

تأثير السموم الفطرية لعزلة الفطر *Aspergillus fumigatus* Fres في إنبات بذور بعض أصناف الحمص

دهيمات العيد⁽¹⁾ و زهيرة بوزيان⁽²⁾ و قاسم شاوش نور الدين⁽¹⁾
وبلعيدي عبد الحكيم⁽³⁾ و وداد عبد العزيز⁽¹⁾

الملخص

جمعت بذور ثلاثة أصناف من الحمص، هي: (Flip84-79 و Flip85-54، ILC32-79) من تعاونية الحبوب والبقول الجافة في ولاية قالمة شرق الجزائر بهدف التعرف على تأثير السموم الفطرية الناتجة عن الفطر *Aspergillus fumigatus* في إنبات بذور بعض أصناف الحمص. دُرست الخصائص المظهرية والمجهريّة لعزلة الفطر المذكور بعد تنميته على وسط النمو المناسب. استُخلصت وتُقَيست المنتجات الأيضية الثانوية لعزلة الفطر من بيئات التخمر باستخدام المذيبات العضوية ثم التحليل اللوني (كروماتوغرافيا) بعمود أكسيد الألمنيوم والطبقة الرقيقة على ألواح من السيلكا جل. وبعد التجفيف حددت قيم معامل الانتشار لكل البقع الناتجة ذات الألوان المختلفة تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) عند الموجة القصيرة 254 نانومتراً والطويلة 365 نانومتراً وتراوحت بين 0.051 و 0.937 وثبت وجود عشرة مركبات تتقارب في تركيبها الكيميائي. بينت نتائج دراسة تأثير تراكيز مختلفة من السموم المستخلصة من الفطر *A. fumigatus* في إنبات بذور أصناف الحمص المختبرة أن أقل نسبة إنبات هي 14.14% وسجلت في الصنف (Flip 85-54) عند تركيز 500 مايكرو غرام/ مل من المادة الأيضية للفطر، وبلغت 15 و 16% لكل من الصنفين 85 - 54 Flip و ILC 32- 79 عند التركيز نفسه. كما ازدادت النسب المئوية للإنبات عند مختلف الأصناف مع انخفاض تراكيز المواد الأيضية. وكانت بذور الصنف 85 - 54 Flip أكثر مقاومة وتحملاً لسموم عزلة الفطر *A. fumigatus* مقارنة بالصنفين الآخرين عند معاملتها بتراكيز تراوحت بين 3.5 نانوغرام/مل و 15.4 ميكروغرام/مل.

الكلمات المفتاحية: سموم فطرية، المادة الأيضية، أصناف الحمص، إنبات.

(1) قسم الكيمياء الحيوية والميكروبيولوجيا، كلية العلوم الطبيعية والحياة، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر.

(2) قسم البيولوجيا، كلية العلوم، جامعة جيجل، الجزائر.

(3) معهد البيولوجيا، المركز الجامعي أم البواقي، الجزائر.

Effet des Métabolites Secondaires (Mycotoxines) d'*Aspergillus fumigatus* Fres. Sur la Germination Chez Certaines Variétés de Pois Chiche

D. Laid⁽¹⁾, B. Zahira⁽¹⁾, K. Nourreddine⁽¹⁾,
A. W. Abdelhakim⁽²⁾

Résumé

Pour tester l'effet des mycotoxines d'*Aspergillus fumigatus* sur la germination des grains de trois variétés de pois chiche (Flip 85-79, Flip 84-54, ILC32-79) sont collectées de zones de stockage situées dans la wilaya de Guelma (Est Algérien). Pour ce faire, la souche fongique d'*Aspergillus fumigatus* est inoculée sur milieu gélosé, ce qu'a permis l'étude de son aspect macroscopique et microscopique. En outre, la souche est développée sur un milieu de fermentation pour la production de métabolites secondaires. Après filtration, les métabolites secondaires sont extraits par des solvants organiques est séparés par la chromatographie de colonne et de couche mince. La révélation des spots par les rayons UV ($\lambda = 254\text{nm}$) a montré dix composants. Le traitement des semences de pois chiche précédemment citées par différentes concentrations des métabolites obtenus a permis de constater que le taux de germination le plus faible (14.14 %) est remarqué chez la variété Flip 85-79 lors de l'utilisation de la concentration de 500 μg métabolites secondaires brutes, cependant, les variétés Flip 84-54 et ILC 32-79 ont enregistré un taux de germination de 15 et 16 % respectivement pour la même concentration, ce qui classe la dernière variété comme étant la plus tolérante. En effet, chez toutes les variétés, le taux de germination diminue en augmentant la concentration de ces métabolites.

Mots clés: Mycotoxines, *Aspergillus fumigatus*, Pois chiche, Germination.

⁽¹⁾ Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Faculté des Sciences Université Mentouri Constantine – Algérie

⁽²⁾ Centre Universitaire Larbi Ben Mehidi Oum El Bouaghi - Algérie

المقدمة

يعدُّ الحمص *Cicer arietinum* L. من أقدم المحاصيل البقولية وأكثرها استعمالاً في منطقة الشرق الأوسط، فقد عرف المحصول لدى قدماء المصريين باسم *Eyebinthus*، كما عرف لدى قدماء الرومان باسم *Cicer*. ويعدُّ الحمص أحد المحاصيل البقولية الثلاثة المهمة في العالم التي تزرع لغرض الحصول على البذور الجافة والمتمثلة في الفاصوليا والعدس فضلاً عن الحمص. ويقدر الإنتاج السنوي لهذا المحصول في العالم بنحو 7 مليون طن، بينما قدرت المساحة المزروعة بنحو 9 مليون هكتار، وتتغير إنتاجية هذا المحصول من سنة إلى أخرى بناءً على كمية الأمطار الهاطلة وتوزعها (قشلان، 1990). احتل الحمص المرتبة الثالثة من حيث الإنتاج والأهمية بين المحاصيل البقولية، ويستعمل بكثرة في غذاء الإنسان وفي تغذية الحيوان، لارتفاع نسبة البروتين المهضوم مقارنة بالبقوليات الأخرى، وارتفاع نسبة الأحماض الأمينية، بما فيها الأحماض الأمينية الضرورية مثل: حامض *Lysine* و *Arginine* (حلوب علي وآخرون 1990). يصاب الحمص كغيره من المحاصيل الحقلية بعدد كبير من الأمراض المختلفة تحددها عوامل كثيرة منها هطل الأمطار، ودرجات الحرارة، والصنف، وطريقة الزراعة ووجود مادة اللقاح وتحدث بعض الأمراض كذبول الفيوزاريومي *Fusarium wilt* المتسبب عن الفطر عن *Fusarium oxysporium* F. sp. *Ciceris-* (Padwick)syderHansen ولفحة الاسكوكيتا المتسببة عن الفطر *Ascochyta rabie* أضراراً كبيرة بالمحصول في مناطق مختلفة في العالم (حلوب علي وآخرون 1990). كما تحدث بعض الفطور الممرضة تلقاً في بذور الحمص، وفقدت في قيمتها الغذائية، فضلاً عن التأثير الضار في الصحة العامة.

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير المنتجات الأيضية الثانوية لفطر *Aspergillus fumigatus* Fres. في النسبة المئوية لإنبات بذور بعض أصناف الحمص.

مواد البحث وطرقه

عينات الحمص

جمعت عينات بذور الحمص من تعاونية الحبوب والبقول الجافة موسم 2006 في ولاية قالمة الواقعة على بعد 700 كم شرق الجزائر العاصمة، وتتمثل في ثلاثة أصناف هي: (ILC 32-79, Flip 85-54, Flip84-79). وضعت العينات في أكياس صغيرة من الخيش مع ترقيمها وحفظت في التلاجة إلى حين اختبارها.

عزلة الفطر *Aspergillus fumigatus*

حصل على عزلة الفطر المذكور من مختبر علم الأحياء الدقيقة التطبيقية *Microbiologie Appliquée* في قسم العلوم الطبيعية والحياة بجامعة منتوري

— قسنطينة، سبق وأن عزلت ونميت على مستنبت تشابك دكس Czapec-Dox وعُرفت باستخدام المجهر الإلكتروني في مخبر الميكروبيولوجيا بكلية العلوم بجامعة Clermont Ferrand II بفرنسا [Dehimat 1990].

وصف عزلة الفطر

الدراسة المظهرية (العيانية):

اعتمدت الدراسة المظهرية على المشاهدة العينية (شكل، حجم، لون، قوام) في المزرعة الفطرية والطرائق المعتمدة [Robert et al., 1981, Pitt et hocking, 1985].

أخذ قرص بقطر 0.5 سم من مزرعة الفطر المذكور تحت شروط التعقيم الجيدة وزرعت في مركز مستنبت تشابك دكس Czapeck-Dox الصلب المحضر داخل طبق بتري زجاجي قطره 11 سم، ثم حضنت الأطباق الملقحة في حرارة 30 م° مدة ثلاثة أيام.

الدراسة المجهرية:

أجريت الدراسة المجهرية بأخذ قطرة من صبغة Lactophenol مجهزة مخبرياً ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة تحت شروط التعقيم الجيدة تنقل إليها مسحة فطرية من مزرعة الفطر المذكور، ثم جفف المحضر على لهب هادئ وأضيف إليه قطرة ثانية من الصبغة، ثم غطيت الشريحة بساترة. وفحصت تحت المجهر الضوئي للمشاهدة [Bhutta and Ahmed 1989, Dorthy and Christensen, 1986].

استخلاص السموم الفطرية وتنقيتها من عزلة الفطر

تم استخلاص وتنقية المنتجات الأيضية الثانوية التي يفرزها الفطر في مستنبت التخمر المضاف إليه 2.5 غ مستخلص الخميرة/ لتر بعد التحضين مدة 14 يوماً في درجة حرارة 30 س باستخدام المذيبات العضوية، كروماتوغرافيا عمود أكسيد الألمنيوم Al_2O_3 ، ثم كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة باستخدام ألواح من السيليكا جل (Silica gel GF 245) ثم سريان المركبات الأيضية باستعمال مزيج من Toluene-Ethylacetate-Formic acid (5 : 4:1) حجم/ حجم/ حجم بعد التجفيف [Dorthy and Christensen 1986].

تحضير المزرعة الفطرية

حقن كل دورق سعة 250 مل يحتوي على 50 مل من بيئة التخمر تشابك دكس المضاف إليها 2.5 غ من مستخلص الخميرة لكل لتر بـ 1 مل من معلق عزلة الفطر يحتوي على 10^6 بوغية من عزلة الفطر *A. fumigatus* في دوارق سيحقن كل دورق بـ 1 مل من معلق عزلة الفطر يحتوي على 10^6 بوغية ثم حضنت الدوارق المحقونة وعددها خمسة في حرارة 30 س مدة 14 يوماً ضمن ظروف ساكنة، [Dorhty and Christensen 1986].

الاستخلاص بالمذيبات العضوية والحصول على المنتجات الأيضية الثانوية الخام للفرط
 أُضيف 50 مل من الكلوروفورم لكل دورق، بعد انتهاء مدة التحضين ثم مزجت المزعة الفطرية بالخلط الكهربائي مع التسخين في حرارة 40 س ورشح المستخلص خلال قطعة شاش تحت التفريغ من خلال سلفات الصوديوم اللامائي Anhydro – Sodium Sulfate، وتم التخلص من الكلوروفورم بالتبخير.
 أُذيب الراسب في 10 مل من أسيتات الإيثيل Ethyl Acétate (EA) المضاف إليه أكسالات البوتاسيوم (1 عياري) حجم مماثل، ثم ضبطت حموضة (pH) المحلول لتبلغ قيمتها 2 باستخدام حمض كلور الماء (HCl) المركز. يجرأ المحلول ويفصل إلى طبقتين، طبقة أكسالات البوتاسيوم وطبقة حامضية هي خلاص الأثيل (Ethyl Acétate)، (شكل 1).
 أُضيف إلى الطبقة الحامضية حجم مماثل من الكلوروفورم ثم عدلت حموضتها (pH) قيمة 10 بإضافة بربونات الصوديوم (NaHCO₃) (1 عياري). جُزئ الخليط إلى طبقتين، الأولى مائية والثانية كلوروفورمية محملة بسموم عزلة الفطر تم التأكد منها بإجراء اختبار بيولوجي من دراسة سابقة [Dehimat, 1990]، أُعيد استخلاص المنتجات الأيضية الثانوية 3 مرات من الطبقة الحامضية، استبعدت الطبقات المائية وجمعت الطبقات الكلوروفورمية وغسلت بالماء المقطر 3 مرات (بإضافة حجم لحجم). بخر الكلوروفورم في جهاز التبخير تحت التفريغ، ثم جفف الراسب من خلال سلفات الصوديوم اللامائي باستعمال جهاز التجفيف Dessiccateur وفقاً للطريقة المتبعة [Kirksy and Colle 1977] (شكل 1).

كروماتوغرافيا العمود

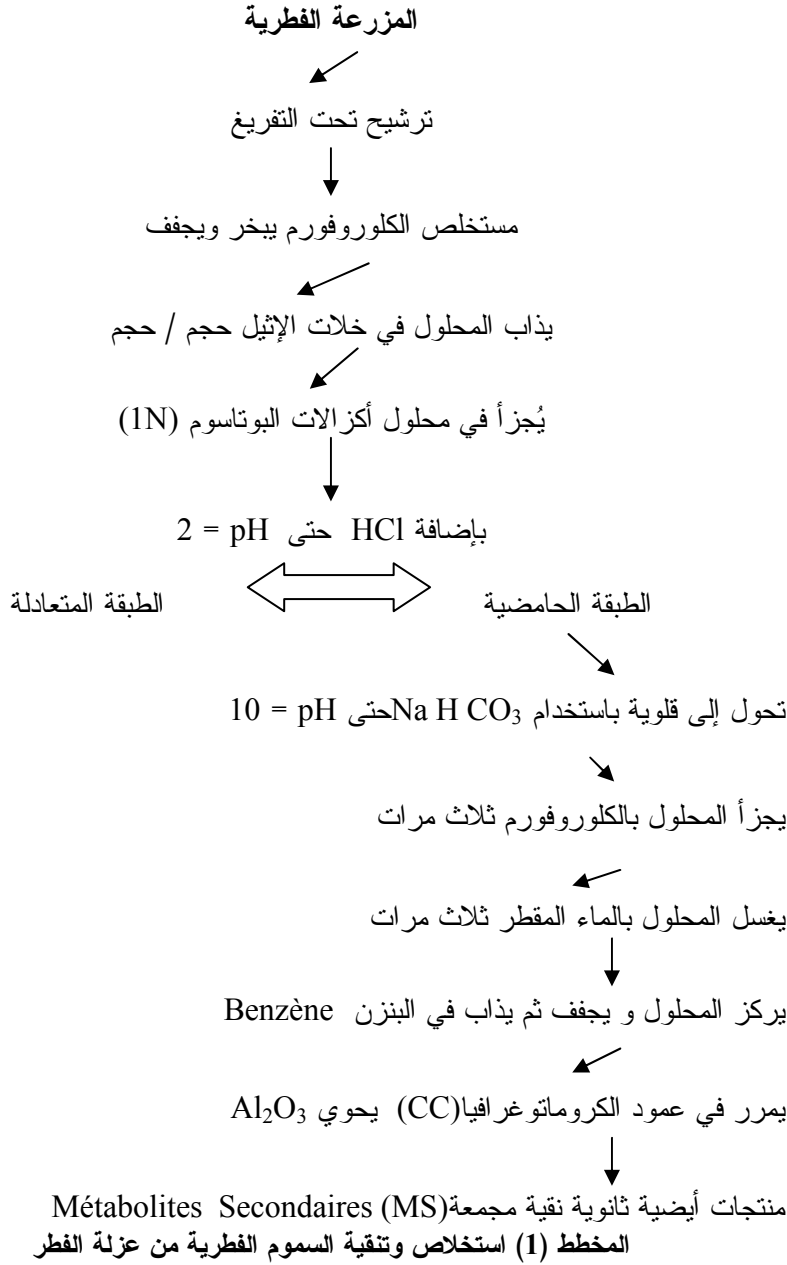
استُخدم عمود 2.5×10 سم احتوى على أكسيد الألمنيوم Al₂O₃، وأضيفت إليه عينة المنتجات الأيضية الثانوية الخام بعد إذابتها في 10 مل من البنزن. استقبل مستخلص البنزن النازل في حوجة سعتها 500 مل وهو يمثل المنتجات الأيضية الثانوية الخام وفقاً لطريقة [Davis et al., 1966]، (مخطط 1).

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

جرى سريان للمواد الأيضية الثانوية الخام المجمعة على صفائح زجاجية من السيليكاجل (G F254) بسماكة 0.5 سم، وضعت الصفائح في المحلول العضوي والمكون حجمياً من: Toluene: Ethyl Acetate: Formic acid (5:4:1)، على التوالي. [Davis et al., 1966]. ثم قرئت النتائج بتعريض الصفائح للأشعة فوق البنفسجية عند الموجتين 254 و365 نانومتراً، ثم حسب معامل الانتشار لكل مركب وفقاً للمعادلة التالية كما يأتي:

$$\text{معامل الانتشار (RF)} = \frac{\text{المسافة التي قطعها المركب}}{\text{المسافة التي قطعها محلول الإذابة}}$$

يبين المخطط (1) طريقة استخلاص وتنقية السموم الفطرية من عزلة الفطر المختبر



تحضير التراكيز المختلفة للمنتجات الأيضية الثانوية للفطر

أُذيب 1 مغ من المنتجات الأيضية الثانوية النقية للفطر، في 100 مل من الكلوروفورم ثم حضرت منه التراكيز التالية (500، 250، 125، 65، 31.4، 15.4 ميكروغراما في 1 مل من الماء بعد تبخير الكلوروفورم) و(30، 15، 7.5، 3.5) نانوغرام في 1 مل من الماء بعد تبخير الكلوروفورم. واستخدم الماء المقطر كشاهد (Atallah *et al.*, 1979)، (Atallah 1983).

المزرعة الرملية

- تجهيز المزرعة الرملية

غسلت كمية كافية من الرمل جيدا بالماء الجاري، ثم جفف الرمل في الجو العادي ونخل بمنخلين قطر الفتحات فيهما 1 و2 مم، على التوالي. غسلت حبيبات الرمل ذات القطر بين 1-2 مم بمحلول HCl تركيز 3% مدة ثلاثة أيام للتخلص من المواد العضوية والمعدنية المتبقية، ثم غسل الرمل بالماء المقطر. جفف الرمل بعدها ونقل إلى أطباق بتري، ثم عرّض لدرجة حرارة 120 °س وضغط جوي 1.5 مدة 30 دقيقة ضمن الحجم الموصد. بلل الرمل في كل طبق بنحو 10 مل من الماء العادي المعقم ليكون جاهزا لزراعة بذور الحمص وفقا لطريقة [Atalla 1983].

- نقع بذور الحمص

نقعت بذور الحمص من الأصناف المذكورة بالمنتجات الأيضية الثانوية للفطر لمدة ساعة بالتراكيز المشار إليها أعلاه كل على حدة، ثم غسلت العينات بالماء المقطر المعقم للتخلص من آثار الكلوروفورم، وجففت بعدها بورق الترشيح المعقم وفقا لطريقة [Atallah 1983].

- زراعة بذور الحمص و تقدير النسبة المئوية للإنبات

زرعت 100 بذرة من كل صنف بمعدل 10-15 بذرة في كل طبق ضمن شروط التعقيم، ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة 30°س مدة أسبوع مع إضافة 2.5 مل من الماء العادي المقطر يوميا. قدرت النسبة المئوية للإنبات لكل صنف من بذور الحمص في كل تركيز وفقا للمعادلة الآتية: [Atalla *et al.*, 1979].

$$\text{النسبة المئوية للإنبات} = \frac{\text{عدد البذور النابتة}}{\text{عدد البذور الكلي}} \times 100$$

النتائج والمناقشة

الدراسة المظهرية لعزلة الفطر

أوضحت المشاهدة العيانية لمزرعة الفطر المذكور النامية على سطح مستنبت تشابك دكس الصلبة في حرارة 30س ودرجة حموضة pH=6 أن النمو يبدأ خلال 24 ساعة من التحضين ويصير أكثر وضوحاً خلال الساعات المتعاقبة بتوسع فطر المزرعة حتى تغطي مساحة سطح طبق بتري خلال ثلاثة أيام. يكون الفطر في بداية نموه على هيئة هيفا ملساء في مركز المزرعة شفافة اللون لتأخذ لاحقاً اللون الأبيض الناصع، ليصبح وبسرعة أخضر رمادياً يميل إلى الأخضر المزرق. وهذا يتوافق ونتائج بحوث مرجعية أخرى [Hess and Stocks 1969، Botton et al., 1990].

- الدراسة المجهرية لعزلة الفطر

تتكون مشيجة الفطر تحت الدارسة المجهرية من حوامل الأبواغ Conidiophores منتقخة في نهاياتها العلوية على هيئة حويصلات Vesicules، تتوضع عليها زوائد متطاولة متراسة جنباً إلى جنب تعرف بالفياييدات Phialides (Sterigmata)، تتوضع عليها أبواغ متصلة في سلاسل. تتوافق هذه الموصفات للفطر النتائج التي أشار إليها العديد من الباحثين [Moreau 1985]، [Botton et al., 1990] يظهر على الحويصلة Vesicule أفنية خضراء مزرقنة تتحول إلى خضراء برونزية. تكون حوامل الأبواغ ملساء خضراء اللون تتراوح أبعادها ما بين 300 و500 ميكرومتر، تتسع في الأعلى على هيئة حويصلات نصف دائرية خضراء اللون خصبة في نصفها العلوي يتراوح قطرها بين 20 و30 ميكرومتر، تتوضع الزوائد ذات القطر (2-3 إلى 6-8) ميكرومتر في مجموعة واحدة متوازية على محور حامل الأبواغ وهي متوافقة مع ما ذكره [Dehimat 1990]. (شكل 1).

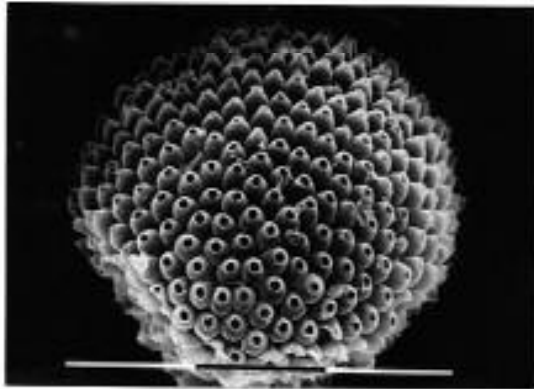
- تنقية السموم الفطرية من عزلة الفطر *Aspergillus fumigatus*

حددت قيم معامل الانتشار لكل مادة أيضا تحت الأشعة فوق البنفسجية عند الموجتين 254 و365 نانومتراً، فنتبين وجود عشرة مركبات منفصلة لكل منها موصفات لونية مميزة (جدول 1).

لوحظ تداخل بين المركبات في أثناء انتشارها في عمود أكسيد الألمنيوم، وتقارب في معامل انتشارها على ألواح السيليكاجل وبدل هذا على وجود تقارب بينها في التركيب الكيميائي، وهذا ما لاحظته [Robert et al., 1981]



الحامل البوغي
Conidiophore



Sterigmata
أو
Phialide

الشكل (1) الحامل البوغي و فياليدات عزلة الفطر *Aspergillus fumigatus*
تحت الميكروسكوب الالكتروني (تكبير 3320) [Dehimat 1990]

الجدول (1) توزيع السموم الفطرية لعزلة الفطر *A. fumigatus* على ألواح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من السيليكاجل GR 245

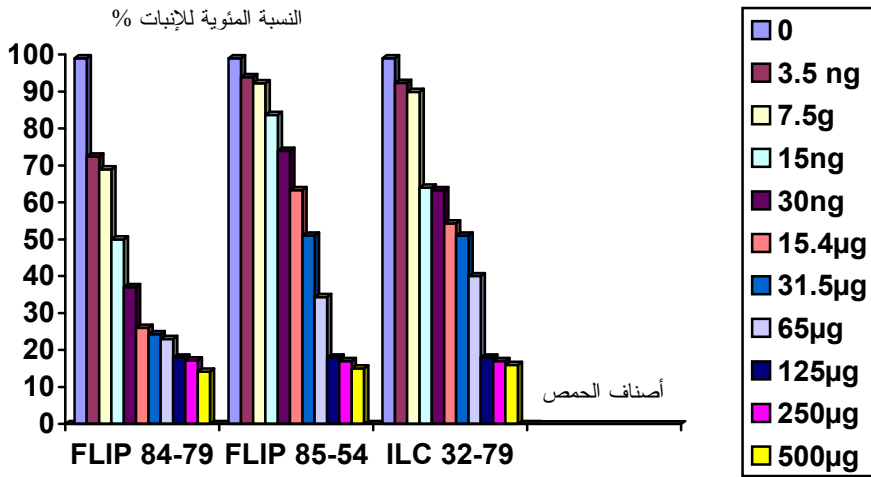
معامل الانتشار عند الموجة		لون البقعة	رقم البقعة
365 نانومترا	254 نانومترا		
	0.051	بنى	1
	0.093	أصفر برتقالي	2
0.218		أجري	3
	0.375	أصفر باهت	4
0.505		أزرق باهت	5
0.590		أخضر	6
	0.665	أجري	7
	0.697	أخضر مزرق	8
	0.821	بنفسجي	9
	0.937	بنى	10

تأثير التراكيز المختلفة من السموم الفطرية لعزلة الفطر *A. fumigatus*

في إنبات بذور بعض أصناف الحمص

أظهرت نتائج التجربة الموضحة في الشكل (2). تبايناً في حساسية أصناف بذور الحمص لمختلف تركيز المواد الأيضية الثانوية لفطر *Aspergillus fumigatus* وقد سجلت أقل نسبة إنبات في بذور الصنف (Flip 84-79) عند تركيز 500 ميكروغرام/مل وبلغت 14.14 %، في حين كانت نسبة إنبات بذور الحمص 16 و 15 % لكل من الصنفين Flip85-54 و ILC 32- 79 على التوالي عند تعريضها للتركيز نفسه. كما تزداد النسب المئوية للإنبات عند مختلف الأصناف مع انخفاض تركيز المواد الأيضية الثانوية للفطر.

لوحظ أن درجة تحمل بذور الصنف ILC 32 -79 و Flip 85 -54 للتراكيز المختلفة أكبر مقارنة بالصنف Flip 84-79، فبلغت النسبة المئوية للإنبات للصنفين الأولين عند تركيز 31.5 ميكروغراماً/مل 51.02% و 51.02% في حين بلغت نسبة 26% في الصنف Flip 84-79، مما يدل على أن الصنف الأخير أكثر حساسية من الصنفين الأولين.



الشكل (2) النسبة المئوية لإنبات بذور أصناف مختلفة من الحمص المعاملة بتراكيز مختلفة من السموم الفطرية للعزلة *A. fumigatus*

إن نتائج هذا البحث مؤيدة لما وجدته Spilesbury and wilkinson 1961 ; Moreau 1986 على الذرة الملقحة بألفلاتوكسين B1 و Nahdi *et al.*, 1982 بالنسبة لبذور الحمص الملوثة بالفطريات، Abrason *et al.*, 1983 على بذور الشعير و Dehimat 1990 على بذور القمح الصلب والشعير. وكان Bottomley *et al.*, 1952 قد أكد انخفاض إنبات حبوب الذرة عند تخزينها في ظروف غير ملائمة في أثناء التخزين. أما Christensen 1964 فقد لاحظ أن الذرة الخالية من الفطريات لا تتغير خصائصها عند محتويات رطوبة مختلفة وتصل نسبة الإنبات 100% مدة 91 يوماً. وبين Moreneau and Christensen 1970 إنخفاض نسبة إنبات الحبوب الملقحة عندما كان محتواها من رطوبة 17%، فبلغت 6% بعد 10 أسابيع من التخزين، بينما بلغت نسبة إنبات الحبوب غير الملقحة بالفطريات والمخزنة للمدة نفسها نحو 98% .

REFERENCES المراجع

- Abrason, D. N.; A. Simber and J. T. Mills. (1983). Mycotoxin formation in barley stored at 16 and 20% moisture in Manitoba. *Cereal. Chem.* 60 (5): 350 - 355
- Atallah, M. M.; M. M. Fahim and Y. A. Abdou. (1979). International phytopath. conference Book, 2, Cairo, 21-24 March 1979:745 -756.
- Atallah, M.M. (1983). International mycotoxin conference 1 Cairo, 19th March (Abst.).
- Bhutta, A. R; and S. Ahmed. (1989). Seed-brone fungal pathogens of maize in Pakistan . *Journal of Science . Industrially Research.*, 32: 107-109.
- Bottamley, R. A. ; CHRISTENSEN, C. M. and W. F. Geddes. (1952). Grain storage stadies 10: The influence of aeration time, and moisture content on fat acidity, non reducing sugar, and molde flora of stored yellow corn. *Cereal. Chemistry, Society* 29 :53-64.
- Botton, B.; Breton, A.; Fevre, M. Guy, Ph. Larpent, J.; P. Veau. (1990). *Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle.* 2 ° Edition Masson, Paris, New-york, Barcelonne, Millon, Mexico, Saopawlo.
- Christensen, C. M. (1964). Effect of moisture content and lenght of storage period upon germination percentage of seeds of corn, wheat, and barley free storage fungi. *Phytopathology* 54:1464-1466.
- Davis, N. D.; Diener, V. I. and D. W. Eluridj. (1966). Production of aflatoxin B1 and G1 by *Aspergillus flavus* in a semi synthetic medium. *Appl. Microbiol.* 14: 378-380.
- Dehimat, L. (1990). Etudes des mycotoxines de moisissures contaminantes les céréales et légumes secs variées. Thèse de magister, ISN. Uni. constantine.
- dorthy, E. T. and M. C. Christensen. (1986). *Aspergillus fumigatus* a new species in the *Aspergillus ochraceus* groups . *Mycologia* 78(3):475-477.
- Hess, W., and Stocks, D. C. (1969). Surface characterizes of *Aspergillus conidia* . *Mycologia* 61:560 -571 .
- Kirksy, J. W. and R. J. Colle. (1977). Serming for toxin production fungi. *Mycopathologia et Mycologia Application* 54 : 2921- 29.
- Moreau, F. (1985). Les champignons. "Physiologie. Morphologie. Développement et Systématique". P:1360-136
- moreau, F. (1986). Moisissures toxiques dans l'alimentation. *Encyclopédie Mycologique XXXV* , Paris .
- Moreneau, M. E. and M. C. Christensen. (1970). Effect of moisture and fungi on the viability of stored maize. *Reveta. Lat. An. Microbiol.*12 115 - 121 .
- Nahdi, S.; Nurath, M. ; Batoul, H. and V. Nagamani. (1982). Aflatoxin B1 contamination and seed mycoflora of gran (*Cicer arietinum* L.) during storage. *Indian Journal Botanique.* 5(2) : 196 – 198.
- Pitt, J. I; Et A. D. Hocking. (1985). *Fungi and food silage.* Academic Press Sydney.
- Robert, A., Samson Ellem, S.; Hoekatra and A. N. Cenni Vanoorschaf. (1981). *Introduction to fungi control.* Bureau Voorchime, Cultures Institutes of the Royal Netherland Academy of Arts and Sciences
- Spilsbury, J. F. and Wilkinson, S. (1961). The isolation of festuclavine and two new clavine alkaloids from *Aspergillus fumigatus* fress. *Cereal. Chemistry, Society.* 2085 - 2091.
- حلوب علي حميد، طالب أحمد عيسى، حامد محمود جدعان. (1990). محاصيل البقول، رقم الإيداع 282، كلية الزراعة، جامعة بغداد، مطابع التعليم العالي.
- قشلاق عدنان. (1990). مورفولوجيا النباتات، منشورات جامعة حلب للعلوم.

Received	2007/03/18	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2008/06/03	قبول البحث للنشر