسة:

تم إجراء اختبار الفعالية التثبيطية للمضاد الفطري للمستخلص المائي وذلك بخلط 20 مل من الوسط الغذائي Rose bengal agar المعقم مع 3 مل من المستخلص تم صبها في ثلاثة أطباق بتري بقطر 9 سم لكل تركيز ، أما المعاملة المقارنة فكانت بدون إضافة المضاد الفطري وبعد تصلب الوسط أخذ قرص من حافة المستعمرة الفطرية للفطر وبعمر (7 أيام) ، وبواسطة ثاقب فليني بقطر1سم , وضع في مركز الطبق في ظروف معقمة ، ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 2 ±25 درجة مئوية لمدة 7 أيام ، ثم أخذت النتائج بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين لكل مستعمرة فطرية , وكانت كل معاملة بثالث مكررات (العساف وآخرون، 2011).وقدرت نسبة التثبيط حسب المعادلة التالية :

نسبة التثبيط = متوسط قطر المقارنة – متوسط قطر المعاملة ×100 متوسط قطر المقارنة.

4. النتائج و المناقشة:

أظهرت النتائج عزل 25 مستعمرة فطرية تتمثل في أربعة أجناس فطرية *Aspergillus ochraceus ,Aspergillus flavus , Pencillium chrysogenum, Cladosporium sphaerospermum*

كان اكثر الفطريات السائدة فطر*A. ochraceus* بنسبة 48% (فطر الدراسة) حيث عزل من التين و العنب المجفف و يليه *A. flavus*بنسبة 28% من عينات المشمش والعنب المجفف وأقلها تواجدا بنسبة 12% كل من الفطريات *Cladosporium sphaerospermum، P. chrysogenum*. عزلت من التين المجفف كما مبين بالجدول (1).

الجدول (1) الفطريات المعزولة من الفواكه المجففة

الفطريات المعزولة	عدد المستعمرات	النسبة المئوية لتردد الفطريات
A. ochraceus	12	%48
Cladosporiumsphaeros permum	3	%12
P. chrysogenum	3	%12
A. flavus	7	%28
المجموع الكلي	25	%100

تبين من الجدول (2) أظهر الفطر *A. flavus* قابلية على انتاج السموم حيث تغير لون الوسط الي الاحمر الغامق مقارنة مع الفطريات الأخرى التي ظهر بها اللون الوردي الهادي وهذا يدل على قابليته لإنتاج سموم الافلاتوكسين عالية. وأيدت هذه النتائج دراسة العبودي وآخرون (2015) التي أظهرت نتائجها قدرة الفطر *A. flavus* على انتاج الافلاتوكسين باستخدام محلول

الامونيا، وقد يعود السبب في إفراز الفطريات لسموم الافلاتوكسين الي ظروف التخزين الغير ملائمة مثل ارتفاع درجة الحرارة والرطوبة.

الجدول (2) قدرة الفطريات على إنتاج سموم اللأفلاتوكسين عند درجة حرارة 28م°

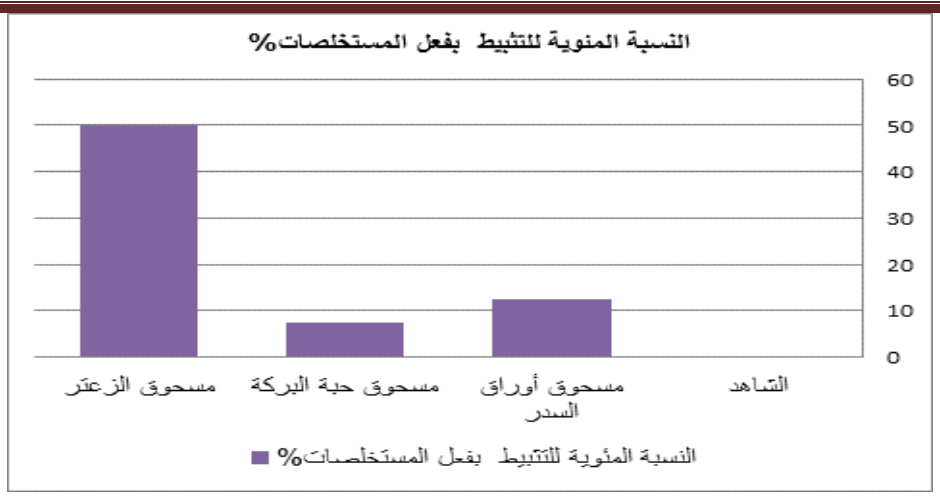
ت	الفطريات	الوسط الغذائي CEA	القابلية على أنتاج سم الافلاتوكسين B1
1	*A. ochraceus*	أحمر وردي فاتح	+
2	*Cladosporium sphaerospermum*	أحمر وردي هادي	+
3	*P. chrysogenum*	أصفر برتقالي فاتح	+
4	*A. flavus*	أحمر وردي غامق	++

أظهرت نتائج تقدير سموم الاوكراتوكسين في العينات المختبرة من الفواكه المجففة أن تركيز الاوكراتوكسين أقل من (1PPb) وهذه مطابقة للمواصفات القياسية الليبية رقم 57 الخاصة بالحدود القصوى للسموم الفطرية في الاغذية والاعلاف التي حددت الحد الأقصى المسموح به بحوالي 4 PPb.

وبالنسبة لنتائج دراسة التأثير المثبط للمستخلصات النباتية المائية الحارة لمستخلص مسحوق ورق نبات السدر *Zizyphus vulgaris* ونبات الزعتر *Thymus vulgaris* ومستخلص حبة البركة *Nigella sativa* على نمو فطر *A.ochraceus* تأثيرا تثبيطي للمستخلص المائي لنبات الزعتر هو الأعلى بنسبة 50% مع تأثير تثبيطي طفيف للمستخلص المائي لنبات السدر بنسبة 12.5% وكان الأثر التثبيطي بسيط للمستخلص المائي لحبة البركة بنسبة 7.5% الجدول (3) و الشكل (2) وجاءت النتائج مطابقة لدراسة (الساعدى وآخرون، 2013) بالنسبة لتأثير المستخلص المائي لنبات الزعتر على نمو فطر الدراسة. وفي المقابل كانت نسبة التثبيط للمستخلص المائي لنبات السدر على نمو بعض الفطريات المعزولة من بعض المواد الغذائية في الاسواق المحلية في مدينة النجف تتراوح بين (27-38%) بتركيز 30% في دراسة (حسين ويحي، 2011) بالمقارنة بدراستنا التي لا تتعدي 12.5%.وقد يعزي ذلك لان الزعتر يمتلك خصائص مضادة للفطريات (Antifungal)بالإضافة لاحتواء ورق السدر عناصر مثل الفلافونويدات والصابونين التي تأثر على الفطريات ونموها.

الجدول (3) التأثير المثبط للمستخلصات المائية على نمو الفطر *Aspergillus ochraceus*

نوع المستخلص	متوسط أقطار المستعمرات	النسبة المئوية للتثبيط
الشاهد	3.58	0
المستخلص المائي لمسحوق لأوراق السدر	2.4	32.96
المستخلص المائي لمسحوق حبة البركة	2.45	31.56
المستخلص المائي لمسحوق الزعتر	1.98	44.69



الشكل (2) التأثير المثبط للمستخلصات المائية على نمو الفطر*Aspergillus ochraceus*

5.التوصيات:

1- يراعى شروط التخزين الجيدة للفواكه المجففة.

2- يجب نشر الوعي بين المستهلكين بخطورة التلوث الفطري والسموم الفطرية للأغذية.

3- زيادة الدراسات والبحوث العلمية التي تتناول دور مستخلصات النباتية في المكافحة الحيوية سواء المائية أو الكحولية بتراكيز مختلفة.

4- استخدام مضافات غذائية ذات أصل نباتي في الصناعات الغذائية.

Effect of some plant extracts on the growth of *Aspergillus ochraceus*

Abstract: In recent years, interest in the use of medicinal herbs has increased in several countries, especially developing countries such as Libya. As the importance of the study is reflected in the possibility of identifying the effectiveness of plant extracts in combating toxin-producing fungal pathogens, we aimed to evaluate the efficiency of some aquatic plant extracts on the growth of *Aspergillus ochraceus*. Which was isolated from some dried fruits collected from the markets of the city of Misurata after evaluating the toxicity of the isolated fungi, most of which were the two masters of the study, The results of a study of the inhibitory effect of hot aqueous plant extracts of *Zizyphus vulgaris* leaf powder, *Thymus vulgaris* and *Nigella sativa* extract on the growth of *A. ochraceus* showed the highest inhibitory effect of the aqueous extract of thyme at 50% with a slight inhibitory effect of Sidr aqueous extract at percentage. 12.5% and the inhibitory effect was small for the aqueous extract of *Nigella sativa* by 7.5%.). Therefore, it is necessary to spread awareness among consumers of the danger of fungal contamination and mycotoxins for food, in addition to following strict requirements in the good storage of dried fruits.

5- **Key words**: dried fruits, *Aspergillus ochraceus*, mycotoxins, plant extracts.

المراجع :

المراجع العربية:

الحداد، ا. ع.، حليمة، ز ح. ومُحَمَّد، م .ف. (2016). تقويم كفاءة بعض الطرائق الفيزيائية في تحطيم سم الأفلاتوكسين B1 في بعض ثمار الفاكهة المجففة. مجلة وقاية النبات العربية، 34(2):148-155.

الساعدي، هـ. ع. م، الكرطاني، ي. م. ،الزبيدي، ن. ع. (2013).تأثير المستخلصات النباتية الخام لنباتات القرفة والقرنفل والزعتر على نمو فطر *A. Flavus* المنتجة للافلاتوكسين B1، مجلة ديالى للعلوم الزراعية، 5 (2):593- 602.

العثماني، ف. غ. م.(1997). عزل واختبار المادة الفعالة في مستخلص نبات الروجة *Hypericum triguetrifoliumturra* ضد فطرين ممرضين للنبات. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

العبودي، م. ع، س. و الحسيني، عبد الهادي، م. ا. وعبيد، جاسم، ح.(2015). عزل وتشخيص الفطريات المنتجة لسموم الافلاتوكسين B1 من بعض الاغذية المحلية في أسواق محافظة بابل. كلية العلوم، جامعة بابل، مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفية والتطبيقية، 63(3):925-938.

العساف، ج. ط. ش.والنعيمي،حسن ،س.ع. ومُحَمَّد،ع. ص. (2011). التأثير المثبط لمستخلصات بعض النباتات الطبية في فطر *Aspergillusniger*، رسالة ماجستير ، كلية العلوم – جامعة الموصل ،العراق.

جارد، ن. (1995).أمراض البذور. جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا، 499-532.

حسين ، س. ح.، يحيى، و. هـ.(2011). تأثير المستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات السدر على نمو بعض الفطريات المعزولة من بعض المواد الغذائية في الأسواق المحليةالعراق . مجلة جامعة ذي قار،6 (4):86.

صالح، ح. ط. وقاسم. ، عبد الواحد، ع. وداغر. ، مهدي، غ. (2009). تشخيص أنواع الأسبرجلس في بذور الذرة والرز والحنطة في ميسان واختبار قدرتها على افراز الأفلاتوكسين على أوساط مختلفة. كلية التربية، جامعة البصرة، مجلة ميسان للدراسات الأكاديمية، 8(15):200-210.

عباس ، ي. خ.،شمخي، ب. م. (2012). تأثير مستخلصات بعض النباتات الطبية ضد الفطريات الجلدية. مجلة كلية التربية ، 2 ا (1):232

عبد الحميد، م. ع.(2000). الفطريات والسموم الفطرية. كلية الزراعة. جامعة المنصورة. دار النشر للجامعات. جمهورية مصر العربية.

فراج، ع. (1984).التداوي بالأعشاب والنباتات الطبية. الطبعة الثانية. دار الرائد العربي. بيروت. لبنان.

مطني، ا. ن. ع. (2014). السموم الفطرية النظرية والمفهوم العام. دار الكتب والوثائق، بغداد.20-75.

نخيلان، م. ع. (2009). الفطريات. دار دجلة. عمان، المملكة الاردنية.

المراجع الانجليزية:

Khalil, B. F. & G.H Anfoka.(2005). Antifungal activity of Medical plants. *Jordan environmentalplant pathology*.4.130.

Makun, H. A., S. T.Anjorin, G.H. Moronfoye, F. O Adejo,Afolabil, O. A Fagbayibo, B. O.Balogunand A. A. Surajudeen (2010). Fungal and aflatoxin contamination of some human food commodities in Nigeria . *African Journal of Food Science*,4: 127-135

Hui, Y.H, J. Barta, M.P Cano,T.Gusek, J.S. Sidhu and N.K. Sinha (2006). Handbook of fruits and fruit processing. *Blackweell publishing*. Oxford, UK. 81.

Wu، x., G.R. Beecher, J.M. Holden, D.B. Haytowitz, S.E. Gebhardtand R.L. Prior. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the united states. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 52:4026-4037.

Boysen, M., E. KJacobsson,and J. S.Chuver, (2000). Molecular identification of species from the penicilliumroqueforti group associated with solid animal feed. *Applied and Envemant Microbiology*. 66,1523-1526.

Waliyer, F.P., P. V Craufurd, V. Prasad andA. I. Taheri.(2015). Droughpod yield preharvestAspergillus infection and aflatoxin contamination on peanut in Niger. *Journal of microbiology*. 98.P:20-29.

Fung, F. and R. Clark. (2004). Health effects of mycotoxins: toxicological overview. Journal of Toxicology, 42:217-243.

Council for Agricultural Science and Technology.(2003). Mycotoxins Risk in plant، Animal، and Human Systems. Report No.139. Council for Agricultural Science and Technology.Ames Iowa. USA ISBNI-887383-22.0.ISSN0194-4088

Scott, D. B.(1965). Toxigenic fungi isolated from cereal and legume products Mycopath. Mycol.Appl. 25:213-222.

Patey, A. L., M. Sharman, R. Wood and J. Gilbert.(1989). Determination of aflatoxin concentrations in peanut butter by Enzyme-Linked Immune Sorbent Assay (ELISA)study of three commercial ELISA Kit, JournalAssociation of Official Analytical chemists.72,965-969,Norwich,U. K

Pitt, J. I. and Hocking, A . D. (2009). Fungi and foods spoilage (3 rded) spinggerverlag Germany. P: 423-428.

Samson, R.A., E.S. Hoekstra and J.C.Frisvad (2008). Introduction to food and air borne fungi (7th ed) CBS,Utrdut. P:15-300.