

Toxic effects of *Bipolarisholmii* in Bio system of white rat. دراسة التأثيرات السمية للفطر *Bipolarisholmii* في بعض الانظمة الحيوية لذكور الجرذ الابيض

سعاد وحيد كاظم

جامعة الكوفة

د. سامي عبدالرضا علي

جامعة كربلاء

الخلاصة

تناولت هذه الدراسة عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لحبوب الرز والحنطة والحمص فضلاً عن دراسة التأثيرات السمية للفطر *Bipolarisholmii* في النظم الحيوية لذكور الجرذ الابيض . واطهرت نتائج العزل والتشخيص للفطريات المرافقة للذور المدروسة ان الفطر *Alternaria alternate* كان الاكثر ظهوراً وتردد اذ بلغت 28.4% و 63.5% فحين احتل الفطر *Bipolarisholmii* . اثبتت نتائج هذه الدراسة سمية الفطري للفطر *Bipolarisholmii* حيث تسبب في رفع اعداد كريات الدم البيض الى 5050 كرية / ملم³ وفي الوقت نفسه احدث انخفاض في مستويات الهيموكلوبين وحجم كريات الدم المضغوط ، والأنزيمات المدروسة هي الأخرى تأثرت سلباً بالغزل الفطري حيث ارتفعت عن مستوياتها الطبيعية حيث وصل مستوى انزيم GPT الى 60 وحدة دولية/لتر وانزيم GOT الى 54 وحدة دولية/لتر خاصة عند الجرعة 1000 ملغم/كغم . وأثر الغزل الفطري بأنسجة الأعضاء المدروسة حيث تسبب في احداث تجمع لخلايا التهابية وتموت في الكبد مع انسلاخ الغشاء المعوي وتقرم الزغابات وحصول تجمع بؤري لخلايا التهابية داخل الزغابات، كما تأثرت كلى حيوانات الجرذ الأبيض هي الاخرى بالغزل الفطري حيث ظهرت فيها تضخم جدار الكبيبة رافقه نزف دموي في نسيج الكلية .

Abstract

This study deal to isolate and diagnosis of fungal accompanying of rice seeds as well as studying the toxic effects of *Bipolarisholmii* in some Bio system of white rat . Segregation results are showed the fungi *Alternaria alternate* and *Bipolarisholmii* highest frequently and appearance in rice seeds , reached to (63.5 , 28.4) % for the *Alternaria alternate* while the rates reached to (19.8% , 29.95%) respectively .The result of study toxic of mycelium of fungus *B.holmiic* which caused in raising the number of white blood cells to 5050 cell/mm³, The same time , the latest decline in the level of Hb and size of blood cells ,. Biomass of *B holmii* effected inorganic tissue where caused in the events of agathering of inflammatory cell and necrosis in the liver , so the kideny and in testine affected with Biomass of fungus.

المقدمة :

تتعرض حبوب وحبوب المحاصيل الزراعية المختلفة للإصابات الفطرية في الحقل و اثناء عمليات الحصاد والنقل والخزن . وتعد الأنواع الفطرية التابعة لأجناس *Aspergillus* و *Penicillium* و *Fusarium* و *Bipolaris* الأكثر شيوعاً في احداث تلك الأصابات (ميخائيل و بيدر ، 1982) .

ينتج عن الأصابات الفطرية آثار سلبية متمثلة في خفض حيوية انبات الحبوب و أختزال نسبة الأنبات فضلاً عن قدرة العديد من الفطريات المخزنية على انتاج مركبات ايسية سامة في تلك الحبوب تدعى بالسموم الفطرية (Mycotoxins) . مما يقلل من قيمتها الاقتصادية وتصبح غير صالحة للإستهلاك البشري والحيواني (سعيد ، 1985) .

وفي دراسة اجراها *et al. Abdel Hafez* (1992) وجد ان حبوب الرز تصاب في الحقل بالفطريات *Alternaria* و *Trichothecium* و *cladosporium* في حين تصاب الحبوب نفسها بالفطر *Aspergillus* في المخزن .

1- عزل وتشخيص الفطر *B.holmii* من بذور الرز .

2- اختبار التأثيرات السمية للفطر المشار اليه في اعلاه .

3- تشخيص المكونات والمواد السامة للفطر *B.holmii*

المواد وطرائق العمل :

1. الحيوانات المختبرية Laboratory animals

استعملت ذكور الجرذ البيض المختبرية Rattus rats من سلالة (Sprague Dawley) عمرها (10) اسابيع تراوحت اوزانها بين (210-240) غم تم الحصول عليها من البيت الحيواني في كلية العلوم/ جامعة الكوفة، تم تهيئة الظروف الملائمة لها من حيث التهوية والاضاءة والتغذية ودرجة الحرارة المثلى التي تتراوح بين (25-30) م° و جرعت الحيوانات بمضاد التتراسايكلين (Tetracycline) لمنع الإصابات البكتيرية و عقار الميبيندازول (Mebindazole) للقضاء على الاصابات الطفيلية ان وجدت وتركت الحيوانات لغرض التكاثر والحصول على اجيال جديدة واستخدمت في التجارب اللاحقة

2. عزل وتشخيص الفطريات

عقمت حبوب الرز والحنطة صنف مكسيبيك والحمص سطحيا كل على حدة بمادة هاييوكلورات الصوديوم بتركيز 1.5% لمدة دقيقتين بعدها غسلت الحبوب بماء مقطر معقم ثم نقلت مباشرة الى اطباق حاوية على ورق نشاف لتجفيفها ثم زرعت في اطباق قطرها 9 سم حاوية على وسط (PDA) بعد عملية تبريده اضيف اليه المضاد الحيوي بتركيز 250 ملغم/لتر كلورامفنكول بواقع اربع بذرات عند محيط الطبق والبذرة الخامسة في مركز الطبق، حضنت الاطباق بدرجة حرارة 25±2م° لمدة 7 ايام. (ميخائيل وبيدر، 1982)، بعد انتهاء مدة الحضانة تم تنقية عزلات الفطريات بنقل قرص قطره (5) ملم من كل مستعمرة وزرع في طبق اخر تحوي على الوسط الزراعي نفسه ، وكررت العملية مرات عدة للحصول على عزلات نقية للفطريات، بعدها تم تشخيص الفطريات اعتمادا على الصفات التصنيفية التي ذكرها كل من

(2003) Domes (1993) Moubasher (1997); Pitt and Hocking (1992, 1987); Sivanesan بعدها

حسبت نسبة التردد والظهور للفطريات المرافقة وكما يلي :

$$\text{نسبة الظهور (\%)} = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها الفطر}}{\text{عدد العينات الكلية}} \times 100$$

$$\text{نسبة التردد (\%)} = \frac{\text{عدد عزلات الفطر}}{\text{العدد الكلي لعزلات الفطريات}} \times 100$$

3. حفظ عزلات الفطريات

حفظت عزلات الفطريات في قناني زجاجية نظيفة ومعقمة حاوية على وسط (PDA) بصورة مائلة حيث زرعت اقرص منها على الوسط الزراعي في كل انبوبة وحضنت لمدة اسبوع بدرجة حرارة (25±2) م° لمدة اسبوع بعدها حفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

4. التحري عن التأثيرات السامة للغزل الفطري *B. holmii* في بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية والنسجية لذكور الجرذ الابيض.

أ. تنمية الفطر على وسط PDB

حضر وسط مستخلص البطاطا السائل (PDB) بحسب تعليمات الشركة المصنعة اضيف اليه بعد التبريد المضاد الحيوي كلورامفينيكول بتركيز 250ملغم/لتر ولقحت اربعة دوارق (0250 مل) بأقرص من مستعمرة *B. holmii* وبمعدل قطر (5) ملم لكل منهم حضنت الدوارق بدرجة حرارة 25±2م° لمدة ثلاثة اسابيع، وبعد انتهاء مدة الحضانة اخذ الغزل الفطري ووضع في طبق بتري معقم وغسل بماء مقطر معقم بعدها تم وضعه على ورق ترشيح لازالة الماء، بعدها اخذ وزن (100، 500، 1000) ملغم/كغم من الغزل الفطري للفطر *B. holmii* ووضع كل منهما في انبوبة اختبار و اضيف له (2 مل) من ماء مقطر علماً انه تم تهيئة ثلاثة انابيب لكل تركيز من التراكيز استعملت محتويات الانابيب في تجريب الحيوانات المختبرة انفة الذكر.

ب. معاملة الحيوانات

تم تهيئة (20) ذكر جرذ ابيض وعولمت بمايأتي:-

- 1- معاملة الغزل الفطري : تم تجريب (12) حيوان بالغزل الفطري وبجرع مختلفة هي (1000, 500, 100) ملغم / كغم وبواقع اربع حيوانات لكل جرعة من الجرعة المختبرة وذلك عن طريق الفم ولمرة واحدة .
- 2- السيطرة الاولى: جرعت اربعة حيوانات بالماء المقطر المعقم وبجرعة مقدارها 2 مل/ كغم حيوان ولمرة واحدة عن طريق الفم .

3- معاملة السيطرة الثانية:- معاملة السيطرة تم معاملتها بالمحلول الملحي الطبيعي وباربع مكررات جرعت هذه الحيوانات لمرة واحدة فقط عن طريق الفم ، بعد انتهاء مدة عشرة ايامضحي بالحيوانات بعد تخديرها بمادة الكلوروفورم، ثم شرحت عن طريق فتح التجويف البطني، حيث تم سحب الدم عن طريق طعنة القلب، ووضع قسم من الدم في انابيب اختبار نظيفة خالية من مادة (EDTA) والقسم الاخر وضع في انابيب اختبار حاوية على مادة (EDTA) مانعة للتخثر لاجراء فحوصات الدم الفسيولوجية والكيموحيوية ، ثم اخذت الاعضاء (الكبد والكلية والامعاء) المراد دراستها من الجرذان المقتولة ، ودرست المعايير الفسلجية وفقا لما ذكره (Brown,1976) ، اما تقدير مستويات انزيمي GOT –GPT بحسب تعليمات الشركة المصنعة Spain Linear Chemical اما المقاطع النسيجية فتم تحضيرها وفقا لطريقة Bancroft and Steven (1982). 5. الكشف عن المواد السامة التي ينتجها الفطر *B.holmii* اتبعت نفس الطريقة التي تم ذكرها الخالدي (2010)

النتائج والمناقشة

1. الفطريات المعزولة :-

تم عزل (12) نوع من الفطريات تابعة الى (10) اجناس فضلاً عن اربعة اجناس فطرية أخرى وكانت جميع الأنواع والأجناس المعزولة عائدة لصف الفطريات الناقصة (Deutromycetes) بأستثناء الفطرين *Rhizopusstolonifer* و *Mucorspp* تابع لصف الفطريات اللاقحية (Zygomycetes). وسجل الفطر *A. alternata* أعلى نسب تردد وظهور اذ بلغت 28.4% و 63.5% على التوالي ، تلاه الفطر *B. holmii* بنسبة تردد وظهور وصلت الى 19.8% و 29.9% على التوالي ، في حين كان أقل الفطريات تردد وظهورهما الفطرين *T.harizianum* و *E. rostratum* وبنسب 0.2% و 0.4% لكليهما على التوالي (جدول 1) وظهرت مستعمرات الفطر *B. holmii* في البداية بلون ابيض بني تحول مع مرور الوقت الى اللون الاسود اما الابواغ فكانت متطاولة تحتوي على سرّة قاعدية واضحة وفي الغالب تتكون من ثمان خلايا متميزة وشفافة.

جدول(1)نسب تردد وظهور الفطريات المعزولة من حبوب الرز والمنمأة على وسط PDA في درجة حرارة 25 ± 2 م لمدة اسبوع.

ت	نوع الفطر	التردد %	الظهور %
1	<i>Bipolarisholmii</i>	19.8	29.95
2	<i>Bipolarispicefera</i>	6.0	11.76
3	<i>Alternaria alternate</i>	28.4	63.56
4	<i>Aspergillusniger</i>	9.4	19.02
5	<i>Mucorspp</i>	5.8	11.74
6	<i>Fusariumoxysporum</i>	8.6	17.40
7	<i>Nigrosporaspp</i>	3.6	7.28
8	<i>Penicillium spp</i>	3.6	7.28
9	<i>Curvularialunata</i>	5	11.60
10	<i>Aspergillus.nidulans</i>	4	8.09
11	<i>Helminthosporium spp</i>	1.2	2.42
12	<i>Rhizopusstolonifer</i>	1.2	2.42
13	<i>Aspergillum flavus</i>	2	4.45
14	<i>Exerohilumrostratum</i>	0.2	0.40
15	<i>Trichotheciumroseum</i>	1	1.81
16	<i>Trichotheciumharzianum</i>	0.2	0.40
	L.S.D (0.05)	4.1	5.8

التأثيرات السمية للكتلة الحيوية للفطر *B. holmii* في ذكور الجرذ الابيض

أ- الفحوصات الفسلجية والكيموحيوية للدم:

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية في المعايير الفسلجية المدروسة جميعها ، وحصول ارتفاع تدريجي في اعداد كريات الدم البيض مع زيادة كمية الجرعة وزادت اعداد كريات الدم البيض حيث ارتفعت الى (, 4533 , 5050 4133) كرية/ملم³ عند معاملة الحيوانات بجرع (1000,500,50,5) مايكروليتر/كغم على التوالي وبفارق معنوي كبير عن معاملة السيطرة والبالغة (3100) كرية/ملم³.

وقد تزامن انخفاض حجم كريات الدم المضغوط (PCV) مع زيادة الجرعة المعاملة بها الحيوان حيث بلغت (37.11%) عند الجرعة الاولى (5) مايكروليتر/كغم وانخفضت الى (31.3%) عند الجرعة الاخيرة (1000) ملغم/كغم مقارنة بمعاملة السيطرة والبالغة (39.66%) وكذلك الحال بالنسبة الى كمية الهيموغلوبين فقد بلغت (8.1) غم/100مل عند الجرعة (500) مايكروليتر/كغم ثم وصلت الى (8) غم/100مل عند الجرعة (1000) مايكروليتر/كغم وبفروق معنوية عالية عند مستوى معنوية ($P \leq 0.05$) عن معاملة السيطرة والبالغة (13.6 غم/100مل).

وكذلك الحال بالنسبة لمستوى انزيمي GPT و GOT فقد ارتفع الى (60 و 54) وحدة دولية/لتر على التوالي عند الجرعة (1000) مايكروليتر/كغم ، في حين كان (8.2 و 7.3) وحدة دولية/لتر عند الجرعة (5) مايكروليتر/كغم مقارنة مع معاملة السيطرة والبالغ مستواها (6.85 و 5.7) وحدة دولية/ لتر على التوالي (جدول 2) .

وكانت نتائج هذه الدراسة متوافقة مع ما توصل اليه (2009) Makunet *al.* الذي اشار الى أن الغزل الفطري للفطر *G. candidum* سبب تأثيراً معنوياً في اعداد كريات الدم البيض اذ رفع معدلها الى (3890) كرية/ملم³ عند تجريعه لذكور الفئران المعاملة بالغزل الفطري و اشار (2006) Hendrickse الى ان للغزل الفطري للفطرين *F. verticillioides* و *Helminthosporium spp* كلاً على حدة ، القدرة على رفع معدل اعداد كريات الدم البيض وخفض معدل كمية الهيموغلوبين ، في حين اشارت الربيعي (2007) الى عدم وجود تأثير للغزل الفطري للفطرين *P. digitatum* و *P. italicum* على معايير الدم الفسلجية في دراستها .

وقد يكون سبب ارتفاع معدل اعداد كريات الدم البيض الى ان الغزل الفطري للفطر *B. holmii* قد تسبب في حث الاستجابة المناعية لجسم الحيوانات المعاملة به ، فقد اشار (2004) Jawetz *et al.* الى ان دخول اي جسم غريب الى داخل الجسم يتسبب في حث مناعة الجسم وزيادة اعداد الخلايا اللمفية في الدم كوسيلة دفاعية أما سبب انخفاض معدل كمية الهيموغلوبين فقد يعود الى امكانية احتواء خلايا الفطر على مواد تعمل كماسكة (Chelting agents) لبروتينات الدم مؤدية الى خفض معدل كمية الهيموغلوبين ثم حدوث فقر الدم وهذا ما اشار اليه كل من (2002) Prelusky and Rotter.

جدول (2) تأثير جرعة الغزل الفطري للفطر *B. holmii* في بعض معايير الدم الفسلجية والكيموحيوية لذكور الجرذ الابيض.

الجرعة ملغم/كغم	WBC كرية/ملم ³	Hb غم/100 مل	%PCV	GPT وحدة دولية/لتر	GOT وحدة دولية/لتر
0	3100	13.6	39.66	6.85	5.74
5	3266	9.5	37.11	8.2	7.3
50	4133	8.5	35.2	39	32
500	4533	8.1	33.5	43	41
1000	5050	8	31.3	60	54
L.S.D(0.05)	236.56	0.4	2.02	8.20	6.5

ب- الفحوصات النسجية:

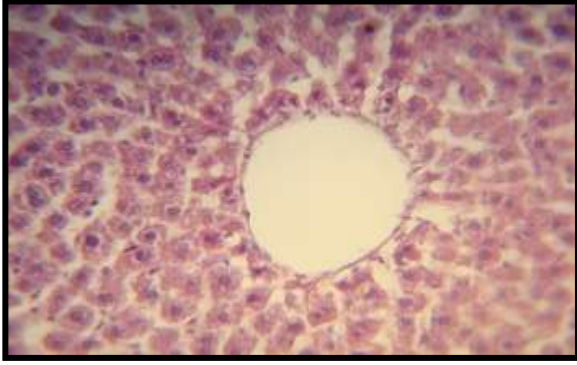
اظهرت نتائج التشخيص المجهرى للمقاطع النسيجية المأخوذة من اكباد وكلى وامعاء الجرذان التي تم معاملتها بالغزل الفطري للفطر *B. holmii* . حدوث تغيرات مرضية واضحة في انسجة الكبد تمثلت بتجمع بؤري لخلايا التهابية عند تجريع الحيوان بجرعتي (50,5) ملغم/كغم صورة (1,3)، فضلاً عن ظهور تأثيرات مرضية اخرى عند تجريعه بجرعتي (1000,500) ملغم/كغم تمثلت بظهور تنخر في الكبد .

اما فيما يخص المقاطع المأخوذة من امعاء الحيوانات المعاملة فقد اظهرت النتائج وجود تأثيرات واضحة فيها تمثلت بانسلاخ الغشاء المعوي للامعاء ، وتقرم الزغابات واحتقان الاوعية الدموية في الغشاء المخاطي للامعاء ، فضلاً عن حصول تجمع بؤري لخلايا التهابية داخل الزغابات (صورة 2,4).

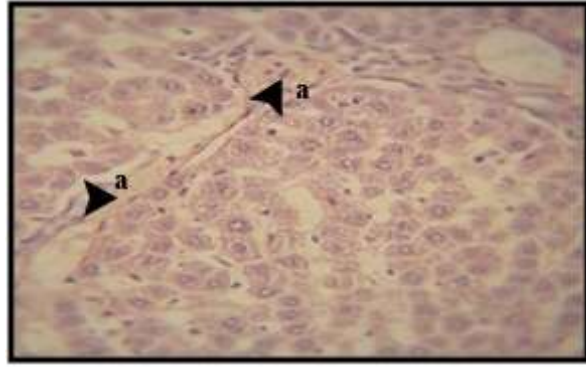
اما في كلى الحيوانات المعاملة بالغزل الفطري فأظهرت نتائج الفحص المجهرى وجود تضخم جدار الكبيبة رافقه نزف دموي في نسيج الكلية (صورة 6) .

وقد يعود سبب هذه التأثيرات الى ان عملية الهضم التي تحدث للغزل الفطري عند دخوله الى الجسم تسبب في تحرر المكونات الموجودة داخل الخلايا الفطرية من انزيمات وبروتينات وغيرها من المواد فضلاً عن مكونات الجدر الخلوية وعند

أمتصاص هذه المواد ووصولها الى الاعضاء المدروسة تسبب في حصول هذه التأثيرات , اوان الفطر المجرع للحيوانات تمكن من النمو في اعضاء الجسم كالأمعاء او مجرى الدم ومن ثم افراز الأنزيمات المحللة للبروتينات والتي تعمل على اللييدات والبروتينات الموجودة في الاغذية الخلوية مسببة خلل في عملية دخول وخروج المواد من والى الخلية ومن ثم تحللها أو افراز منتجات ايسية سامة ومما يعزز هذا الاستنتاج هو قدرة الفطر *B. holmii* على انتاج المركب الفينولي السام للنظم الحيوية لذكور الجرذ الابيض , او بسبب الضغط الميكانيكي الناتج من نمو الفطر داخل جسم الحيوانات المجرعة به او من المنتجات الايسية للفطر. وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه كل من الربيعي (2007) والخالدي (2010) و *Susheela et al.* (1992) من حيث التأثيرات المرضية .

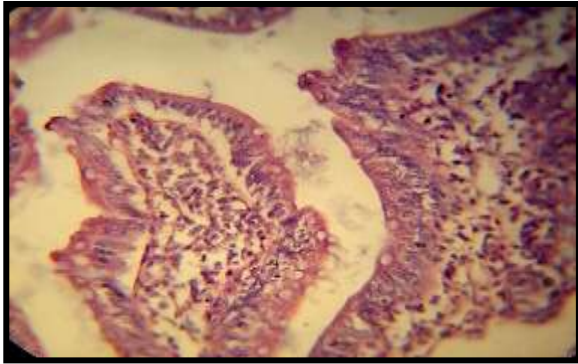


A

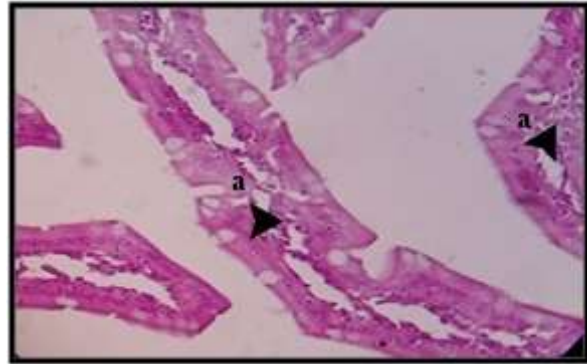


B

صورة (1) مقطع في نسيج الكبد لذكور الجرذ الابيض (A) معاملة السيطرة (B) معاملة الغزل الفطري للفطر *B. holmii* بجرعة مقدارها 5 ملغم /كغم (قوة التكبير 40X) a: تجمع بؤري لخلايا التهابية في الكبد .

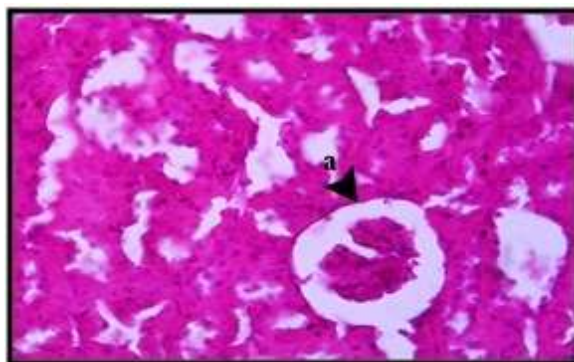
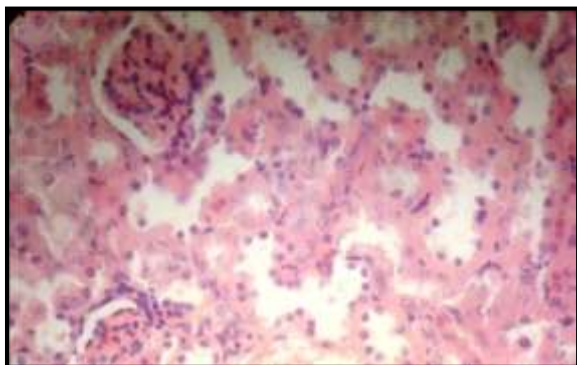


C

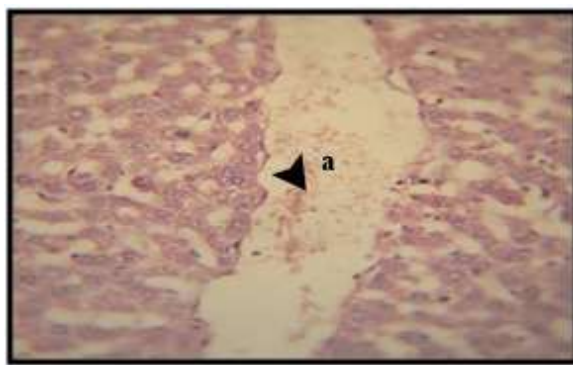


D

صورة (2) مقطع في نسيج امعاء لذكور الجرذ الابيض (C) معاملة السيطرة (D) معاملة الغزل الفطري للفطر *B. holmii* بجرعة مقدارها 5 ملغم /كغم (قوة التكبير 40X) a: تجمع بؤري لخلايا الالتهابية داخل الزغابات



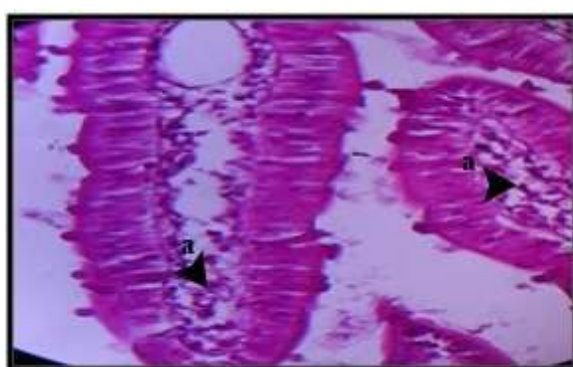
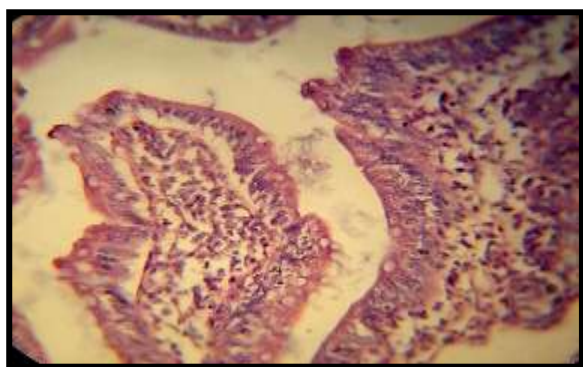
صورة (3) مقطع في نسيج الكلية لذكور الجرذ الابيض (E) معاملة السيطرة (F) معاملة الغزل الفطري للفطر *B. holmii* بجرعة مقدارها 5 ملغم/كغم (قوة التكبير 40X) a : تضخم جدار الكبيبة.



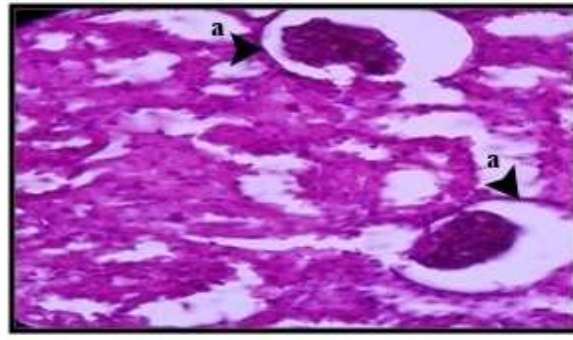
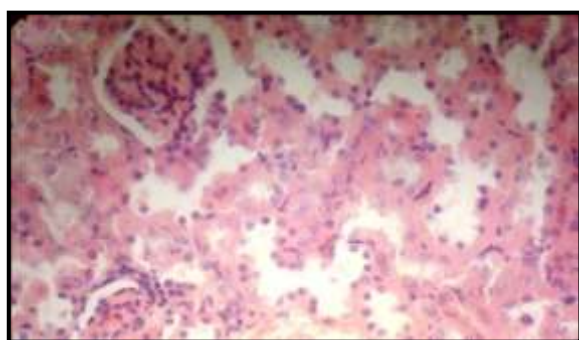
A

B

صورة (4) مقطع في نسيج الكبد لذكور الجرذ الابيض (A) معاملة السيطرة (B) معاملة الغزل الفطري للفطر *B. holmii* بجرعة مقدارها 50 ملغم /كغم (قوة التكبير 40X) a : احتقان الأوعية الدموية في الكبد .



صورة (5) مقطع في نسيج امعاء لذكور الجرذ الابيض (C) معاملة السيطرة (D) معاملة الغزل الفطري للفطر *B. holmii* بجرعة مقدارها 50 ملغم/كغم (قوة التكبير 40X) a : تجمع بؤري لخلايا الالتهابية داخل الزغابات وتحللها.



صورة (6) مقطع في نسيج الكلية لذكور الجرذ الابيض (E) معاملة السيطرة (F) معاملة الغزل الفطري للفطر *B. holmii* بجرعة مقدارها 50 ملغم /كغم (قوة التكبير 40X) a : تضخم جدار الكبيبة

المصادر العربية

- الخالدي، بهيجة عبيس حمود. (2010). التوصيف الوظيفي والجزئي لبعض عزلات الفطر *Geotrichum* spp والكشف عن بعض تأثيراتها الوظيفية والنسجية المرضية في ذكور الجرذ الابيض. اطروحة دكتوراه- كلية العلوم- جامعة الكوفة.
- الربيعي، عيبر فوزي مراد. (2007). التأثيرات السمية للفطرين *Penicillium italicum* و *Penicillium digitatum* في بعض المعايير الفسيولوجية والكيموحيوية والنسجية لذكور الجرذ الابيض وامكانية السيطرة عليهما في المخزن. اطروحة دكتوراه. كلية العلوم- جامعة بابل.
- حبيب، خالد عبد الرزاق وكامل سلمان جبر واميرة ناجي. (1988). دراسات حول الفطريات التي تنتقل عن طريق بذور اصناف الرز. وقائع المؤتمر العلمي الاول للتعليم التقني المنعقد للفترة من -2122 ايلول. 537-554 صفحة.
- سعيد، كامل كرار. (1985). وجود الافلاتوكسنوالزيرالينوس في بعض الحبوب ومنتجاتها الغذائية في بعض المحافظات العراقية. المجلد العراقية للعلوم الزراعية (زانكو)، المجلد 3، العدد 2: 165-177.
- ميخائيل، سمير وتركى بيدر. (1982). امراض البذور. دار الكتب للطباعة والنشر- جامعة الموصل. ص475.

المصادر الاجنبية

- 1 . Agarwal, V.K. and Sinclair, J.B. (1997). Principles of seed pathology. 2nd ed. Lewis publishers. CRC press, Inc. PP 539.
- 2 . Abdel-Hafez, S.; El-kady, I.; Nazen, M. and El- Maghraby, O. (1992). Effect temperature and moisture content on germination capacity and paddy grain borne fungi from Egypt, Abhath, Al-Yarmok. I, 91-105.
3. Bancroft, J.D. and Stevens, A. (1982). Theory and Practice of histological technique. Churchill Living stone, New York. pp. 117.
4. David, E. (2008). Compendium of soil. Academic, Press, London. UK, PP: 12-45.
- 5 . Jawetz, E.; Melnik, J.L.; Adeberg, E.A. ; Brook, G.F.; Butel, J.S. and Morse, S.A. (2004). Medical Microbiology 24th. ed. Appleten and lang New York. Connctical. pp: 45-60.
- 6 . Moubasher, A.H. (1993). Soil fungi in Qatar and other Arab countries. 1st ed. the scientific and Applied Research center University of Qatar. Mycological papers. 158, 1-261.
- 7 . Pitt, J.I. and Hocking, A.D. (1997). Fungi and Spoilage (Second Edition) Shampan and Hall, 2-6 Boundry Row, London, UK. PP. 989. Prelusky, D.B. and Rotter, R. (2002). Toxicology of mytoxins. In Miller, J.D and Trenholm, H.L. Mytoxins in grains: Compounds other than Afltoxins. Eagan. Press U.S.A. PP: 359-403.
- 8 Rustum, Y.S.I. (1997). Aflatoxin in food and feed occurrence, Legistatation an activation by physical methods. Food Chemistry, 59: 57-67.
- 9 . Sivanesan, A. (1992). New *Bipolaris*, *Curvularia* and *Exserohilum* species Mycological research 96: 485-489.
- 10 . Susheela, A.K.; Kumar, A. and Bhatnagar, M. (1992). Prevalence of mycotoxins with gastrointestinal manifestations in animal. J. Med. 12 (5): 26-78.