

Study of mycological contamination associated for poultry feed and inhibited it by plant extraction

دراسة الملوثات الفطرية المرافقة للأعلاف الدواجن وتثبيطها بالمستخلصات النباتية

م. خلود عبد المجيد محمد جعفر
جامعه الفرات الاوسط –المعهد التقني /بابل

الخلاصة

جمعت خمس عينات من اعلاف الدواجن ، ثلاث عينات من اعلاف الحقول و عينتان من اعلاف الاسواق الموجودة في منطقة جمار الله ناحية القاسم في محافظة بابل لغرض عزل و تشخيص الفطريات و تأثيراتها السمية على الانسان و الحيوان . تم عزل و تشخيص 8 انواع تابعة الى 6 اجناس من اعلاف الدواجن و قد لوحظ ان انواع الفطر *Aspergillus spp* اعطت اعلى نسبة تلوث مقارنة مع الاجناس الاخرى و لوحظ ان الفطر *Aspergillus niger* اعطت اعلى نسبة تردد بلغت 0.47% يليه الفطر *Aspergillus flavus* و الفطر *Mucor* حيث بلغت نسبة تردهما على التوالي 0.31% و 0.28% . تم دراسة تأثير مستخلص نبات المردقوش (marjoram) و الفلفل الأسود (black pepper) على نمو فطر *Aspergillus terrus* فقد تم استخدام ثلاث تراكيز 100%, 50%, 25% من المستخلصات وظهرت نتائج تثبيط مختلفة في كل تركيز اتجه فطر *Aspergillus terrus* فظهرت نسبة تثبيط مستخلص المردقوش بتركيز 100% سجلت 100 ملم ولمستخلص الفلفل الأسود بتركيز 100% سجلت 45 ملم اما الفطر *Aspergillus niger* و *Mucor* كانت نسبة التثبيط بمستخلص المردقوش و الفلفل الأسود بالتركيز 100% كانت على التوالي 75 و 80 و 55 و 50 . حيث تزداد نسب التثبيط بزيادة التراكيز المائبة للمستخلصات النباتية , حيث تم استخدام طريقة الانتشار بالقرص لاختبار فعالية المستخلصات ضد الفطر .

Abstract

Five samples of poultry feed Collected (Three samples of the feed additive fields and two samples of feed markets in town of Aalkasem / Babil province) for the purpose of isolating and diagnosing fungus and their toxic effects on humans and animals.

It has been isolated and diagnosed eight types subsidiary to six species of poultry feed and It has been observed that the types of fungus *Aspergillus spp* gave the highest percentage of pollution compared with other species, and it observed that the fungus *Aspergillus niger* gave the highest frequency rate of 0.47%, followed *Aspergillus flavus* and *Mucor* reaching reluctance ratio, 0.31% and 0.28%, respectively.

Studied the effect of the plant extract, marjoram and black pepper on the growth of fungus *Aspergillus terrus* . It has been used three concentrations (2.5 %, 50% and 100%) of extracts, and the results appear different inhibition for each concentration against *Aspergillus terrus*. Inhibition of Marjoram extract showed a concentration ratio of 100% registered 100mm , and black pepper extract concentration of 100% registered 45mm, while *Aspergillus niger* and *Mucor* were inhibition marjoram and black pepper extract at a ratio 100%, respectively, (75, 80 and 50, 55)%. Where the percentage of inhibition increased with increasing concentrations of water plant extracts, Where the use of disk diffusion method for the selection of the effectiveness of extracts from fungus.

المقدمة:

ازداد الاهتمام باستخدام منتجات الأعشاب في العالم كله، ففي الولايات المتحدة وصلت هذه الزيادة 380% بين عام 1990_1997، إذ إن بعض هذه الأعشاب تحوي على مركبات فعالة مثل الزيوت العطرية والفينولات والالدهيدات والقلويات وغيرها التي كان لها العديد من التطبيقات العلاجية ضد أمراض عديدة متسببة من البكتيريا والاعفان أو الفيروسات.[1]. تعتبر المستخلصات النباتية أساساً للعديد من الصناعات الغذائية سواءاً للأغذية الطازجة أو المصنعة باعتبارها تمتلك فعالية مضادة للإحياء المجهرية فهي تستخدم في حفظ الأغذية وتدخل في تركيب المستحضرات الصيدلانية وبدائل للأدوية وعلاجات طبية.[2].

تنتج الفطريات الملوثة للأعلاف سموما فطرية مؤثرة على صحة الانسان و الحيوان و منها مجموعة سموم الافلاتوكسين التي تؤثر على الجهاز الهضمي ، و مجموعة الاوكراتوكسين التي تسبب امراضاً في الجهاز البولي و الكلية ، و مجموعة الزيرالينون التي تفرزها بعض انواع الجنس *Fusarium* و التي تؤثر على الجهاز التناسلي تفرز بعض انواع الجنسين الفيوزاريوم و التريكوداريم مجموعة سموم التريكوميثين التي تحدث خلا في خلايا المخ و العقد للمفاوية [3] .

تم عزل 3701 مستعمرة فطرية على بيئة Potato Dextrose Agar (PDA) و Malt Extra Agar (MEA) من قبل الباحث [4] و اختبرت منها 79 عزلة من الجنسين *Aspergillus* و *Penicillium* وتم فحص انتاج السموم باستخدام الواح الكروماتوكرافي (T L C) ، حيث انتج الفطر *Aspergillus Flavus* الافلاتوكسين G 1 و انتج الفطر *Asp. ochraceus* ، الاوكراتوكسين A و انتج الفطر *Penicillium* سم البايوتولسين .

هنالك العديد من العوامل التي تحد من استفادة الحيوان من المواد الغذائية ، بعضها مرتبط بالحيوان نفسه مثل (العمر ، الجنس ، الحالة الصحية) و بعضها مرتبط بالغذاء كوجود مواد سامة تؤدي الى تقليل الاستفادة من الغذاء و قد تسبب تسمم الحيوان مثل الفطريات و ما تفرزه من سموم فطرية يؤدي وجود المواد السامة في العلف الى تقليل استفادة الحيوان من الاعلاف يفرز فطر *Aspergillus flavus* سموم الافلاتوكسين بأنواعها المختلفة على اعلاف ملوثة بدرجات مختلفة من سموم الافلاتوكسين B1 و تظهر على الابقار المغذاة على اعلاف حاوية على سموم الافلاتوكسين B1 حالات من الضعف و انخفاض كبير في كمية الحليب و فقدان الشهية تتراوح كميات الافلاتوكسين في الاعلاف من 75 الى 150 جزء لكل بليون وتسبب تغيرات مورفولوجية و بيوكيميائية تؤدي الى حالات مرضية. [5] .

يعتبر المستخلص المائي والكحولي للفلل الأسود ذو فعالية مضادة للميكروبات، والمستخلص المثلثي للفلل الأسود ذو فعالية للاكسده لاحتوائه على مركبات (ISOFLARONES, FLARONES, FLAFONOID, COUMARINATHOCY CININ). [6].

يحتوي نبات المردقوش على العديد من المركبات الفعالة مثل

(SABINENE, LINALOOL, CARVACROL, THYMO, APIGENIN, QUERCETIN, TERPINOLENE).

[7] .

وتشير الدراسات العلمية إلى إن نبات المردقوش له تأثير مضاد للاكسده مثله مثل مضادات الاكسده الأخرى كما أثبتت أبحاث أخرى إن التأثير المضاد للاكسده لنبات المردقوش يعود لمركب حمض الروزمارينيك وهو مركب مضاد للبكتريا كما وجد إن مركبات هذا النبات تمنع تهتك الخلايا ومضاد للفيروسات ومزيل للألم ومطهر. [8].

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

اولا : عزل الفطريات المرافقة لأعلاف الدواجن

تم جمع خمسة عينات من اعلاف الدواجن و اثنان من الاسواق المحلية و ثلاثة من حقول الدواجن الموجودة في منطقة جاز الله و بمعدل 250 غم لكل عينة . و لغرض عزل الفطريات من هذه العينات اتبعت طريقتين للعزل و على هذا الاساس قسمت كل عينة الى قسمين : -

1 – الطريقة الاولى : - وزن (1) غم من كل عينة و خفف في (1000) مل من الماء المقطر ثم اخذ (1) مل من كل تخفيف و وضع في اطباق بتري البلاستيكية ثم صب عليه الوسط الزراعي بعد تبريده الى درجة 45 م تقريباً . عملت ثلاثة مكررات لكل عينة من العينات الاربعة للأعلاف و على الوسط الزراعي (SDA) .

2 – الطريقة الثانية : - زرع الاعلاف بشكل مباشر على اطباق حاوية على وسط زرع متصلب و ذلك بأخذ قطع من الاعلاف بطول 0.5 سم لكل قطعة حيث وضع في كل طبق ثلاثة قطع , عملت ثلاث مكررات لكل عينة من عينات الاعلاف و على الوسط الزراعي (SDA) .

تشخيص الفطريات

1 – التشخيص المظهري للمستعمرات

و تشمل شكل المستعمرة و لونها و حجمها و قوامها و الصبغة التي تنتجها من الجهة الخلفية للطبق. [9, 10].

2 - الفحص المجهرى للمستعمرات

وجود الابواغ الكونيدية الكبيرة و الصغيرة و شكلها و عدد الخلايا . و يتم ذلك بنقل جزء صغير من المستعمرة الفطرية باستعمال الابرة معقمة الى قطره من صبغة اللاكتوفينول على شريحة زجاجية نظيفة اذا سخنت الشريحة بعد وضع غطاء الشريحة بإمرارها قليلا على لهب مصباح بنزن بعدها تركت الشريحة لمدة 30 دقيقة ثم فحصت تحت المجهر على القوة 100X و 40X لملاحظة الصفات المجهرية للعزل الفطري و التراكيب التكاثرية التي ينتجها الفطر. [10].

حساب النسبة المئوية للتردد

حسبت النسبة المئوية للتردد كل نوع من انواع الفطريات المعزولة اعتماداً على المعادلة التالية. [11].

$$\text{النسبة المئوية للتردد} = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{100} \times$$

العدد الكلي لعزلات جميع الانواع

ثانيا : جمع العينات النباتية

تم الحصول على العينات النباتية لغرض اختيار فاعلية مستخلصها المائي ضد الفطريات المعزولة , وذلك بشرائها من الأسواق المحلية في محافظة بابل ثم طحنت الأجزاء النباتية بمطحنة كهربائية و تم حفظها في أوعية بلاستيكية محكمة الغلق ومعقمة ونظيفة في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م وحين الاستعمال.

المستخلصات النباتية

تم تحضير نوعين من المستخلصات المائية ;

أ- تحضير المستخلص المائي لنبات المردقوش.

ب- تحضير المستخلص المائي لنبات الفلفل الأسود.

تم طحن البذور كل على حدة بصورة ناعمة ووضعت في قناني زجاجية نظيفة , وبعد ذلك اخذ(10)غم من المسحوق النباتي وتم وضعه في ورق مخروطي سعة(100)مل , ويضاف له 20 مل من الماء المقطر المغلي وترك ليبرد مع التحريك المستمر, ثم رشح المحلول عبر طبقات من الشاش ثم ورق الترشيح, واخذ الراشح وتم تجفيفه بواسطة الفرن الكهربائي بدرجة حرارة (45-50) م ° لحين الحصول على كمية كافية من المستخلص ثم جمع المسحوق وحفظ في قنينة زجاجية نظيفة ومعتمه ووضع في الثلاجة بدرجة(4) م لحين الاستعمال.[12].

اختبار الفاعلية التضادية للمستخلصات النباتية في نمو الفطريات قيد الدراسة.

اتبعت طريقة[13] إذ تم مزج المستخلصات النباتية مع الوسط ألزري سابرو يد دكستروز أكار الذائب والمبرد إلى درجة (50) م بتركيز (12.5%, 50%, 100%) ملغم/مل وبمعدل 3 مكررات لكل تركيز وبعد تصلب الوسط ألزري تم وضع قرص بقطر 2 ملغم من المستعمرات الفطرية لفطر *Aspergillus niger* و *Aspergillus terrus* و *Mucor* النامية على أعلاف الدواجن , وحضنت الأطباق بدرجة حرارة (28-30) م ولمدة (1-2) اسبوع وتم قياس قطر المستعمرة النامية وسجلت النتائج .

وتم حساب نسبة التثبيط باستخدام المعادلة التالية

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{معدل قطر الفطر في اطاق المقارنه} - \text{معدل قطر الفطر في اطاق المعاملة}}{100} \times 100$$

النتائج والمناقشة:

تم في هذا البحث عزل و تشخيص 8 انواع تابعة الى 6 اجناس من عينات اعلاف الدواجن كما مبين في الجدول (1) و قد لوحظ ان انواع الفطر *Aspergillus* اعطت اعلى نسبة تردد مقارنة مع الاجناس الاخرى و نلاحظ من الجدول ان الفطر *Asp. niger* اعطى اعلى نسبة تردد بلغت 0.47 يليه النوع *Asp. flavus* حيث بلغت نسبة تردده 0.31 بالإضافة الى نوع الجنس *penicillium* و هذا يتوافق مع العديد من الدراسات , فمن 100 عينة من اعلاف الدواجن تم عزل عدد من اجناس الفطريات و قد كانت الفطريات *Aspergillus* و *penicillium* و *Mucor* اكثر ترددا و خاصة الانواع *A.niger* و *A.terrus*. وقد درست بعض الانواع الفطرية المعزولة من اعلاف الدواجن مثل الانواع *Aspergillus flavus* و *A.niger* و نوعين من الفطر *penicillium* هما *P. verrucosum* و *P. chrysogenum* و قد لاحظ تأثيراتها السمية على الكبد و الكلية في اجنة الدجاج عند تحضير مقاطع نسيجية منها .[14].

جدول (1) يبين الفطريات المعزولة من أعلاف الدواجن و نسب تردها .

ت	اسم الفطر	عدد المستعمرات التي ظهرت في اعلاف الحقول	نسبة التردد	عدد المستعمرات التي ظهرت في اعلاف الاسواق	نسبة التردد
1	<i>Asp . flavus</i>	54	0.31	2	0.01
2	<i>Asp . niger</i>	72	0.47	30	0.4
3	<i>Asp . terrus</i>	20	0.09	20	0.23
4	<i>Candida albicans</i>	2	0.009		
5	<i>Cladosporium sp</i>	21	0.10	18	0.20
6	<i>Penicillium sp</i>			15	0.16
7	<i>Rhizopus sp</i>	5	0.02		
8	<i>Mucor sp</i>	50	0.28	20	0.23
المجموع		224	1.279	105	1.23

اختبار تأثير مستخلص المردقوش المائي على الفطريات قيد الدراسة

اظهر مستخلص المردقوش المائي تأثيرا واضحا في نمو وحيوية الفطريات اذ تبين ان التأثير اعتمد على نوع العزلة الفطرية المختبرة وعلى تركيز المستخلص فقد اظهر المستخلص فعالية تثبيطية عالية اتجاه الفطر *Asp. niger* في جميع التراكيز المستعملة (100,50,25)

وبذلك نلاحظ ان معدل اقطار نمو المستعمرات يتناسب عكسيا مع تركيز المستخلص اذ ظهرت نسبة تثبيط في تركيز (100) سجلت 100% وفي تركيز (50) سجلت 80% وفي تركيز (12.5) سجلت 47.14%.

وتم تحليل التجربة احصائياً بطريقة L.S.D. على مستوى احتمالية 0.05 [15].

-اختبار مستخلص الفلفل الأسود المائي على الفطريات قيد الدراسة

اظهر مستخلص الفلفل الأسود المائي تأثيرا واضحا في نمو وحيوية الفطريات اذ تبين أن التأثير اعتمد على نوع العزلة الفطرية المختبرة وعلى تركيز المستخلص فقد اظهر المستخلص فعالية تثبيطية عالية اتجاه فطر *Asp. niger* في جميع التراكيز المستعملة (100,50,12.5) وبذلك نلاحظ ان معدل اقطار نمو المستعمرات يتناسب عكسيا مع تركيز المستخلص اذ ظهرت نسبة تثبيط في التركيز الاول 42.86% وفي التركيز الثاني 39.28% وفي التركيز الثالث 21.43% قطر الفطر control (السيطرة) لفطر *Asp. niger* سجلت 7 سم. وتم تحليل التجربة احصائياً بطريقة L.S.D. على مستوى احتمالية 0.05 [15].

اظهرت النتائج ان اعلاف الدواجن في الحقول في ناحية القاسم في محافظة بابل كانت ملوثة بنسبة 60 % بالفطر *Aspergillus sp* و ايضا تلوث بالفطريات *penicillium sp* و *mucor sp* ، حيث كانت نسبة تلوثها أقل .

نستنتج من ذلك ان نسب التلوث عالية في الاعلاف الملوثة بالفطريات حيث بلغت نسبة تردد الفطر *Asp. niger* 0.47 و هي اعلى نسبة تردد و بلغت نسبة التردد الفطر *Candida albicans* 0.009 و هي أقل نسبة تردد ، و هذه الفطريات تكون منتجة للسموم الفطرية و يدخل السم الفطري الى اعضاء جسم الحيوان عن طريق التغذية على العلف الملوث و يتم امتصاص جزء من السم و يطرح الجزء الاخر مع الفضلات و يصل الجزء الممتص الى الكبد حيث يتم توزيعه عن طريق الكبد الى اعضاء الجسم كافة و يتحول في الكبد الى مواد سامة في الدم مثل مادة ايبوكسيد و هي مادة ذات قابلية على الاتحاد مع الاحماض النووية R N A و D N A وتكون ذات تأثيرات مسرطنة ، و تنتج في الكبد مادة وسطية تسمى Dihydroel و هذه المادة تمتلك صفات مسرطنة ايضا [3]، [16]، [17].

أما معدلات نسب التلوث في الاعلاف التي تباع في الاسواق المحلية بأجناس الفطريات حيث بلغت نسبة التردد *Asp. niger* 0.4 و هي أعلى نسبة و الفطر *Asp. falvus* بلغت نسبة ترده 0.01 و هي أقل نسبة تردد التي تلوث أعلاف الاسواق في ناحية القاسم.

نستنتج من نتائج الدراسة ان الاعلاف في الاسواق المحلية ملوثة باجناس من الفطريات المنتجة للسموم الفطرية و الخطرة على حياة الانسان مسببة لها سرطان الكبد و الكلية و الجهاز العصبي نتيجة التغذية على اللحوم و الحليب الملوثين في السموم الفطرية بصورة غير مباشرة من تغذية الحيوانات المجترة على الاعلاف الملوثة بالفطريات [18] . و اوصت المنظمة العالمية بأن لا يتجاوز حدود السموم عن (20) p.p.p / كيلو غرام من الغذاء و الاهتمام بخزن اعلاف ضمن ظروف الخزن القياسية ، و تقدير كميات السموم الفطرية في الاعلاف بين فترة و اخرى للتأكد من سلامة هذه الاعلاف من تلوثها بالسموم الفطرية [16].

أظهرت النتائج أن المستخلص المائي الحار للفلفل الأسود له تأثير كبير في تثبيط فطر *Aspiggellus terrus* وقد بينت جميع التراكيز المستعملة زيادة في معدل قطر التثبيط مقارنة بالسيطرة . وكانت الزيادة في معدل قطر التثبيط ذات علاقة طردية مع زيادة التركيز . ربما يعود السبب في ذلك لقدرة الفلفل الأسود في مقاومة المايكرو بات وقدرته على تقليل إنتاج الأحياء المهجرية. [19]. وتوجد فروق معنوية بين التراكيز والفطريات كما في جدول (2).

أما نتائج المستخلص المائي الحار للمردقوش فقد أظهرت الدراسة أن جميع تراكيز المستخلص المائي الحار للمردقوش ذات كفاءته عالية في تثبيط نمو *Aspiggellus terrus* وكانت التراكيز المستعملة زيادة في معدل قطر التثبيط إذا ازدادت نسبة التثبيط بزيادة المستخلص جدول (2). يمتلك المردقوش عدد من الكيمائيات النباتية بضمنها تلك المضاد للأحياء المهجرية ويلاحظ أن المستخلص المائي للمردقوش له فعالية تثبيطية ضد فطر *Asp. terrus* وذلك بسبب وجود الزيوت العطرية والمركبات الفينولية في مقدمة هذه الكيمائيات. [20]. لا توجد فروق معنوية واضحة في التجربة كما في جدول (2).

جدول (2) يبين معدل قطر تثبيط مستخلص الماء الحار لنبات المردقوش والفلفل الأسود اتجاه الفطر المعزولة مستوى احتمالية 0.05 حيث L.S.D.: للفلفل الاسود 0.0257 و L.S.D. للمردقوش 0.0152.

مستخلص الفلفل الاسود			مستخلص المردقوش			العزله
25	50	100	25	50	100	A.terrus
22	40	45	48	85	100	
35	45	55	20	60	80	A . nige
30	45	50	50	50	75	Mucor sp

الاستنتاجات

- 1- أن لمستخلص المردقوش المائي تأثير واضح في تثبيط فعالية الفطر *Aspiggells terrus* وفي جميع التراكيز
- 2- أن لمستخلص الفلفل الأسود المائي تأثير واضح في تثبيط فعالية الفطريات وفي جميع التراكيز.
- 3- أن معدل نمو المستعمرات الفطرية يتناسب عكسيا مع تركيز المستخلص المستخدم.
- 4- أن معدل تثبيط المستعمرات الفطرية يتناسب طرديا مع تركيز المستخلص المستخدم.

التوصيات

- نظرا لخطورة الفطر *Aspiggells terrus* وسرعة نموه وخاصة في أعلاف الدواجن لذلك نوصي بإجراء مجموعة من الدراسات لمقاومة هذا الفطر وحماية الأعلاف وغيرها من التلف الذي يحدثه هذا الفطر.
- لذلك نوصي بالدراسة الحالية :
- 1- استخدام المستخلص الكحولي لنبات المردقوش في مكافحة الفطريات وبتراكيز مختلفة.
 - 2- استخلاص المركبات الفعالة لنبات المردقوش والفلفل الأسود في تثبيط نمو الفطريات.
 - 3- إجراء دراسات مستقبلية حول استخلاص المركبات الفعالة لنبات المردقوش ومعرفة فعاليتها على نمو الفطريات .

المصادر

1. EL Astal, Z. Y.; Ashour, A. and Kerit, A. A. M. (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts in palestine. Pak Jmed. Sci. 21 (2); 187-193.
2. المشهدي,خلود عبد المجيد,محمد جعفر.(2011).الفعالية الحياتية لبعض المستخلصات النباتية والعامل الإحيائي *Pseudomonas fluorescens* على البكتريا *Erwinia carotovora* المسبب لمرض التعفن الطري على البطاطا.رسالة ماجستير. الكلية التقنية.المسيب.
3. محمود ، عماد الدين ، (2010) . السموم الفطرية و تأثيرها على الصحة العامة ، معهد امراض النبات ، مركز البحوث الزراعية القاهرة ، جمهورية مصر العربية.
4. ابو زناده ، غادة محمد ، (2007) . السموم الفطرية لبعض سلالات *Aspergillus* و *Penicillium* السامة على بذور البن في المملكة العربية السعودية ، رسالة ماجستير كلية علوم ، جامعة الملك عبد العزيز.
5. تومس ، امال رمزي ، (2011) ، الافلاتوكسين مشكلة حقلية بمزارع الابقار . معهد بحوث صحة الحيوان ، القاهرة .

6. **Aqil, F.; Ahemed, I & Mehmood, Z. (2006).** Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used ndian medicinal plants. Turk. J. Biol., 30:177-183
7. **Kulisc, T.; Krist, A.; Dragovic-Uzelac, V.; Milos, M.; pifat, G. (2007).** The effect of essential oils aqueous tea infusions of oregano (origanum Vuglare L. SPP. Hirtum) Thyme(Thyme Vuglare L.)and wild Thyme (Thymus serpyllum L.) on the copprr-induced oxidation of human Low-density Lipoproyeins. Int. J. food Sci. Nat. 58(2):87-93.
8. رويحة،امين.(1998).التداوي بالأعشاب. الطبعة الثانية.دار الأندلس – بيروت.
9. **Koneman, E. W.; Roberts, G. D. and Wright, S. E. (1978).** Practical laboratory mycology. 2nd edition, Williama and Wilkins com.pany Baltimor .USA.
10. **Kwon-Chung, K. j. and Bennett, J. E. (1992).** Medical Mycology. Williams and Wilkins Company, pp. 105-161
11. **Krebs, C.J. (1978).** Ecology: The Experimental Analysis Distribution and Abundance. Harper and Row Publisher, New York.
12. **Ahmed, I. ; Mehmood, Z. Mohammad,F. (1998).** Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobiak properties . J. Enthnopharmacole. 62: 183- 193.
13. **EL-Kady, I.A ; Mohamed,S.S, Mostafa,E. M. (1993).** Antipacterial and antidermatophyte activities of some essential oils from spices. Qatar . Univ. Sci. J. 13(1): 63-69.
14. الجبر ، حميد محمد . (2005). تأثير الفطريات المفرة للسموم على العلائف . رسالة ماجستير ، جامعة صنعاء . اليمن .
15. الراوي ، خاشع محمود و خلف الله عبد العزيز محمد . (2000). تصميم و تحليل التجارب الزراعية ، دار الكتب للنشر . جامعة البصرة
16. حمزاوي ، لطفي . (2011). السموم الفطرية عن طريق الاغذية قسم علوم الاغذية ، جامعة عين الشمس ، مصر
17. **Broderick , G . A .(2006).** nutritional strategies To reduce crnde protein in dairy diets , Dairy , Sci , 88: 1542 – 155
18. **Schlegelova , J ., Naprarnikova , E. Dedis , M . Benedick , J . Babat . V . Elimova , E. N . avratiova , p . and Snstakova . A .(2004) .** Beef carcass contamination in aslaughter hones and prevalence of resistance to antimicrobial drugs in isolates of selected microbial species , meat Sci,66: Issne 3 , 557 – 567 .
19. **Aymerch, T.; Artigas, M. C.; Garriga .M. and monfovtis M. (2000).** Effect of sausage ingredients and additires on the production of entieroins.A and B by E nterococcus faecium ets 492. optimization of invitro production and ontilisterial effect in dry fermented sausages. J. APPL. Microbial. 88:686-694 .
20. عفيفي، فتحي عبد العزيز (2005). المستخلصات النباتية والفعالية البايولوجية، الطبعة الأولى. مكتبة الثقافة الدينية. ص 3880.