تقدير الكتلة الحيوية للفطريات و سم الافلا B1 في بذور الحنطة المستوردة وامكانية السيطرة عليه بالأحماض العضوية

كامل سلمان جبر قائد مسعد عبد الله الصلاحي

كلية الزراعة -- جامعة بغداد

المستخلص

أجريت الدراسة لتقويم التلوث الفطري وسم الافلا B1 في ستة عينات من بذور الحنطة المستوردة التي جمعت من سايلو التاجي/الشركة العامة لتجارة الحبوب/وزارة التجارة – استيراد عام 2001 وامكانية السيطرة عليه بالاحماض العضوية. إذ أوضحت النتائج وجود الاركستيرول في 66.6 % من العينات المدروسة وكانت اعلى كميه له في الحنطة الهنكارية اذ وصلت 7.03 مايكروغرام/غم حنطة واقل كمية له في الحنطة الباكستانية 1.17 مايكرغرام/غم حنطه بينما خلت الحنطة الكندية والأرجنتينية منه. كما أوضحت النتائج خلو العينات المدروسه كافه من سم الافلا B1. وبينت النتائج قابليه ثمانيه عزلات من الفطر Aspergillus على انتاج سم الافلا B1 وكانت العزلات العائدة للفطر *A. parasiticus* أعلى إنتاجية للسم إذ وصلت في العزلة Ap1 25.41 جزء بالبليون قياسا بالعزلات العائدة للفطر *A flavus* إذ كانت أعلى إنتاجية للسم فيها 15 جزء بالبليون في العزله AF6. و أشارت الدراسة أيضا إلى كفاءه حامض البروبيونك تركيز 1.5% والخليك تركيز 2% في تثبيط النمو الفطري في حبوب الحنطة المخزونة.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 36(2) : 127 - 134, 2005 Juber & Al-Salahi

DETERMINATION OF FUNGAL BIOMASS AND AFLATOXIN B1 IN IMPORTED WHEAT GRAINS AND THE POSSIBILITY TO CONTROL IT BY ORGANIC ACIDS

K. S. Juber **G. M. A. Al-Salahi**

College of Agriculture - University of Baghdad

ABSTRACT

The study has been carried out to evaluate fungal contamination and aflatoxin B1 in six samples of the imported wheat seeds, and the possibility to control it by organic acids.

The results expressed the existence of Ergosterol in 66.6% of the studied samples. Its highest percentage was in Hungarian wheat for it reached to 7.03 μ g/g and its lowest percentage in Pakistanian wheat which was 1.17 μ g/g, while the Argentinean and Canadian wheat free of it. The study explained that all studied samples were free from aflatoxin B1. Results also showed the ability of the eight isolates of Aspergillus spp. to produce AFB1. The isolates belonged to the *A. parasiticus* species had the highest percentage of toxin productivity, in which the isolate API reached 25.41 ppb compared with the isolates of *A. flavus* in which the highest of toxin productivity was 15 ppb in isolate AF6. Study also referred to the efficiency of propionic acid 1.5% and acetic acid 2% to inhibit the fungal growth in stored wheat seeds.

المقدمة

يحتل محصول الحنطة *Triticum aestivum L.* المرتبة الأولى من حيث المساحة المزروعة والإنتاج ، ويعتمد في العيش عليه اكثر من40% من سكان العالم (5). وللحنطة أهمية كبيره في الوطن العربي اقتصاديا وسياسيا اذ اعتمدت معظم الدول العربية على الاستيراد لسد حاجتها واتخذت العديد منها سياسة زراعية هدفها توفير احتياجات سكانها من هذه السلعة الهامة لما لذلك من اثر عظيم في استقلال هذه الشعوب (3). تتعرض حبوب الحنطة للاصابة بالعديد من المسببات المرضية سواء على المستوى الحقلي او خلال النقل والتخزين (6) وتعد الفطريات المنقولة ببذور الحنطة من اهم المسببات المرضية ليس لأنها تؤدي الى خفض في نسبه الانبات ورداءه في النوعية فحسب بل لقدرتها على انتاج مركبات سامه للإنسان والحيوان والتي تعرف بالسموم الفطرية Mycotoxins (33) والتي يعتمد انتاجها على نوع الفطر وسلالته والظروف البيئية الملائمة لتطورة ولاسيما المصدر الغذائي ودرجة الحرارة والرطوبة (7 و36) وتعد سموم الافلا اشهر السموم الفطرية التي نالت اهتمام العديد من الباحثين نتيجة لتاثيراتها في الكائنات الحية اذ ينتج عن العديد منها اورام خبيثة في الحيوانات التي تتناولها (28 ، 37)

*تاريخ استلام البحث 2004/9/20 ، تاريخ قبول البحث 2004/12/28

(*)البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

(*) Part to M.Sc. thesis of the second author.

لاسيما سم الافلا B1 الذي يعد من اهم مسببات سرطان الكبد والاليات في العديد من الحيوانات ، فضلا عن الانسان(21,9,8). يعد الاركستيرول المكون الاساسي لغشاء الخلية الفطرية ونادرا ما يتواجد في النباتات والحيوانات لذلك يعد تقديره مؤشر حساس للغزو الفطري(34,33,31,27,11) وقد اثبتت كثير من الدراسات امكانية السيطرة على التلوث الفطري في الحبوب بصورة مبدئية من خلال التجفيف للحبوب الى مستوى رطوبة منخفض والخزن تحت ظروف مبردة اذ ان درجة الحرارة والرطوبة هما العاملان الاساسيان في تحديد نمو الفطر فالرطوبة النسبية لانتاج الافلا 85% ودرجة الحرارة 33م (36) الا ان السيطرة على هذين العاملين صعبة المنال في كثير من الاحيان مما دفع الباحثين للكشف عن طرق اخرى لمنع نمو وتكاثر الفطريات في الحبوب والحفاظ عليها من التسمم واكثرها شيوعا هو استخدام المواد الكيميائية مثل بيكاربونات الامونيوم وحامض البروبيونيك وحامض الخليك والفورميك والامونيا والفوسفات وحامض البنزويك وغيرها للسيطرة على نمو الفطريات (35,19,17,14) ونظرا لكون القطر يستورد حاليا الحنطة من مناشئ عالمية مختلفة تتباين في إمكانياتها في السيطرة على التلوث الفطري ولارتباط هذا الموضوع بصحة الانسان هدفت الدراسة الى :

1-تقدير الكتلة الحيوية للفطريات في البذور عن طريق تقدير الاركيسترول.

2-التحري عن سم الافلا B1 في عينات بذور الحنطة المستوردة وتحديد قابلية بعض عزلات الفطر Aspergillus على انتاجه.

3-تقويم كفاءة حامض الخليك والبروبيونك في السيطرة على التلوث الفطري في البذور المخزونة.

المواد وطرائق العمل

عينات بذور الحنطة المستوردة

تم الحصول على ستة عينات من بذور الحنطة المستوردة من سايلو التاجي/الشركة العامة لتاجرة الحبوب/وزارة التجارة - استيراد عام 2001 بواقع واحد كغم/عينة. وضعت العينات في اكياس جديدة من البولي اثيلين واحكم غلقها ثم نقلت الى المختبر لاجراء الدراسة عليها.

1-الكشف عن وجود الاركستيرول في عينات بذور الحنطة المستوردة

اتبعت طريقة Setiz واخرون (31) في استخلاص الاركيسترول وفحصت صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة تحت الاشعه فوق البنفسجيه وجرى التقدير الكمي للاركستيرول باستخدام جهاز المفراس الالكتروني.

2-الكشف عن سم الافلا B1 في عينات بذور الحنطة المستوردة

اتبعت طريقة Howell و Taylor (16) ، إذ استخدمت هذه الطريقة لتقدير سموم الافلا B1 و B2 و G1 و G2 في الحنطة والذرة الصفراء والرز مع إجراء بعض التحويرات وكما يلي :

1-اخذ 50 غم من كل عينة مطحونة من بذور الحنطة ووضعت في وعاء مخروطي سعة 300 مل ثم اغلق جيدا وحرك لمدة 30 دقيقة باستعمال هزاز كهربائي.

2-حضر محلول الاستخلاص من 450 مل اسيتونايتريل و50 مل كلوريد البوتاسيوم تركيز 4% و 10 مل حامض الهيدروكلوريك (5 عياري) ومزجت هذه المواد جيدا قبل الاستعمال .

3-رشح النموذج باستخدام ورق ترشيح Whatman No. 1 وتم استقبال 50 مل من الراشح في اسطوانة مدرجة.

4-نقل الراشح الى قمع فصل واضيف له 50 مل ماء مقطر وغسل مرتين باستخدام 50 مل هكسان (جمعت الطبقة السفلى واهملت العليا) .

5-اجري الاستخلاص مرتين باستخدام 50 مل ثنائي كلورو ميثان مع الترشيح بورق ترشيح حاوي على طبقة من كبريتات الصوديوم اللامائية (10 غم) المجففة بالفرن للتخلص من الماء الزائد ان وجد .

6-بخر محلول الاستخلاص بالمبخر الدوار وبدرجة حرارة 60 م .

7-نقل النموذج الى قنينة زجاجية صغيرة باستخدام اقل كمية ممكنة من ثنائي كلورو ميثان ، جفف النموذج وحفظ في المجمدة لحين اجراء عملية الفصل .

8-اضيف 500 مايكروليتر من خليط يتزين : اسيتونايتريل (2:98) الى الراسب المتبقي مع المزج بصورة جيدة .

9-نشطت صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة (الجاهزة) بالفرن الكهربائي لمدة ساعة على درجة حرارة 110م.

10-اخذ 5 مايكروليتر باستخدام مزراق دقيق وتم عمل بقع للنماذج مع عمل بقعة تمثل النموذج القياسي .

11-اجري الفصل باستخدام نظام الفصل المتكون من كلوروفورم : داي اثيل ايثر : حامض الخليك 5:15:85 . استغرقت عملية الفصل 45-60 دقيقة .

12-فحصت صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة تحت الاشعة فوق البنفسجية.

3-قابلية عزلات النوعين *A. flavus* و *A. parasiticus* على إنتاج سم الافلا B1

انتخبت خمسة عزلات للنوع *A. flavus* وثلاثة عزلات للنوع *A. parasiticus* من بين الفطريات التي عزلت من عينات بذور الحنطة المستوردة (2). نقيت بطريقة البوغ المنفرد وجرى الكشف عن قابليتها على انتاج سم الافلا B1 وفق طريقة Dorner واخرون (10) وفحصت صفائح الكروماتوكرافي الرقيقه تحت الاشعه فوق البنفسجيه وجرى التقدير الكمي لسم الافلا B1 باستخدام جهاز المقراس الالكتروني .

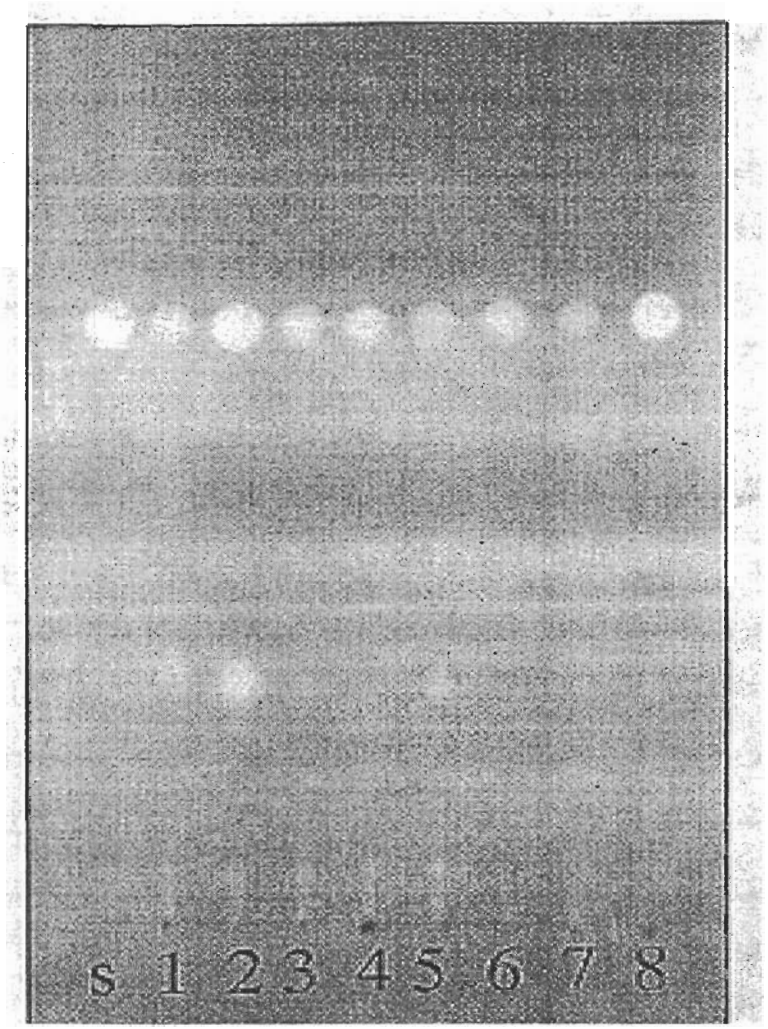
4.تقويم فعالية حامض البروبيونك وحامض الخليك في حماية بذور الحنطة من الفطريات المرافقة

تمت معاملة بذور الحنطة رشاً بحامض البروبيونك ذو التركيز 1.5% وحامض الخليك بتركيز 2% وبثلاثة مكررات/معامله مع ترك بذور غير معامله لغرض المقارنه وبثلاث مكررات ايضا (35) . وقد استعمل 200 غم لكل مكرر وخزنت تحت ظروف المختبر من 2002/2/1 ولغاية 2002/7/30 حيث جرى تقويم حملها للفطريات باتباع طريقة الاطباق Agar plate method (6) .

النتائج والمناقشة

1-التحري عن وجود الاركستيرول في عينات بذور الحنطة المستوردة

اظهرت نتائج التحليل الكيماوي والفصل بطريقة كروماتوكرافي الطبقة الرقيقة وبالمقارنة مع النماذج القياسية وجود الاركستيرول في 66.6% من العينات المدروسة (جدول 1 وشكل 1) وهذا يتفق مع كثير من الدراسات التي اشارت الى اهمية وجود الاركستيرول في الحبوب والذي يعد مؤشرا للتلف الفطري اذ اوضح Seitz واخرون (31 و32) وRichardson وlogendra (27) الى ان وجود الاركستيرول يعد مقياسا حساسا للغزو الفطري في الحبوب وهذا يعني ان وجوده دليل على التلوث الفطري. كما أشار Zill واخرون (38) الى ان هنالك علاقة طردية بين التلوث الفطري وتلف الحبوب ومحتوى الاركستيرول وعند اجراء التقدير الكمي للاركستيرول بجهاز المقراس الالكتروني وجد تباين في كمية الاركستيرول إذ تراوحت من 1.17-7.03مايكرو غرام/غم من بذور الحنطة. وهذا يتفق مع ما وجده Neawbanij واخرون (24) حول استخلاص الاركستيرول في عينات من الحنطة والشوز والذرة البيضاء بطريقة كروماتوكرافي الطبقة الرقيقة اذ وجد اختلاف فيما تحويه هذه العينات من الاركستيرول ، ان وجود واختلاف كمية الاركستيرول في الحبوب يتعلق بالعديد من العوامل منها كثافة النمو الفطري والظروف الملائمة لتطوره وكذلك نوع الفطر ومحتواة من الاركستيرول حسب تركيبة الوراثي (32,31) فإذا كانت الظروف ضمن المدى الذي لا يسمح بتطور النمو الفطري ادى ذلك الى انخفاض نسبة التلف الامر الذي ينعكس بدورة على الاركستيرول. كما بينت النتائج عدم احتواء العينات 4 ، 5 على الاركستيرول وهذا ربما يرتبط بكثافة ونوع الفطريات المرافقة للبذور (32,31) .كما اظهرت النتائج ايضا ان محتوى العينات 2 و 3 من الاركستيرول اعلى من المستوى المسموح به عالميا اذ اشارت الدراسات الى ان اعلى مستوى مسموح به من الاركستيرول في حبوب الحنطة بلغ 5 مايكرو غرام/غم (26,13) وهذا يعطي مؤشرا الى ضرورة اعتماد هذا الفحص في السيطرة النوعية فضلا على الاختبارات الاخرى المتعلقة بالكشف عن التلوث الفطري ومنتجاته الايضية وذلك لسهولة وسرعة اجراء الفحص فضلا عن دقته لاسيما عند توفر المستلزمات الخاصة به . ان نتائج هذه الدراسة جاءت مؤكدة لنتائج العزل والتشخيص (2) فقد احتوت العينات 2 و 3 اعلى مستوى من الفطريات من حيث عدد الابواغ وتكرارها وبالرغم من وجود الاركستيرول في العينة 6 في المستوى الذي يتم الكشف عنه (1.17 مايكرو غرام/غم) الا انها كانت اقل مستوى من حيث التلوث الفطري وتعدد الانواع وهذا ما أكدته الدراسات السابقة ، اذ اشار Seitz واخرون (32,31)الى ان الفطر *A. flavus* و *A.alternata* تحدث مستويات عالية من الاركستيرول وهذا مطابق لما وجد في هذه الدراسة اذ كان الفطر *A.alternata* و *A.flavus* من اكثر الفطريات تلويثا للعينات.



شكل 1. كروماتوكرافي الطبقة الرقيقة المستخدمة في الكشف عن الاركستيرول في عينات بذور الحنطة المستوردة(s) النموذج القياس (1) عينة 2 (2) عينة 6 (3) عينة 1 (4) عينة 3 (5) عينة 4 (6) عينة5

جدول 1. كمية الاركستيرول في عينات بذور الحنطة المستوردة

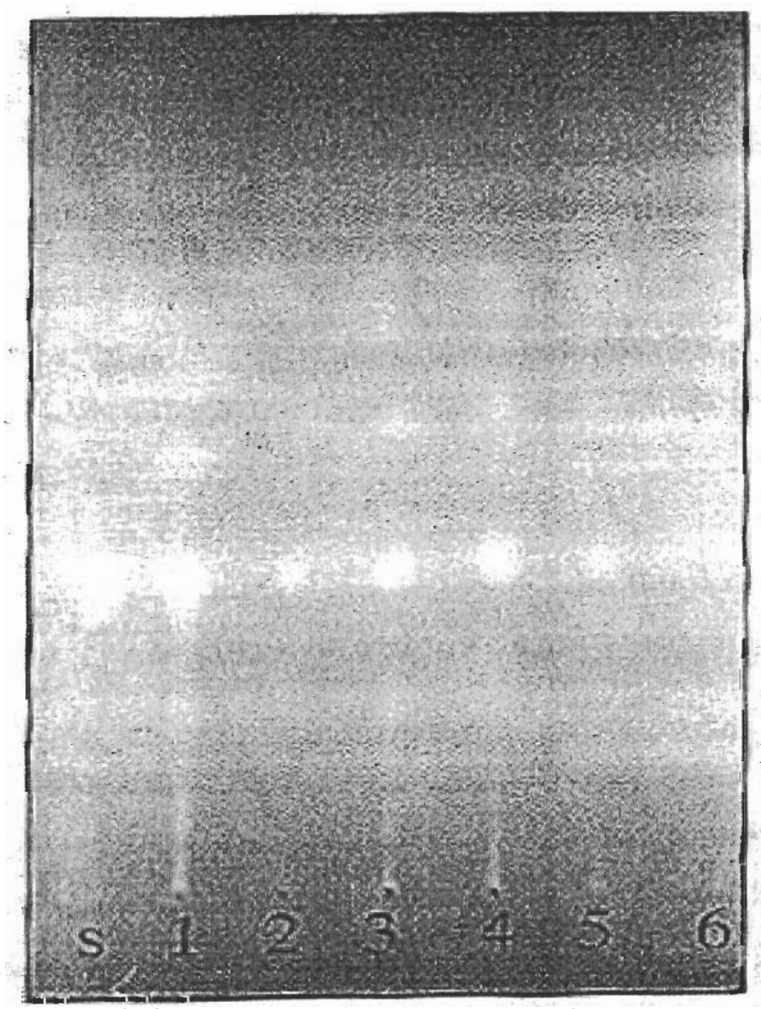
العينة	المنشأ	تركيز الاركستيرول (مايكرو غرام/غم)
1	استرالية	3.78
2	هنكارية	7.03
3	هندية	5.48
4	كندية	ND
5	ارجنتينية	ND
6	باكستانية	1.17

Not detected = ND (لم يظهره الكشف المستخدم)

2-التحري عن سم الافلا B1 في عينات بذور الحنطة المستوردة

أظهرت نتائج التحليل الكيماوي والفصل بطريقة كروماتوكرافي الطبقة الرقيقة وبالمقارنة مع النماذج القياسية ان عينات الحنطة المستوردة كافة وعددها ستة عينات لم تظهر احتواءها على سم الافلاB1 (الشكل 2). ان انتاج سم الافلا في الحبوب يتطلب ان تكون درجة الحرارة والرطوبة ضمن المديات الملائمة لزيادة كثافة النمو الفطري للفطر *A. flavus* و *A. parasiticus* المنتجان للافلاB1 كذلك المحتوى الرطوبي للحبوب فاذا كانت الظروف البيئية التي رافقت نضج المحصول والمحتوى الرطوبي ودرجة حرارة ورطوبة الخزن لا تسمحان بنمو الفطر ادى ذلك الى انخفاض معدل تواجد سم الافلا الى

المستوى الذي لا يمكن الكشف عنه وهذه الوسيلة المتبعة في حماية الحبوب من التلوث بالسموم الفطرية (32). ان محتوى الحبوب الصغيرة كالحنطة والرز من السموم الفطرية يكون اقل مما هو علية في بقية المحاصيل الكبيرة الحبوب (4) فكثير من الدراسات التي اجريت على الحنطة والذرة البيضاء والرز حول تقويم كثافة التلوث الفطري وعلاقة ذلك بانتاج سم الافلا اوضحت ان محتوى السم في هذه الحبوب ان وجد في بعض العينات فهو قليل . وهذا يتفق مع ما وجده Odettel واخرون (25)حول التحري عن سموم الافلا في الحبوب اذ اوضحت النتائج ان عينتان فقط من اصل 531 عينة من حبوب الحنطة احتوت على سموم الافلا وبمعدل 7 و 2 جزء بالمليون لكل منهما بينما خلت بقية العينات من احتوائها على سم الافلا . واوضحت النتائج التي حصل عليها Leonard و Octavej (19) حول استخلاص سم الافلا والزيرالينون في 263 عينة من الذرة البيضاء ان جميع العينات خلت من احتوائها على سموم الافلا والزيرالينون . كما وجد Sauer واخرون (30,29) عند تقويم كثافة التلوث الفطري في الحنطة والذرة البيضاء الأمريكية المصدرة وعلاقة ذلك بانتاج سموم الافلا ان مستوى سموم الافلا في العينات التي خضعت للفحص كان قليلا وغير ذي أهمية واوضحت نتائج النزال (4) حول استخلاص سموم الافلا في الرز المحلي والمستورد أن نماذج الرز كافه وعددها ثمانية خلت تماما من سموم الافلا .واستنادا الى ذلك تعد الحنطة بيئة غير مثاليه لانتاج سموم الافلا لاسيما اذا كانت العوامل غير مساعده على ذلك وهذا يختلف عن بقيه المحاصيل كالذره الصفراء وفستق الحقل الذي يعد البيئة الكلاسيكية لانتاج سموم الافلا والمثال الدرامي الاول.



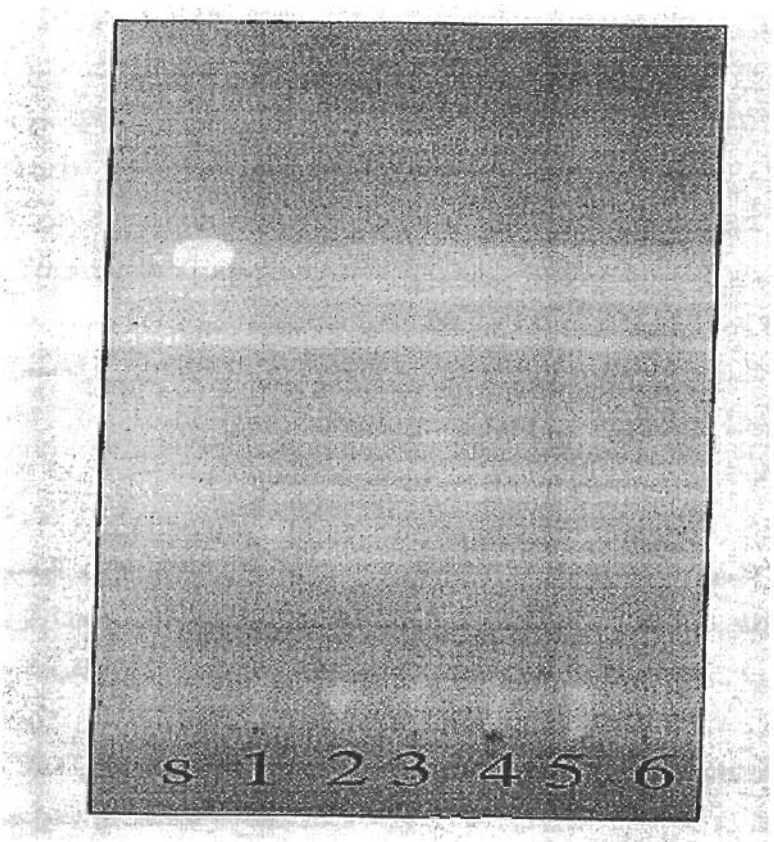
شكل 2. كروماتكرافي الطبقة الرقيقة المستخدمة في الكشف عن سم الافلا B1 في عينات بذور الحنطة المستوردة (S) النموذج القياسي (1) عينة 2 (2) عينة 6 (3) عينة 1 (4) عينة 3 (5) عينة 4 (6) عينة 5

جدول 2. تركيز سم الافلا B1(ppb) المفرز من قبل ثمانية عزلات من الفطر *Aspergillus spp.* المعزولة من عينات بذور الحنطة المستوردة

نوع الفطر	العزلة	العينه التي عزلت منها	تركيز السم(ppb)
A. parasiticus	AP1	4	25.41
A. flavus	AF2	3	4.15
A. parasiticus	AP3	5	19.22
A. flavus	AF4	4	5.54
A. flavus	AF5	4	7.82
A. flavus	AF6	5	15.0
A. flavus	AF7	2	9.12
A. parasiticus	AP8	4	22.92

3- قابلية عزلات النوعين *A.flavus* و *A.parasiticus* على انتاج سم افلاB1

اظهر فحص ثمانية عزلات من الفطر Aspergillus تحت الاشعة فوق البنفسجية قابليتها على انتاج سم الافلا B1 اذ ان وجود تألق حول المستعمرات النامية يعد فحص موجب لقابليتها على انتاج سم الافلا . وتم تاكيد ذلك بالتحليل الكيميائي والفصل على صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة (شكل 3) وعند تقدير كمية سم الافلا باستخدام جهاز المفراس الالكتروني وجد تباين في كمية السم المنتج اذ ان اعلى انتاج للسم كان في العزلة AP1 واقل انتاج له في العزلة AF2 (جدول 2) . وهذا يتفق مع ما ذكره Hesseltine واخرون (15) من ان عزلات الفطر Aspergillus تنتج مستويات مختلفة من سم الافلا ويعزى ذلك الى الاختلاف في القابلية الوراثية للعزلات المنتجة للسم . وهذا يتفق مع كثير من الدراسات التي اشارت الى تباين عزلات الفطر في انتاج السم (22,4,1). وقد لوحظ عند الفصل على صفائح الكروماتوكرافي الرقيقة وجود اكثر من نوع من السم فضلا عن سم الافلاB1 (شكل 3). وعند اجراء التقدير الكمي وجد ان العزلات العائدة للفطر *A. parasiticus* تنتج كميات اكبر من السم مقارنة بالعزلات العائدة للفطر *A. flavus* وهذا يرتبط بقدرة الفطر على انتاج السم حسب تركيبة الوراثي(22).



شكل 3. كروماتوكرافي الطبقة الرقيقة المستخدمة في الكشف عن سم الافلا B1 في عزلات الفطر Aspergillus(S) النموذج القياسي (1) AP1 (2) AF2 (3) AP3 (4) AF4 (5) AF5 (6) AF6 (7) AF7 (8) AP8

4- تأثير حامض البروبيونك والخليك على الفطريات المرافقة لبذور الحنطة المخزونة

اظهرت النتائج المتحصل عليها من طريقة اطباق الاكار ان معاملة بذور الحنطة بحامض البروبيونك او الخليك او خليط كل منهما معا وبالتراكيز المحددة وبالمقارنة مع معاملة المقارنة قد وفر حماية لبذور الحنطة المخزونة من الفطريات اذ بينت النتائج بعد مرور 7-8 ايام من زراعة البذور على الوسط PDA والحضن تحت درجة حرارة 25 ± 1 مْ عدم ظهور نمو فطري في كل المعاملات مما يدل على ان الحامضين يثبطان نمو الفطريات بدرجة كبيرة. في حين اظهرت نتائج معاملة المقارنة وجود الفطريات العائدة للاجناس Alternaria و Penicillium و Cladosporium و Aspergillus اذ كانت اعلى نسبة تلوث بالفطر *A. flavus* يليه الفطر *Penicillum spp.* ثم الفطر *Altrnaria spp.* ، وظهر الفطر *Cladosporium spp.* بدرجة قليلة. ان هذه النتائج تتفق مع كثير من الدراسات التي اشارت الى اهمية معاملة الحبوب بالمواد الكيميائية للسيطرة على التلوث الفطري (20,17,14).

ان استخدام المواد الكيميائية في السيطرة على التلوث الفطري في الحبوب والاغذية ذي اهمية تتعلق بصحة الانسان والحيوان اذ ان حماية الاغذية من الفطريات يعني حمايتها من السموم الفطرية ذات التاثير السيئ على الانسان والحيوان. وهنالك العديد من المواد الكيمائية المستخدمة في هذا المجال ولكن الاهم هنا ان تكون المعاملة اقتصادية وليس لها تاثير جانبي على الصحة العامة ولا تغير من القيمة الغذائية للسلعة وتزداد كفاءة المادة المستخدمة كلما أثرت على النمو الفطري ضمن التراكيز القليلة وزادت سرعة نفاذها وتلاشيها من المادة الغذائية . وبشكل عام فان استخدام المواد الكيميائية اكثر كفاءة من المعاملات الفيزياوية كالتشعيع واستخدام الموجات الدقيقة او استخدام الاحياء المنافسة وذلك لان الاولى ذات تاثير جانبي على الانسان وتحتاج الاخرى الى ظروف خاصة وعقلية مدبرة لجوانبها العلمية .

المصادر

1- الجنابي ، سندس جميل. 1988. تأثيرات بعض المواد الحافظة للأغذية في نمو الفطر *Aspergillus flavus* link ex Fries وانتاجة للافلاتوكسين في الطحين. رسالة ماجستير -كلية التربية. ابن الهيثم - جامعة بغداد .

2- الصلاحي ، قائد مسعد عبد الله. 2003. الفطريات المرافقة لبذور الحنطة المستوردة واهميتها الامراضية . رسالة ماجستير -كلية الزراعة - جامعة بغداد .

3- المليجي ، محمد عبد الستار وزكية محمود حسن. 1992. امراض القمح ، الرياض . 115 صفحة .

4- النزال ، احمد اسماعيل احمد. 1996. التحري عن سموم الافلا في الرز المحلي والمستورد وتقويم بعض طرق إزالة سميتها. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة بغداد.

5- اليونس ، عبد الحميد احمد، ومحمد محفوظ عبد القادر وزكي عبد العباس. 1987. محاصيل الحبوب - جامعة الموصل . 368 صفحة.

6-Agarwal, V. K. and J. B. Sinclair. 1997. Principles of Seed Pathology 2nd. Lewis publishers. CRC press. Inc. 539 pp.

7-Christensen, C. M. and H. H. Kanfmann. 1969. Grain Storage Studies, the Role of Fungi Inquality Loss. University of Minnesota press. Minneopolis. 153 pp.

8-Ciegler, A., H. R., Burmeister, R. F. Vesconder and C. W. Hesseltine. 1981. Mycotoxins occurance in the environment. In: Mycotoxins and N-nitroso compounds, Environmental risks (Sahank, R. C. ed.) CRC press. 1:51.

9-Coallier, A. J. and E. S. Idziak. 1985. Interaction between *Streptococcus lactis* and *Aspergillus flavus* on production of aflatoxin. Appl. Environ. Microbil. 49:163-167.

10-Dorner, J. W., R. J. Cale and P. D. Blankeship. 1992. Use of biocompetitive agent to control preharvest aflatoxin in drought stressed peanuts. J. of Food Production 55:888-892.

11-Eash, N. S., P. D. Stahl, T. B. Parking and D. L. Karlen. 1996. A simplified method for extraction of Erogosterol from soil. Soil Science Soc. 60:468-475.

12-Gardner, D. E., J. L. McMeans, C. M. Brown, R. M. Bilbrey and L. L. Parker. 1973. Geographical localization and lint fluerscence in relation to aflatoxin production in *A. flavus* infected cotton seeds. Phytopathology 46:452-455.

13-Hansen, L. D. and J. G. Pederson. 1991. Erogosterol etnyttigt Vekt ∂jved vurdring of svampebelastning kolding, Denamark, Biotechnol. Inst. Rep. 91:2-4.

14-Herting, D. C. and E. E. Drury. 1974. Antifungal activity of voltile fatty acids on grains. Cereal Chem. 51:74-83.

15-Hesseltine, C. W., O. L. Shotwell, J. J. Ellis and R. D. Stubblefield. 1966.

aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. Bacteriol. Rev. 30:795-805.

16-Howell, W. V. and P. W. Taylor. 1981. Determination of aflatoxin in wheat. J. Assoc. off Anal Chem. 64:1356-1360.

17-James, R. F., A. J. John and S. M. Byron. 1961. The control of fungi : During the malting of wheat Cereal Chem. 83:170-179.

18-Lebron, C. I., R. A. Molim, H. W. Walker, A. A. Krafl and H. M. Staht. 1984. Inhibtion of growth and aflatoxin production of Aspergillus pir medium containing phoshate. J. Food Rot. 25:4-6.

19-Leonard, S. and F. Octavej. 1980. Survey of aflatoxin and zeralenone in canned and frozen sweet corn. J. Anal. Chem. 63:180-181.

20-Lioyd, B. B. and L. S. Park. 1984. Formation and control of mycotoxins in food, J. of Food Protection 47:637-646.

21-Massey, T. E., R. K. Stewart, J. M. Daniels and L. Ling. 1995. Biochemical and molecular aspects of mamlian susceptibility of aflatoxin B1 carcinogenicity. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 208:213-227.

22-Miller, J. D. and H. L. Trenholm. 1997. Mycotoxins in grain, compounds other than aflatoxin. Eagan Press, St. Paul, Minnesota. Pp 195.

23-Nes, R. W. 1974. Role of sterols in membrans. Lipids 9:596-598.

24-Newbanij, J. M., P. A. Seib, R. Burrough, L. M. Seitz and D. S. Chung. 1984. Determination of Erogosterol using thin layer chromatography and uttra violet spectroscopy, Cereal Chem. 63:385-388.

25-Odettel, S., C. Hesseltine, H. Burmeister, W. Kwolek, S. Gailm and H. Hall. 1969. Survey of cereal grains and soybeans for the presence of aflatoxin, wheat, grain sorghum and oats. Cereal Chem. 216:446-454.

26-Pitt, J. I. and A. D. Hocking. 1997. Fungi and Food Spoilage. Blackie Academic and Professional, London. Pp 593.

27-Richardson, M. D. and S. Logendra. 1997. Ergosterol as an indicator of endophytotic biomass in grass seeds. J. of Food Anal. Food Chem. 45:3905-3907.

28-Rustom, I. Y. 1997. Aflatoxin in food and feed occurance legislation and inactivation by physical methods. Food Chem.54:57-67.

29-Sauer, D. B., C. L. Storey, O. Ecker and D. W. Fulk. 1982. Fungi in U. S. export wheat and corn. Phytopathology 72:1494-1452.

30-Sauer, D. B., C. L. Storey and D. E. Walker. 1984. Fungal population in U. S. farm stored grain and their relationship to moisture, storage time, and insect infestation. Phytopathology 74:1050-1053.

31-Seitz, L. M., H. E. Mohr, R. Burroughs and D. B. Saur. 1977. Ergosterol as an indicator of fungal invation in grains. Cereal Chem. 34:1207-1208.

32-Seitz, L. M., D. B. Sour, R. Burroughs, H. E. Mohr and J. D. Hubbard. 1979. Ergosterol as a measure of fungal growth. Phytopathology 69:1202-1203.

33-Smith, J. E. and G. L. Solomons. 1994. Mycotoxins in human nutrition and health direction. General XIII Science, Res. Develop. 300 pp.

34-Tahill, I. E., D. Harris and N. Magan. 1992. The relationship between fungal growth and Ergosterol vontent of wheat grain. Mycol. Res. 96:965-970.

35-Vandegraft, E. E., C. W. Hessel and O. L. Shotwell. 1975. Grain preservation : Effect on aflatioxin and ochratoxin A. production. Cereal Chem. 52:79-84.

36-WHO. 1979. Environmental health criteria, II Mycotoxins. United National Environmental Programmed and World Health Organization.

37-Wogan, G. N. 1966. Chemical nature and biological effects of the aflatoxin. Bacteriol. Rev. 30:460-470.

38-Zill, G., G. Engelharst and P. R. Wallnofer. 1988. Determination of Ergosterol as a measure of fungal growth using Si-60 HPLC Z. Lebensm-untect forsh 187:246-249 (Cited from Pitt and Hocking, 1997).