تشخيص الفطريات المحمولة ببذور العدس و تحديد المنتجة لسموم الافلا

م.م.هبة هادي طه
جامعة الموصل / كلية العلوم / قسم علوم الحياة

م. خديجة احمد سيدو
جامعة دهوك/ كلية الزراعة / قسم وقاية النبات

(قدم للنشر في ٢٠١٨/٩/١٦ ، قبل للنشر في ٢٠١٨/١٢/٤)

ملخص البحث: تم عزل الفطريات من ٣ اصناف من العدس *Lens exculenta* وهي اوليت السوري وعدس نينوى وعدس البركة بطريقتين الاولى على وسط PDA والثانية على اوراق الترشيح المبللة . كانت اعلى نسبة مئوية للتردد لفطر*Alternaria alternata* لكلا طريقتي العزل من صنف عدس اوليت السوري وكذلك بالنسبة لعدس نينوى وعدس البركة في كلا الطريقتين كانت اعلى نسبة تردد لفطر *Penicillium sp.* كما اتضح عزل الفطر *Aspergillus flavus* المنتج للافلاتوكسين من كلا صنفي عدس البركة وعدس نينوى وكانت اعلى نسبة تردد لعزل الفطر من عدس البركة (6.67) بطريقة العزل على PDA اما العزل على اوراق الترشيح المبللة عزل الفطر *A.flavus* من عدس البركة وعدس نينوى وكانت اعلى نسبة لتردد الفطر١٠ % المعزول من عدس البركة . اظهرت النتائج قابلية عزلات الفطر *A. flavus* على انتاج سموم الافلا حيث كانت اقوى العزلات في انتاج سموم الافلا هي عزلة صنف عدس البركة . النسبة المئوية لإنبات البذور واصابتها بمقارنة الاصناف الثلاثة وجد ان الصنف عدس البركة تميز بنسبة انبات اعلى من الصنفين الاخرين ١٠٠% و٩٠% على اوراق الترشيح المبللة ووسط PDA على التوالي .

الكلمات المفتاحية : نبات العدس ، سموم الافلا ،فطريات ، *Aspergillus flavus* .

Diagnoses of lentil seed borne fungi and determined fungi produced aflatoxins

Abstract: The fungi were isolated from 3 cultivars of lentils: Syrian oleat, lentil of Nineveh and lentil al-Baraka in the first two ways on the PDA medium and the second on the wet filter papers. The highest percentage of frequency for *Alternaria alternata* was for both isolating methods of Syrian lentil and for Nineveh lentil with albaraka lentil for both isolating method the highest frequency of *Penicillium* sp. was found Isolation of the fungus *Aspergillus flavus* The product of *aflatoxin* from both types of lentil albaraka and the lentil of Nineveh and the highest frequency of isolation of the fungus from the lentil of the albaraka (6.67) on the PDA ,while Isolation on the wet filtration papers isolate the *A.flavus* of lentils of the albaraka and the lentils of Nineveh and the highest frequency ratio (10%) isolated from lentils of albaraka. The results showed the A. flavus to the production of the aflatoxin. The strongest isolates in the production of Afla toxin were isolating from the lentil albaraka . The percentage of seed germination and infection by comparing the three cultivars was found lentil albaraka to be higher than the other two varieties, 100% and 90%, respectively.

Key word :lentil , aflatoxin , fungi , *Aspergillus flavus* .

المقدمة

العدس من عائلة Leguminasceae ، يزرع في التربة الطينية الرملية ويمكن أن يزرع في تربة تعاني من نقص المغذيات ،العدس مقاوم للجفاف ويمكن أن يزرع في الترب المالحة. بذور العدس غنية بالبروتين بنسبة ٢٦ ٪ ومع ذلك ، هناك نقص في بعض الاحماض الأمينية بما في ذلك الميثيونين والسيستين (Muehlbauer *etal*.,2002) . العدس هو مصدر جيد لفيتامين B والمجموعات الأخرى في حين أن المعادن تشمل الكالسيوم ، الفوسفور والصوديوم والبوتاسيوم . . . الخ ، العدس هو واحد من أكثر الأطعمة الصحية وتعتبر من افضل المحاصيل كمصدر للحديد وهو ضروري للمراهقين والحوامل Rahim (*etal*.,2010) .

تعد الفطريات احد اهم المسببات في تلف وفساد المحاصيل الزراعية بعد حصادها وتدني الانتاجية والخسائر الكبيرة في المحاصيل الزراعية وعمليات تصنيعها وتخزينها . وهناك عدد كبير من الفطريات التي تسبب امراضا عديدة للنباتات المهمة اقتصاديا و منها امراض الذبول و تعفن الجذور والتعفن الاسود والبني وامراض اللفحة والتبقع ,لكن اغلب هذه الامراض تكون محمولة بالبذور ثم تنتقل الى الاجزاء المختلفة للنبات بعد نموه (Abdullah and Al-Mosawi, 2010) .

توجد فطريات عديدة تابعة لأجناس مختلفة منها *Aspergillus* ، *Penicillium* ، *Cladosporium* ، *Fusarium* ، *Alternaria* ، *Drechslera* ، *Monilia* تكون محمولة بالبذور , وقد بينت بعض الابحاث ان انواع الجنس *Aspergillus* يعد الأكثر اهمية من حيث تكرار ظهوره واجتياحه لبذور العديد من النباتات منها الذرة الصفراء والذرة السكرية وعباد الشمس ويأتي بعدها انواع تابعة لفطريات *Alternaria* و *Fusarium* و *Curvularia* (*Alternaria* و *Fusarium* و *Curvularia* Akhtar,*et al* .,2007; Abdullah and Al-Mosawi, 2010; Ibiam and Egwu, 2011; Islam and Borthakur, 2012) ، في حين كانت انواع من *Fusarium* الأكثر ظهورا على بعض البقوليات مثل الفاصوليا و الحمص واللوبيا والعدس (Sarhan ,2009) . وتسبب هذه الفطريات، عند توفر الشروط المناسبة، تغيرات كمية ونوعية في التركيب الكيميائي لها بحيث تصبح غير صالحة للاستهلاك و ذات نوعية متدنية ، اضافة الى اصابتها بالعفن والتلف ،او قد تفرز هذه الفطريات سموما فطرية خطيرة وخاصة سموم

الافلا تؤدي الى التسمم الغذائي في حال تم استهلاكها (Satish,*et al* .,2007; Juber and Al-Aboloma and rubaiee,2008 ; Moriyike,2012) . فضلا عن تأثير هذه الفطريات في قدرة البذور على الانبات و حيويتها في خفض النسبة المئوية للإنبات (Begum *et al*.,2007; Juber and Al-rubaiee, 2008) .

يهدف البحث الى عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لبذور ثلاثة اصناف من العدس العدس وتحديد المنتج لسموم الافلا وتاثيرهذه الفطريات في نسبة انبات البذور وحيويتها .

المواد وطرائق البحث

عينات البذور

استخدم في هذا البحث ثلاثة اصناف من العدس (البركة ، نينوى ، اوليت السوري) تم الحصول عليها من دائرة بحوث الزراعية – دهوك ٢٠١٢ .

عزل الفطريات المحمولة على البذور

عزلت الفطريات المرافقة لبذور ثلاثة أصناف من العدس (البركة و نينوى واوليت السوري) :

١- طريقة العزل على الوسط الغذائي PDA) Potato Dextrose Agar)

تم أخذ ١٠٠ بذرة من بذور العدس لكل صنف وعقمت تعقيما سطحيا بوساطة هايبوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز ١ % لمدة ٣- ٥ دقائق وبعدها تم غسلها بماء مقطرمعقم وجففت بأوراق الترشيح (Whatman No.1) وتم زرعها على وسط PDA المصبوبة في أطباق بتري قطرها ٩ سم التي تحتوي على الوسط مضافا له المضاد الحيوي Streptomycin sulfate (٢٠٠ ملغم \ لتر) وبعدها حضنت بالحاضنة في درجة حرارة ٢٥ ± ٢ °م لمدة ٧ أيام بعدها تم فحص وتشخيص الفطريات النامية (Ramadan and Zrary,2014) .

٢- طريقة عزل على اوراق الترشيح المبللة Blotter Method

زرعت البذور بعد تعقيمها سطحيا بوساطة هايبوكلورات الصوديوم NaOClبتركيز ١ % لمدة ٣- ٥ دقائق، في اطباق بتري (٩ سم) معقمة حاوية ثلاث اوراق ترشيح (Whatman No.1) مبللة بالماء المقطر المعقم، بمعدل ١٠ بذور في كل طبق.

تم زراعة ١٠٠ بذرة في ١٠ أطباق وبمعدل ١٠ بذور لكل طبق ثم حضنت الاطباق بالدرجة ٢٥ ± ٢ °م لمدة ٧ ايام ، رطبت اوراق الترشيح بالماء المقطر المعقم كل ثلاثة ايام للحفاظ

على نسبة رطوبة مناسبة ، بعدها فحصت البذور المصابة بكلتا الطريقتين السابقتين ، كما تم حساب النسبة المئوية للإنبات والاصابة وفقا لـ (Abdullah and Al-Mosawi, 2010) كما يلي:

$$\text{نسبة الانبات (\%)} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور الكلي المستخدمة}} \times ١٠٠$$

$$\text{نسبة الاصابة (\%)} = \frac{\text{عدد البذور المصابة بالفطريات}}{\text{عدد البذور الكلي المستخدمة}} \times ١٠٠$$

تنقية وتشخيص الفطريات :-

بعد نمو الفطريات المعزولة من البذور بالطريقتين السابقتين تم اخذ جزء من نهايات الغزل الفطري ونقلها الى اطباق بتري محتوية على الوسط الغذائي Potato Dextrose Agar المعقم وبعد نموها تم تشخيص الفطريات المعزولة باستخدام المجهر المركب لمرتبة الجنس (Barnett and Hunter,2006) ولمرتبة النوع استنادا الى (Booth , 1971; Ellis,1971; Boerema and Maria,1973;Raper *etal*.,1977;Domsch *etal*.,1980; Leslie and Summerell,2006).

طريقة الكشف السريع لا نتاج سموم الافلا من قبل سلالات الفطر *Aspergillus flavus*

طريقة كشف سريعة لمعرفة انتاج سموم الافلا من قبل الفطر *Aspergillus flavus* اعتمادا على تغير اللون ببخار الامونيا (Ammonia vapor) كما اكد من قبل (١٣) . حيث اختبر الفطر على الوسط المحضر من حليب جوز الهند بمقدار ٣٠٠ مل / لتر مع ٢٠ غم من مادة الاكار Coconut agar(COA) . تم تحضير الوسط طبقا لطريقة (Davis *et al.* , 1987) .

نقل قرص الفطر على الوسط المصبوب في اطباق بتري بقطر ٩ سم وحضنت الاطباق تحت درجة الحرارة ٢٥ °م لمدة ٧ ايام. لملاحظة تغيير لون المستعمرة بعد التحضين ووضعت الاطباق

بشكل مقلوب وثم وضع شريط من ورق الترشيح المشبعة ببخار الامونيا وتركت الاطباق لمدة ساعة و ٢٤ ساعة , المستعمرة المنتجة لسموم الافلا تلونت بلون وردي . وكررت التجربة بعشرة مكررات لكل سلالة من الفطر (Satito and Machido , 1999) .

النتائج والمناقشة

يبين الجدول (١) عزل الفطريات من ٣ أصناف من العدس وهي اوليت السوري وعدس نينوى وعدس البركة حيث تم عزل على وسط PDA الفطريات *Aspergillus niger* و.sp *Penicillium* و *Alternaria alternata* و *Cladosporium herbarum* من عدس اوليت السوري وكانت اعلى نسبة تردد للفطر *Alternaria alternata* (٥٤.١٧) % وا قل نسبة تردد للفطر *A.niger* (٤.١٧) % . وعزل الفطريات *Aspergillus flavus* و *A.niger* و.sp *Penicillium* و *Alternaria alternata* و *Macrophomina phaseolina* و *Rhizopus stolonifer* و *Rhizoctonia solani* من عدس نينوى وكانت اعلى نسبة تردد للفطر *Penicillium* sp. (٦٢.٦٩)% واقل نسبة تردد للفطرين *A.flavus* و *Rhizoctonia solani* (١.٤٩)% .وعزلت الفطريات *A.flavus* و *A.niger* و *Aspergillus terreus* و *Penicillium* sp. و *Macrophomina phaseolina* و *Cladosporium herbarum* و *Rhizopus stolonifer* و *Fusarium oxysporium* من صنف عدس البركة وكانت اعلى نسبة تردد للفطر *Penicillium* sp. (٦٦.٦٧)% واقل نسبة تردد للفطريات *A.niger* و *A.terreus* و *F.oxysporium* (2.22) % .

تم احتساب النسبة المئوية لتردد الفطريات وفقا لـ (Akhtar etal.,2007), كما يلي :-

عدد المستعمرات للفطر

نسبة تردد الفطر (%)= ---------- * 100

عدد المستعمرات الكلي

الجدول ١. النسبة المئوية لتردد الفطريات لكل صنف من اصناف العدس بطريقة العزل على PDA.

الفطريات المعزولة	%لتردد الفطريات		
	عدس اوليت	عدس نينوى	عدس البركة
Aspergillus flavus	-----	1.49	6.7
Aspergillus niger	4.17	19.4	2.22
Aspergillus terreus	------	-------	2.22
Penicillium sp.	8.33	62.69	66.67
Alternaria alternata	54.17	2.99	------
Macrophomina phaseolina	-------	7.46	------
Cladosporium herbarum	33.33	--------	13.3
Rhizopus stolonifer	-------	4.48	6.67
Rhizoctonia solani	------	1.49	------
Fusarium oxysporium	------	------	2.22

عزلت الفطريات *A.niger* و .*Penicillium* sp و *Alternaria alternata* و*Rhizopus stolonifer* و.*Stemphlium* sp على اوراق الترشيح المبللة من صنف عدس اوليت السوري وكانت اعلى نسبة تردد للفطر *Alternaria alternata* (٤٤.٤٤) % وعزل الفطريات *A. flavus* و *A.niger* و *Penicillium* sp. و *Macrophomina phaseolina* و *Rhizopus stolonifer* و *Rhizoctonia solani* من عدس نينوى وكانت اعلى نسبة تردد لفطر .*Penicillium* sp (٣٨.٨٩) % واقل نسبة تردد للفطرين *Macrophomina phaseolina* و *Rhizoctonia solani* (٣.٧)% . وعزلت الفطريات *A. flavus* و .*Penicillium* sp و *Rhizopus stolonifer* من صنف عدس البركة وكانت اعلى نسبة تردد للفطر .*Penicillium* sp (٨٥) % .

الجدول 2 . النسبة المئوية لتردد الفطريات لكل صنف من العدس بطريقة العزل على اوراق الترشيح المبللة .

الفطريات المعزولة	% تردد الفطريات		
	عدس اوليت السوري	عدس نينوى	عدس البركة
Aspergillus flavus	-----	7.41	10
Aspergillus niger	١٠.٧٦	37.04	------
Penicillium sp.	23.14	38.89	85
Alternaria alternata	44.44	-----	------
Macrophomina phaseolina	------	3.7	------
Rhizopus stolonifer	١٠.٥٥	9.26	5
Rhizoctonia solani	------	3.7	------
Stemphylium sp.	11.11	-------	------

يتبين من الجدولين (١ و٢) انه من صنف العدس اوليت السوري كانت اعلى نسبة مئوية للتردد لفطر *Alternaria alternata* لكلا طريقتي العزل وكذلك بالنسبة لعدس نينوى وعدس البركة كانت اعلى نسبة مئوية للفطر *Penicillium* sp. في كلا الطريقتين . كما اتضح من الجدولين (١ و٢) عزل فطر *A. flavus* المنتج لـ *Aflatoxin* من كلا صنفي عدس البركة وعدس نينوى وكانت اعلى نسبة تردد لعزل الفطر من عدس البركة (6.67 %) بطريقة العزل على PDA اما العزل على اوراق الترشيح المبللة عزل الفطر *A. flavus* من عدس البركة وعدس نينوى وايضا كانت اعلى نسبة لتردد الفطر (١٠ %) المعزول من عدس البركة .

يبين الجدول (3) النسب المئوية لإنبات البذور واصابتها، وقد لاحظنا اختلافا في هذه النسب بين اصناف العدس من جهة، وبين طريقتي الزراعة من جهة اخرى، فقد كانت نسبة الانبات على

اوراق الترشيح المبللة اعلى بكثير من النسبة على وسط P. D. A. وذلك لأصناف الثلاثة من العدس حيث كانت نسبة انبات بذور الصنف عدس البركة ١٠٠ % و٩٠ % على اوراق الترشيح المبللة ووسط P. D. A. على التوالي، في حين كانت ٨٢ % و ٧٦ % للصنف عدس نينوى و ٨٧ % و ٧٠ % وللصنف عدس اوليت السوري، قد يعود السبب الى نسبة الرطوبة لعالية التي تميزت بها طريقة اوراق الترشيح المبللة (Sarhan , 2009) .

لكن بمقارنة اصناف الثلاثة وجدنا ان الصنف عدس البركة تميز بنسبة انبات اعلى من الصنفين الاخرين بكلتا الطريقتين ١٠٠ % و٩٠ % على التوالي .

الجدول 3. يوضح النسب المئوية لإنبات البذور المصابة لثلاثة اصناف من العدس

اصناف العدس	نسبة انبات البذور (%)		نسبة اصابة البذور (%)	
	اوراق الترشيح المبللة	وسط P.D.A.	اوراق الترشيح المبللة	وسط P.D.A.
عدس البركة	100	90	8	36
عدس نينوى	82	76	51	70
عدس اويلت السوري	87	70	22	3

فيما يتعلق بنسب اصابة البذور فقد لاحظنا انها كانت اقل لدى الصنف عدس البركة بنسبة ٨ % بطريقة اوراق الترشيح المبللة و ٣ % لعدس اويلت السوري بطريقة وسط P. D. A. . وكانت اعلى نسبة اصابة لصنف عدس نينوى بنسبة ٧٠ % بطريقة وسط P. D. A. مقارنة بأوراق الترشيح المبللة كانت ٥١ % . على الرغم من عملية التعقيم السطحي التي تعرضت لها البذور بهذه الطريقة .

اختبار قابلية عزلات الفطر *Aspergillus flavus* على انتاج سموم الافلا باستعمال بخار الامونيا

اظهرت النتائج قابلية عزلات الفطر *Aspergillus flavus* على انتاج سموم الافلا من خلال الفحص باستعمال طريقة بخارالامونيا مقدرة العزلات نفسها والبالغة ١٠ عزلات على انتاج السم (الجدول 4) ، وذلك من خلال تغير لون المستعمرة من اللون الابيض الى الوردي او الاحمر حيث كانت اقوى العزلات في انتاج سموم الافلا هي عزلة صنف عدس البركة اعتمادا على شدة ظهور اللون ، اذ يعتمد الاساس الحيوي في اختبار الامونيا على انتاج مجموعة من الصبغات الصفراء ذات التراكيب الكيميائية المختلفة التي تعد مركبات وسطية في مسار تخليق سموم الافلا ، وان هذه الصبغات تتحول الى اللون الاحمر عند اتحادها مع محلول قاعدي كهيدروكسيد الامونيوم او البوتاسيوم او بيكاربونات الصوديوم (Bhatnagar, *et al*. , 2003) .

الجدول 4 . قابلية عزلات ال فطر *Aspergillus flavus* على انتاج سموم الافلا بطريقة بخار الامونيا

اصناف العدس	العزلات	قابلية على انتاج سم سموم الافلا
عدس البركة	Aa A1	+
	Aa A2	+
	Aa A3	–
	Aa A4	+
	Aa A5	+
عدس نينوى	BbB6	+
عدس اوليت السوري	-	–

اتضح من هذه النتائج ان العزلات الاقوى انتاجا للسم اعطت نتيجة موجبة للاختبار بعد ساعة واحدة من الحضن عند الحرارة ٢٧ م ° ، اما العزلات الاقل انتاجا للسم فقد اعطت النتيجة الموجبة بعد ٢٤ ساعة من الحضن عند درجة الحرارة نفسها ، وقد

يعود السبب في ذلك الى اختلاف القابلية الوراثية للعزلات الفطرية على انتاج سموم الافلا (Zimmerli and Dick , 1996) .

REFERENCES

Abdullah, S.K. and K.A., AL-Mosawi (2010) Fungi associated with seeds of Sunflower (*Helianthus annus*) cultivars grown in Iraq. Phytopathologia. 57:11-20.

Aboloma, R.T. and E.M., Moriyk (2012) Fungi associated with Irvingia *gabonensis* (Ogbono) and *Colocynthis citrullus* (Egusi) seeds sold in markets in Ado-Ekiti , Ekiti state Nigeria. J. Nat. Prod. Plant Resour.2 (3): 423-426.

Akhtar, N.; J.H., Mirza, R., Bajwa and A., Javaid (2007) Fungi associated with seeds of some economically important plants. Mycopath.5(1): 35-40.

Begum, M.M.; M.,Sariah,M.A.,ZainaLbidin,A.B., Puteh and M.A., Rahman (2007) Histopathological studies on Soybean seeds infected by *Fusarium oxysporum* f.sp. glycine and screening of potential biocontrol agents. Res. J. Microbiol. 2,: 900-909.

Bhatnagar, D.; K.C., Ehrlich and T.E., Cleveland **(**2003) Molecular genetic analysis and regulation of aflatoxin biosynthesis. Appl. Microbiol. Biotechnol., 61: 83-93.

Boerema, G.H. and M.M.J., Maria (1973) The *phoma* and *Ascochyta* species described by Wollen weber and Hochapfel is Study on Fruit – rotting . planten ziekten Kundige Dinst (PD) Wageningen-Study in Mycology ,No .3.49 pp.

Booth, C. (1971) The Genus *Fusarium* . Commonwealth

Campalla. Agric.Biol.J.N.Am.,2(4): 598-602.

Islam, N.F. and S.K., Borthakur (2012) Screening of mycota associated with *Aijung* rice seed and their effects on seed germination and seedling vigour. Plant pathology and Quarantine.2(1): 75-85.

Juber, K.S. and H.A., AL-Rubaiee (2008) Detection of the fungus *Aspergillus* and its toxins associated with Cotton seeds and Cakes and evaluation of their effects on seed germination. The Iraqi journal of Agricultural Science.39(4): 1-14.

Leslie,J.f. and B.A., Summerell (2006) the *Fusarium* Laboratory Manual . Black well Publishing . 388 pp.

Muehlbauer,F.J.; R.J., Summerfield, W.J., Kaiser, S.L.,Clement, C.M., Boerboom, M.M., Welsh- Maddux and R.W., Short (2002) principles

Mycological Institute Kew , Surrey , England . 237 pp.

Davis, N. D.; S.K., Iyer and U. L., Diener (1987) Improved method of screening for aflatoxin with a coconut agar medium. Appl. Environ. *Microbiol*. 53:1593-1595.

Domsch, K.H .; W. Gams and T.H., Anderson (1980) Compendium of Soil Fungi Academic Press . 859 pp .

Ellis,M.B. (1971) Dematiaceous Hyphomycetes .Common Wealth Mycological Institute , Kew ,Surrey , England .603 pp.

Ibiam ,O.F.A. and B.N., Egwu(٢٠١١)Post-harvest seed-borne diseases associated with the seeds of three varieties of groundnuts , (*Arachis hypogaeal*) Nwakara , Kaki, and

and practices of lentil production . United states Department of Agricuture.pp.1-11.

Rahim,S.; S., Dawar and M.,Tariq (2010) Mycoflora Associated with Leutil(Lens culinaris ,L.) seeds of Pakistan Department of Botany ,University of Karach., Pakistan. Pak.J. Bot ., 42(6) : 4345-4352.

Ramadan,N.A. and T.J,O., Zrary (2014) Isolation, Identification and Pathogenicity of seed borne fungi of some barley cultivars. Journal of Zankoy sulaimani- part A, special Issue.vol.16

Raper, K.B. ; D.I., fennell and P.K.C., Austwick (1977) the Genus *Aspergillus* . Puplishing Compan Huntington , New York . 684 pp.

Saito,M. and S., Machida **(**1999) A rapid identification method for aflatoxin producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. Mycoscience, 40: 205-208.

Sarhan, A.R.T (٢٠٠٩) Identification of the seed borne fungi associated with some leguminous seeds and their biological control in Iraq. Arab J. of Plant Protect.. 27: 135-144.

Satish,S.;D.C.,mohana,M.P.,Raghavendra and K.A.,Veesha(٢٠٠٧) Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp. J. of Agric. Technol**. l.3**(1): 109-119.

Zimmerli, B. and R., Dick (1996) Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. Food Additives and Contaminants, 13: 655-668.