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 جار 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 ترددهما على التوالي 0.31 %و 0.28 %.

تم دراسة تأثير مستخلص نبات المردقوش (marjoram)والفلفل 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 اتجاه فطر *Aspirgellus terrus* فظهرت نسبة تثبيط مستخلص المردقوش بتركيز 100% سجلت100 ملم ولمستخلص الفلفل الأسود بتركيز100%سجلت 45 ملم اما الفطر *Aspergillus _niger* و*Mucor_* كانت نسبة التثبيط بمستخلص المردقوش والفلفل الأسود بالتركيز 100%كانت على التوالي 75،80 و50،55 . حيث تزداد نسب التثبيط بزيادة التراكيز المائية 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% registered100mm , 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 and50, 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 الإعشاب في العالم كله، ففي الولايات المتحدة وصلت هذه الزيادة 380% بين عام 1990_1997، إذ إن بعض هذه الإعشاب تحوي على مركبات فعاله مثل الزيوت العطرية والفينولات والالديهايدات والقلويات وغيرها التي كان لها العديد من التطبيقات العلاجية ضد إمراض عديدة متسببة من البكتريا والاعفان أو الفيروسات.[1].

تعتبر المستخلصات النباتية أساسا للعديد من الصناعات الغذائية سواءا للاغذية 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 الفيوزاريم و التريكوداريم مجموعة سموم الترايكوميثين التي تحدث خللا في خلايا المخ و العقد اللمفاوية [3] .

تم عـزل 3701 مستعمرة فطــرية على بيئة Potato Dextrose Agar (PDA) و Malt Extra Agar (MEA) من قبل الباحث [4] و اختيرت منها 79 عزلة من الجنسين Aspergillus و Penicillium وتم فحص انتاج السموم باستخدام الواح الكروماتوكرافي (T L C) ، حيث انتج الفطر Aspergillus Flavus الافـلاتوكسين G 1 و انــتج الفــطر . Asp ochraceus ، الاوكراتوكسين A و انتج الفطر Pencillium ســـم البايتــولـــــين .

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 إستفادة 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 للفلفل الأسود ذو فعاليه مضادة للميكروبات، والمستخلص ألمثيلي للفلفل الأسود ذو فعاليه للاكسده لاحتوائه على مركبات (ISOFLARONES,FLARONES,FLAFONOID,COUMARINATHOCY .[6].CININ)

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 جار الله و بمعدل 250 غم لكل عينة . و لغرض عزل الفطريات من هذه العينات اتبعت طريقتين للعزل و على هذا الاساس قسمت كل عينه 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 الزرعي بعد تبريده الى درجة 45 م تقريباً . عملت ثلاثة مكررات لكل عينة من العينات الاربعة للأعلاف و على الوسط الزرعي (SDA).

2 – الطريقة الثانية : - زرعت الاعلاف بشكل مباشر على اطباق حاوية على وسط زرعي 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 الزرعي (S D A).

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 المجهري 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 المجهريه للعزل الفطري و التراكيب التكاثرية التي ينتجها الفطر. [10].

حساب النسبة المئوية للتردد

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

$$\text{النسبة المئوية للتردد} = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{\text{العدد الكلي لعزلات جميع الانواع}} \times 100$$

ثانيا : جمع العينات النباتيه

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 حرارة4 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 دورق 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 كافيه من المستخلص ثم جمع المسحوق وحفظ في قنينة زجاجيه نظيفة ومعتمه ووضع في الثلاجة بدرجة(4) م لحين الاستعمال.[12].

اختبار الفاعلية التضادية للمستخلصات النباتية في نموالفطريات قيد الدراسة.

اتبعت طريقة[13] إذ تم مزج المستخلصات النباتية مع الوسط ألزرعي 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 ألزرعي تم وضع قرص بقطر 2 ملغم من المستعمرات الفطرية لفطر *Aspergillus niger* و*Aspirgellus terrus* , *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

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{معدل قطر الفطر في اطباق المقارنه} - \text{معدل قطر الفطر في اطباق المعاملة}}{\text{معدل قطر الفطر في اطباق المقارنة}} * 100$$

النتائج والمناقشه:

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. chrysogenum* و *P. verrucosum* 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 ترددها .

ت	اسم الفطر	عدد المستعمرات التي ظهرت في اعلاف الحقول	نسبة التردد	عدد المستعمرات التي ظهرت في اعلاف الاسواق	نسبة التردد
1	*Asp . flavus*	54	0.31	2	0.01
2	*Asp . niger*	72	0.47	30	0.4
3	*Asp . terrus*	20	0.09	20	0.23
4	*Candida albicans*	2	0.009		
5	*Cladosporium sp*	21	0.10	18	0.20
6	*Penicillium sp*			15	0.16
7	*Rhizopus sp*	5	0.02		
8	*Mucor sp*	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 *Aspirgulls terrus* في جميع التراكيز المستعملة(100,50,25)

وبذلك نلاحظ ان معدل اقطار نمو المستعمرات يتناسب عكسيا مع تركيز المستخلص آذ ظهرت نسبة تثبيط في تركيز (100) سجلت100% 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 الاسود المائي تأثيرا واضحا في نمو وحيوية الفطريات آذ تبين أن التأثير اعتمد على نوع العزلة الفطرية المختبرة وعلى تركيز المستخلص فقد اظهر المستخلص فعالية تثبيطية عالية اتجاه *فطر Aspirguls terrus* 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 *Aspirgulls terrus* 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 ايضاً تلوث بالفطريات *penicillum sp* و *mucor sp* ، حيث كانت نسبة تلوثهما 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 أعضاء الجسم كافة و يتحول في الكبد الى مواد سامة في الدم مثل مادة ايبوكسيد وهي مادة ذات قابلية على الاتحاد مع الاحماض النووية R N A و D N Aوتكون ذات تأثيرات مسرطنة ، و تنتج في الكبد مادة وسطية تسمى Dihydroel و هذه المادة تمتلك صفات مسرطنه ايضاً. [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 ترددة 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 كبيرقي تثبيط فطر *Aspirgellus terrus* وقد بينت جميع التراكيز المستعملة زيادة في معدل قطر التثبيط مقارنة بالسيطرة . وكانت الزيادة في معدل قطر التثبيطاذات 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).

اما نتائج المستخلص المائي الحار للمردقوش فقد أظهرت الدراسة أن جميع تراكيز المستخلص المائي الحار للمردقوش ذات كفائه عالية في تثبيط نمو *Aspirgellus terrus* وكانت التراكيز المستعملة زيادة في معدل قطر التثبيط أذا ازدادت نسبة التثبيط بزيادة المستخلص جدول (2).يمتلك المردقوش عدد من الكيميائيات النباتية بضمنها تلك المضاد للأحياء ألمجهريه ويلاحظ أن المستخلص المائي للمردقوش له فعاليه تثبيطية ضد فطر*Asp. terrus* وذلك بسبب وجود الزيوت العطريه والمركبات الفينوليه في مقدمة هذه الكيميائيات.[20].لاتوجد فروق معنوية واضحة في التجربة كما في جدول (2).

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

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

الاستنتاجات

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

التوصيات

نظرا لخطورة الفطر*Aspirgells 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- استخدم 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 Kerrit, A. A. M. (2005)**. Antimicrobial activity of some medicainal plant extracts in palestine. Pak Jmed. Sci. 21 (2); 187-193.

2. **المشهدي،خلود عبد المجيدمحمد 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*Penicilllium* 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. **Kulisic, 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 coppr-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 المفرزة 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 monfovts 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 البايلوجية، الطبعة الأولى. مكتبة الثقافة الدينية. ص 3880.