------مجلة علوم الرافدين، المجلد 22، العدد 1، ص 13-22،2011------

عزل الفطريات المصاحبة لحبوب الذرة وتحديد الأنواع المنتجة للأفلاتوكسينات

علي عبد علي الراوي **نديم أحمد رمضان** **رياض أحمد العرافي**

قسم علوم الحياة

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 1/ 3 / 2010 ؛ تاريخ القبول 11 / 10 / 2010)

الملخص

أظهر اختبار سلامة الحبوب لعشرة عينات من حبوب الذرة الصفراء المخزونة ومن مناطق مختلفة ، أن ستة عشر من فطريات المخازن Storage Fungi كانت مصاحبةً لحبوب الذرة المخزونة والتي شملت الفطريات *Alternaria alternata* ، *Aspergillus* spp. ، *Fusarium* spp. ، *Penicillium* spp. و *Rhizopus* spp. وعزل الفطر أن *Fusarium* spp. و *Penicillium* spp. بنسبة عالية من الحبوب 44.9 و8.5% على الترتيب، بالإضافة إلى عزل فطريات أخرى تعود إلى أجناس مختلفة و بنسب واطئة نسبياً وهي *Cladosporium* spp. ، *Derchslera* spp.، *Macrophomina* spp. ، *Mucor* spp. ، *Pythium* spp. ، و *Stemphylium* spp.

تم تشخيص أربعة أنواع تعود إلى الجنس *Aspergillus* وهي *A. flavus* ، *A. fumigatus* ، *A. niger* و *A. parasiticus* وبنسب عزل (0.7، 3.3، 5.6، 0.9 %) على التوالي، وقد وجد أن عزلات الفطر *A. flavus* كانت منتجة للأفلاتوكسين B1 وB2 وغير منتجة للأفلاتوكسين G1 وG2 ، أما عزلات الفطر *A. parasiticus* فكانت غير منتجة للأفلاتوكسين ، وتراوحت كمية الأفلاتوكسين B1 في عينات حبوب الذرة كانت بين1.2- 10 نانوغرام / غرام .

الكلمات الدالة: سموم الافلا، الفطريات، الذرة.

Isolation of Corn Seed Borne Fungi and Specification the Aflatoxigenic Species

Ali A. Al-Rawi **Nadeem A. Ramadan** **Ryadh A. Al-Iraqi**
Department of Biology
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

Sixteen fungi were isolated from ten samples of stored corn grains , included *Alternaria alternata*, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. and *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp. and *Penicillium* spp. These fungi were found in high frequency whereas *Cladosporium* spp., *Drechslera* spp., *Macrophomina* spp., *Mucor* spp., *Pythium* spp., *Rhizopus* spp. and *Stemphylium* spp., were found in a lower proportions Among four identified species of the genus *Aspergillus*, (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* and *A. parasiticus*) , the isolates of *A. flavus* produce AFB1 and AFB2 only , whereas those of *A. parasiticus* were non-aflatoxigenic .

The occurrence of aflatoxigenic isolates of *A. flavus* in the tested seed samples confirmed that these samples were contaminated with afltoxins. There was a relation between the level of aflatoxin in the grains and isolation percentage of *A. flavus*. The level of AF B1 (1.2-10 ng / gm) was detected in seed samples ranged between 1.2 to 10 ng/g.

Keywords: Afltoxins, fungi, corn.

المقدمة

تصيب الفطريات المحاصيل الزراعية وتسبب تدهوراً في الإنتاجية كماً ونوعاً (إبراهيم و الجبوري، 1998). وإن فترة التخزين واحدة من أهم المراحل التي قد تعرض البذور للإصابة الفطرية (Sinha, 1990) بالسموم التي تنتجها الفطريات والتي تشكل تهديداً خطيراً على صحة الإنسان والحيوان المستهلك لهذه البذور (Sanchis *et al.*, 1982) و (Agrwal and Sinclair , 1997) من أخطر أنواع هذه السموم هي الأفلاتوكسينات (Aflatoxins) والتي تنتجها بعض السلالات التابعة للفطريات *Aspergillus flavus* و *A. parasiticus* (Bennett and Christensen, 1983).

يتعرض نبات الذرة الصفراء للإصابات الفطرية في الحقل وخلال النقل والتخزين (Agrwal and Sinclair , 1997). هناك عدة عوامل تؤثر على أمكانية إصابة الذرة المخزونة بفطريات المخازن أهمها هي درجة الحرارة الملائمة لنمو الفطر وتوفر الحد الأدنى من المحتوى الرطوبي للحبوب اللازم لحدوث الإصابة، والرطوبة النسبية الملائمة ووجود أو غياب المنافسات الحيوية في نفس البيئة وطول فترة التخزين

وغيرها (الهيتي، 1977 و ميخائيل، 2000).

هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتشخيص الفطريات المصاحبة لحبوب الذرة الصفراء المخونة وتحديد الأنواع التابعة لجنس الفطر *Aspergillus* المنتجة للافلاتوكسينات .

المواد وطرق البحث

أُجريت هذه الدراسة على عشر عينات من حبوب الذرة الصفراء خمسة منها من مركز البحوث الزراعية في الموصل ، وعينة من سايلو الموصل، وعينة قرية يارمجة بالموصل(يارمجة)، وثلاث عينات من مناطق الشرقاط و الحويجة و الفلوجة وبواقع (5) كيلوغرام / عينة، وتم حفظها في الثلاجة عند درجة (5)°م لحين الاستعمال .

أُجري اختبار سلامة الحبوب بهدف معرفة الفطريات المصاحبة لها، حيث استخدمت الطريقة المعتمدة من قبل المنظمة الدولية المتخصصة باختبار البذور(Anonymous, 1976) ، وبواقع 200 حبة لكل عينه موزعة على 20 طبق، وتم عزل الفطريات المصاحبة لها وتشخيصها حسب المفاتيح التصنيفية التي ذكرها Pitt و Hocking (1997).

لتشخيص عزلات الجنس *Aspergillus* المنتجة للأفلاتوكسينات تم استخدام الوسط Flavus Aspergillus Parasiticus Agar (AFPA) وهو وسط تفريقي للكشف عن السلالات المنتجة للأفلاتوكسينات والتي تعود إلى النوعين *A.flavus* و*A.parasiticus* (Pitt and Hocking , 1997) . حفظت العزلات الفطرية التي عزلت من حبوب الذرة بعد تنميتها على وسط مستخلص- البطاطا - دكستروز- اكار المائل Slanted – PDA داخل قناني زجاجية صغيرة سعة (25) سم^3 ثم حفظت في ثلاجة بدرجة (5)°م ، إضافة إلى حفظ عزلات *Aspergillus* حسب طريقة (Dhingar and Sinclair ,1983).

تم استخلاص الأفلاتوكسينات من حبوب الذرة الصفراء المخزونة حسب طريقة, .Thomas *et al*) 1975) مع إجراء بعض التحويرات، وتم تقدير الأفلاتوكسين المستخلص بالمقارنة مع عينات الأفلاتوكسين القياسية وحسب طريقة (Ahmed, 1986) .

النتائج والمناقشة

شخص (11) جنسا للفطريات المصاحبة لحبوب الذرة الصفراء حسب اختبار سلامة البذور عليها (الجدول,1). كما وجد الفطر *Alternaria alternata* مصاحباً لحبوب الذرة في العينات (3 ، 5 ، 6 ، 7، 10) وبنسبة تكرار (5 ،1, 6 ، 2 ، 10)% على التوالي، وهذا يتفق مع ما وجده (Trainor and Martinson , 1981) و (سرحان، 1995) أن الفطر *A. alternata* مصاحباً لحبوب الذرة .

وكانت أنواع الجنس *Fusarium* أكثر الفطريات المعزولة وأعلاها نسبةً، إذ تراوحت بين

(42) % في العينة (5) و (85)% في العينة (8) وهذا يتفق مع ما ذكره (سعيد ،1985)، و Choudhary) and Sinha, 1993) من أن فطريات الجنس *Fusarium* كانت الفطريات المعزولة من الذرة المخزونة. أما الفطر *Penicillium spp.* فإنه يلي الفطر *Fusarium* spp. في نسبة عزله من الـذرة ، وهـذا يتفـق مـع (Choudhary and Sinha ,1993) ، و(سرحان ، 1995) من أن هذا الفطر مـن الفطريـات المـصاحبة لحبوب الذرة (Shotwell *et al.*, 1969 ; Robert *et al.* , 1995) .

الجدول 1 : الفطريات المعزولة والمصاحبة لحبوب الذرة الصفراء.

الفطريات المعزولة	(%) للعزل									
	العينـــات و ارقامها									
	أبحاث 106	تركيبي 5102	الحويجة	الربيعي	الشرقاط	الفرات الأوسط	الفلوجة	هجيني 3001	هجيني ربيعي	يارمجة
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Alternaria spp.	0	0	5	0	1	6	2	0	0	2
Aspergillus spp.	16	24	19	26	22	16	20	23	21	20
Cladosporium spp.	0	4	4	6	0	0	2	0	0	0
Drechslera sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Fusarium spp.	68	57	49	41	42	84	48	85	52	47
Macrophomina sp.	6	2	0	0	0	0	0	7	8	0
Mucor sp.	0	0	0	3	0	5	0	0	4	0
Penicillium spp.	9	13	21	23	27	19	24	9	13	27
Pythium sp.	1	0	0	3	4	0	0	2	0	4
Rhizopus spp.	0	0	2	0	4	2	0	0	0	0
Stemphylium sp.	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0

أمكن عزل وتشخيص أربعة أنواع تعود إلى الجنس *Aspergillus* باختبار سلامة البذور، حيث ذكر (Diener *et al.*, 1987) أن الفطريات المختلفة والعائدة إلى الجنس *Aspergillus* غالباً ما تكون مصاحبة للبذور بسبب الانتشار الواسع لهذه الفطريات .

وجد الفطر *A. flavus* ضمن الفطريات المصاحبة للذرة، حيث تم عزله من العينات (1، 3، 4، 5، 10) وبالنسب تكرار (2، 2، 1، 1، 1) % على الترتيب (الجدول 2) ؛ وأشارت العديد من الدراسات إلى وجوده محمولا بحبوب الذرة (Sargeant *et al* ., a 1961 ; Diener and Davis ,1966 و سرحان، 1995)، أما نسبة عزله الواطئة فقد تعزى إلى المنافسة الحيوية مع فطريات أخرى ؛ حيث أشار (Wicklow *et al.*, 1980) لحالة التداخل بين الفطر *A.flavus* وبعض المنافسات الحيوية منها أنواع الجنس *Fusarium* والفطر *A. niger* على حبوب الذرة و يؤثر ذلك على مدى انتشار الفطر *A. flavus* ، وأشار(Angle *et al.*,1982)

و (Chatterjee *et al*., 1990) إلى أن شدة إصابة حبوب الذرة بالفطرين *A. flavus* و *A. parasiticus* في المخزن تعتمد على شدتها في الحقل، إذ تعد التربة المصدر الرئيسي لهما، وكان الفطر *A. fumigatus* من الفطريات المعزولة من معظم العينات باستثناء العينات (1، 6، 8) وقد سجل (Stutz and Krumperman, 1976) وجود هذا الفطر مصاحباً لحبوب الذرة .

الجدول 2 : الأنواع العائدة للجنس *Aspergillus* المعزولة والمصاحبة لحبوب الذرة الصفراء .

أنواع الجنس *Aspergillus* المعزولة	(%) للعزل									
	العينـــات و ارقامها									
	أبحاث 106	تركيبي 5102	الحويجة	الربيعي	الشرفاط	الفرات الأوسط	الفلوجة	هجيني 3001	هجيني ربيعي	يارمجة
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A. flavus	2	0	2	1	1	0	0	0	0	1
A. fumigatus	0	2	10	8	7	0	5	0	2	1
A. niger	14	20	7	16	14	15	13	22	17	18
A. parasiticus	0	2	0	1	0	1	2	1	2	0

أما الفطر *A. niger* فكان أكثر فطريات الجنس *Aspergillus* المعزولة من حبـوب الـذرة، وأشـار (Prakash and Siradhana, 1978) و(Asevedo *et al*., 1994) أن الفطر *A. niger* هو من الفطريات المصاحبة لحبوب الذرة وبنسب عالية. أما الفطر *A. parasiticus* فقد عُزل من حبوب الذرة بنسب واطئـة وهذا يتفق مع ما وجده Mislivec وTuite (1970) أنه من الفطريات المصاحبة للبـذور، وذكـر Clavert وآخرون (1978) أن الفطر *A. parasiticus* محدود الانتشار في حبوب الذرة.

اختبرت قدرة عزلات الفطرين *A. flavus* و*A. parasiticus* على إنتاج الأفلاتوكسين باستخدام الوسط التفريقي (AFPA) حيث أظهرت النتائج (الجدول 3) أن عزلات الفطر *A. flavus* كانت معظمها منتجـة للأفلاتوكسين، إذ أعطت نتيجة موجبة على هذا الوسط وذلك بعد مرور (24-48) ساعة على التحضين عند درجة (28)°م ، في حين أظهرت عزلات الفطر *A. parasiticus* جميعها نتيجة سالبة على هـذا الوسـط ، وهذا يتفق مع ما ذكره (Pitt and Hocking , 1997) من أن هذا الوسط يُظهر اللون البرتقالي – الأصـفر البراق Bright Orange –Yellow في خلفية الوسط إذا كان الفطر المزروع عليه منتجـاً للأفلاتوكـسين ، وعدم ظهور اللون دليل على عدم إمكانية الفطر على إنتاج الأفلاتوكسين.

الجدول 3 : أنواع الجنس *Aspergillus* المنتجة للافلاتوكسينات في وسط AFPA .

العينات	أنواع الفطر *Aspergillus* المعزولة	عدد العزلات	رقم العزلة☆	إنتاج الأفلاتوكسين
أبحاث – 106	*A. flavus*	2	1 2	(-) (+)
تركيبي 5102	*A. parasiticus*	2	1 2	(-) (-)
الحويجة	*A. flavus*	2	1 2	(+) (+)
ربيعي	*A. flavus* *A. parasiticus*	1 1	1 2	(+) (-)
الشرقاط	*A. flavus*	1	*	(+)
الفرات الأوسط	*A. parasiticus*	1	*	(-)
الفلوجة	*A. parasiticus*	2	1 2	(-) (-)
هجين – 3001	*A. parasiticus*	1	*	(-)
هجين – ربيعي	*A. parasiticus*	2	1 2	(-) (-)
يارمجة	*A. flavus*	1	*	(+)

☆ (-) العزلة غير منتجة للأفلاتوكسين. (+) العزلة منتجة للأفلاتوكسين.* تم الحصول على عزلة واحدة فقط من هذه العينات.

أظهرت نتائج الكشف عن سموم الأفلاتوكسين في العينات جميعها وتقديرها أن أربع عينات فقط كانت ملوثة بالأفلاتوكسين وهي العينات (1 ، 3 ، 4 ، 10) ، و احتوت العينة (3) على أعلى كمية من الأفلاتوكسين B1 والأفلاتوكسين B2 وقد وُجدت فروقات معنوية بينها وبين العينات الأخرى، إذ قدر الأفلاتوكسين B_1 و B_2 فيها بـ (10) و (1.6) نانوغرام / غرام على الترتيب ، تليها العينة (1) إذ قدرالأفلاتوكسين فيها بـ (4) و (1.4) نانوغرام / غرام على التوالي ، ثم العينة (4) التي قدر فيها الأفلاتوكسين B_1 بـ (3) نانوغرام / غرام ؛ وأخيراً العينة (10) إذ قدر فيها الأفلاتوكسين B_1 بـ (3) نانوغرام / غرام ، مع عدم وجود الأفلاتوكسين B_2 في العينتين الأخيرتين (الجدول 4).

الجدول 4 : كمية الأفلاتوكسين B1 , B2 المنتجة في حبوب الذرة الصفراء.

رقم العينة	العينات	كمية الأفلاتوكسين (نانوغرام / غرام)	
		الأفلاتوكسين B_1	الأفلاتوكسين B_2
		Mean ± SD*	Mean ± SD*
1	أبحاث – 106	^{B} 4.0*±0.0	^{A} 1.4±0.2
2	تركيبي 5102	^{C} 0.0±0.0	^{B} 0.0±0.0
3	الحويجة	A 10.0±2.0	^{A} 1.6±0.4
4	ربيعي	^{B} 3.0±1.0	^{B} 0.0±0.0
5	الشرقاط	^{C} 0.0±0.0	^{B} 0.0±0.0
6	الفرات الأوسط	^{C} 0.0±0.0	^{B} 0.0±0.0
7	الفلوجة	^{C} 0.0±0.0	^{B} 0.0±0.0
8	هجين – 3001	^{C} 0.0±0.0	^{B} 0.0±0.0
9	هجين – ربيعي	^{C} 00±0.0	^{B} 0.0±0.0
10	يارمجة	^{C} 1.2±0.0	^{B} 0.0±0.0

- الانحراف القياسي : في العمود الواحد المتوسطات المتبوعة بحروف متشابهة تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المعاملات عند مستوى احتمالية (0.01) حسب اختبار Duncan المتعدد الحدود.

إن عزل الفطر *A. flavus* المنتج للأفلاتوكسين من حبوب هذه العينات يدعم احتوائها على الأفلاتوكسين ، إذ أن هذا الفطر من الملوثات الطبيعية للذرة بسبب ما توفره هذه المادة الغذائية من محتوى عالي للكاربوهيدرات (Hesseltine *et al.*, 1966)، والفيتامينات والمعادن (اليونس وآخرون، 1987) والتي تشجع نمو الفطر، وبالتالي احتمال تلوثها بالأفلاتوكسين في الحقل أو خلال عملية الحصاد أو أثناء فترة الخزن أو في مراحل التسويق (Diener *et al.*,1987) ولقد أشار(Sargeant *et al.*, 1961 b)و (Hesseltine *et al.*,1981) و سعيد (1985) إلى الاستدلال عن وجود الأفلاتوكسين في حبوب الذرة المصابة بالفطريات المنتجة له.

كما أوضحت النتائج أن عينة الشرقاط (5) كانت خالية من الأفلاتوكسين بالرغم من الحصول على عزلة الفطر *A. flavus* وقد يعزى هذا إلى وجود المنافسة الحيوية بين الفطر الأخير وفطريات أخرى ؛ حيث ذكر (Cotty and Bayman ,1993) أن الفطريات *A. niger* و *Fusarium* spp. و *Penicillium* spp. هي منافسات قوية للفطر *A. flavus* لأنها تعمل على الحد من انتشاره على المادة الغذائية وتمنعه من إنتاج الأفلاتوكسين.

وأشار (Brown *et al.*,1993) إلى أن حبوب الذرة المحصودة حديثاً تكون أكثر مقاومة للإصابة بالفطر *A. flavus* ولإنتاجه للأفلاتوكسين وذلك بسبب امتلاكها لوسائل دفاع ضد هذه الفطريات بحيث تمنعها من النمو وإنتاج السموم فيها، وخاصة الغلاف البذري Pericarp الذي يعد بمثابة دعامة ميكانيكية تمنع إصابة الحبوب بالفطر، وكذلك أشار (Campbell and White, 1995) إلى وجود دفاعات تركيبية في غلاف حبة الذرة تمنع غزو الفطر *A. flavus* ونموه فيها وإنتاجه للأفلاتوكسين، بالإضافة إلى تأثير النمط الوراثي Genotype للذرة على حساسية الإصابة بهذه الفطريات.

المصادر العربية

إبراهيم ، إسماعيل خليل والجبوري ، كركز، محمد ثلج (1998) . السموم الفطرية آثارها ومخاطرها. دار الكتب للطباعة والنشر في جامعة الموصل / العراق.

الهيتي ، أياد عبد الواحد (1977) . الفطريات التي تهاجم حاصل الذرة الصفراء في المخازن، تشخيصها، تأثيراتها ومقاومتها. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

اليونس ، عبد الحميد أحمد ؛ محمد ، محفوظ عبد القادر والياس، زكي عبد (1987) . محاصيل الحبوب. دار الكتب للطباعة والنشر. مطبعة جامعة الموصل / العراق.

سرحان ، عبد الرضا طه (1995) . الفطريات المصاحبة للحبوب المخزونة في سايلو محافظة القادسية. *مجلة القادسية* ، **1** ، 19-23.

سعيد ، كامل كزار (1985). وجود الأفلاتوكسين والزيرالينون في بعض الحبوب ومنتجاتها الغذائية في بعض المحافظات العراقية. *مجلة زانكو* ، **3** ، 165-177.

ميخائيل، سمير حسني (2000) . أمراض البذور. منشاة المعارف ، الاسكندرية . 333 صفحة .

المصادر الأجنبية

Agarwal, V. K.; Sinclair, J. B. ((1997). "Principles of Seed Pathology". 2ed . edn. CRC Press, Lewis Publisher. New York.

Ahmad, M. M. (1986). Effect of antioxidants on aflatoxigenic molds. Ph. D. Thesis, Univ. of Maryland, Maryland.

Angle, J. S.; Dunn, K. A.; Wagner, G. H. (1982). Effect of cultural practices on the soil population of *A. flavus* and *A. parasiticus. Soil . Soc. Am. J.*, **46** , 301-304.

Anonymous. (1976) . I.S.T.A. , Proceeding of the international seed testing. International rules for seed testing. Wageningen, Netherlands.

Asevedo, I. G.; Gambale, W.; Correa, B.; Paula, C. R.; Almeida, R. M.; Souza, V. M. (1994). Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus* spp. Isolated from stored maize. *Revista de Microbiologia*, **25** , 46-50.

Bennett, J. W.; Christensen, S. B.(1983). New perspective on aflatoxin biosynthesis. *Adv.*

Appl. Microbiol., **29** , 53-92.

Brown, R. L.; Cotty, P. J.; Cleveland, T. E.; widstorm, N. W. (1993). Living maize embryo Influence of accumulation of aflatoxin in maize kernels. *J. Food Prot.,* **56**, 967-971.

Calvert, O. H.; Lillehoj, E. B.; Kwolek, W.F.; Zuber, M.S. (1978). Aflatoxin B_1 and G_1 production in developing *Zea maize* kernels from mixed inocula of *A. flavus* and *A. parasiticus*. *Phytopathology*, **68** , 501-506.

Campbell, K.W.; White, D.G. (1995). Evaluation of corn genotypes for resistance to Aspergillus ear rot, kernels infection, and aflatoxin production. *Plant Dis*., **79**, 1039-1045.

Chatterjee, D.; Chattopadhay, B.K.; Mukherje, S. K. (1990). Storage deterioration of maize having pre-harvest infection with *Aspergillus flavus*. *Letters in Appl. Microbiol*., **11**, 11-14.

Choudhary A.K.; Sinha, K.K. (1993). Competition between a toxigenic *Aspergillus flavus* and other fungi on stored maize kernels. *J. Stored Prod. Res*., **29** , 75-80.

Cotty, P.J.; Bayman, P. (1993). Competitive exclusion of a toxigenic strain of *A. flavus* by an atoxigenic strain. *Phytopathology,* **83,** 1283.(Abstract).

Dhingar, O.D.; Sinclair, J.B. (1983). "Basic Plant Pathology Methods". CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, U. S. A.

Diener, U.L.; Davis, N. D. (1966). Aflatoxin production by isolates of *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, **56** , 1390-1393.

Diener, U.L.; Cole, R.J.; Sanders, T.H.; Payne, G.A.; Lee, L.S.; Klich, M.A. (1987). Epidemiology of aflatoxin formation by *A. flavus*. *Ann. Rev. Phytopathology,* **25**, 249-270.

Hesseltine, C.W.; Shotwell, O.L.; Ellis, J.J.; Stubblefield, R.D. (1966). Aflatoxin formation by *A. flavus. Bacteriol. Rev*., **30**, 795-805.

Mislivec, P. B.; Tuite, J. (1970). Species of *Penicillium* occurring in freshly harvested and stored dent corn kernels. *Mycologia*, **62** , 67-74.

Pitt, J.I.; Hocking, A.D. (1997). "Fungi and Food Spoilage". Academic Press, London. 407p.

Prakash, O.; Siradhana, B.S. (1978). Ear rot of maize caused by *Aspergillus* spp. *Indian Phytopathology*, **31** , 115-116.

Robert, J.B.; Bryan, D.P.; John, D.S.; Maya, S. (1995). Fungal species composition and abundance on stored corn as influenced by several management pratices and maize weevil (Coleoptera : Curculionidae). *Crop Prot*., **14**, 159-163.

Sanchis, V.; Vinas, I.; Jmenez, M.; Calvo, M.A.; Hernandez, E. (1982). Mycotoxin-producing fungi isolated from bin-stored corn. *Mycopathologia*, **80**, 89-93.

Sargeant, K.; Allcroftand, R.; Carnaghan, R.B.A. (1961 a) . Ground nuts toxicity. *Vet. Res*., **73**, 865.

Sargeant, K.; Sheridan, A.; O'kelly, J.; Carnaghan, R.B.A. (1961 b). Toxicity associated with certain samples of ground nuts. *Nature,* **192** , 1095-1097.

Shotwell, O. L.; Hesseltine, C.W.; Burmeister, H.R.; Kwolek, W.F.; Shannon, G.H.; Hall, H.H. (1969). Survey of cereal grains and soybean for the presence of aflatoxin : II corn and soybean. *Cereal Chem*., **46** , 454-463.

Sinha, K. K. (1990) . Incidence of mycotoxins in maize grains in Bihar state, *India. Food Contam*., **7** , 55-61.

Stutz, H. K.; Krumperman, P.H. (1976). Effect of temperature cycling on the production of aflatoxin by *A. parasiticus. Appl. Environ. Microbiol*., **32** , 327-332.

Thomas, F.; Eppley, R.M.; Trucksess, M.W. (1975). Rapid screening method for aflatoxin and zearalenone in corn. *J. AOAC*., **58** , 114-116.

Trainor, M. J.; Martinson, C. J. (1981). Epidemiology of Alternaria leaf blight of maize. *Phytopathology*, **71** , 262. (Abstract).

Wicklow, D.T.; Hesseltine, C.W.; Shotwell, O.L.; Adams, G.L. (1980) . Interference, competition and aflatoxin levels in corn. *Phytopathology*, **70**, 761-764.