مجلة المختار للعلوم
مجلد (28)، العدد (02)، السنة (2013) 127-136
جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا
رقم ايداع دار الكتب: 280\2013\بنغازي

حصر للفطريات المحمولة في بذور البقوليات وفصل سمومها

نوارة على محمد[1]، فوزية مفتاح بونصيرة[2] ونجوى عبد الستار إبراهيم[3]

[1] قسم وقايةالنبات، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا، بريد الكتروني:
noboshakoa38@yahoo.com
[2] قسم النبات، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا .
[3] قسم النبات، كلية العلوم، جامعة عمر المختار، درنه، ليبيا .

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v28i2.163

الملخص

أجريت هذه الدراسة بهدف عزل الفطريات المحمولة والمرافقة لبذور البقوليات المتداولة فى السوق المحلى وفصل سمومها، حيث تم جمع ست أنواع من البقوليات وهى الفاصولياء، الحمص، الفول، البازلاء، اللوبيا والعدس من المنطقة الشرقية الممتدة من مدينة بنغازي حتى مدينة طبرق، وقد اشارت نتائج هذه الدراسة إلى التباين في حيوية البذور ونسبة المصابة منها وسجلت فروق معنوية بين البذور المختبرة والمناطق المدروسة، سجلت نتائج العزل على عينات البذور المختبرة أن أعلى تواجد للفطريات فى محصول الفاصوليا في الموقعين بنغازي وطبرق بنسبة 92% و 65% على التوالي، فى حين لم تتجاوز 30% فى بذور الحمص والبازلاء، وكانت فى الفول بنسبة 25%، 27.5% ، فى حين خلت بذور العدس من الفطريات (0%). أهم الفطريات المعزولة من العينات المختبرة هى:

Fusarium sp. ، Penicillium sp.، Asperigullus flavus ، Asperigullus niger ، Asperigullus sp.، Rhizopus sp ،Sclerotinia sp. ، Botrytis sp.

الكشف عن السموم الفطرية باستخدام الأشعة فوق البنفسجية دل على وجود الافلاتوكسين في عينات بذور الحمص و الفاصوليا والفول التى جمعت من منطقتي بنغازي وطبرق على التوالي، فى حين كانت بذور البازلاء واللوبيا والعدس خالية من السموم.

تاريخ الاستلام: ديسمبر 20، 2012؛ تاريخ القبول: ديسمبر 10، 2013.
© الباحث (الباحثون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

Abstract

The aim of this study was to isolate the fungi borne on the seeds of some legumes and to extract their toxins. Six types of dried legume seeds were collected from the local market (Benghazi to Tobrok) in the such as: white bean, chickpea, faba beans, pea, black eyed pea, lentil, The results showed that there were differences among the areas of study and that there were significant differences between the seeds. The highest presences of fungi was found on the white bean especially in Benghazi and Tobruk, where the percentage were 92% and 65%, respectively. The chickpea and pea did not exceed 30%, while faba bean recorded 25% and 27.5% in Benghazi and Tobruk, respectively. These results also showed that the lentil seeds were free of fungi.the seeds were carried fungi such as: *Penicillium* sp, *Botrytis*, *Fusarium* sp, *Sclerotinia*, *Asperigullus* flvus, *Rhizopus* sp, *Alternaria* sp. *Asperigullus niger*, *Asperigullus* sp, these fungi were isolated after incubation in dishes contained Agar medium at 25±5°C.

The presence of aflatoxins was the highest in the seeds of chick pea followed by bean and faba bean seeds in Benghazi and Tobruk, respectively, no toxins were detected in pea, black eyed pea, and lentil seeds.

مفتاح الكلمات: بذور البقوليات، الفطريات، سموم الأفلاتوكسين، ليبيا Survey, seed borne fungi, leguminous, aflatoxins, Libya

1. المقدمة

تعد بذور البقوليات الجافة من المحاصيل الرئيسية التي تستهلك كغذاء للإنسان لان محتواها عالي من البروتينات المناظرة للبروتينات الحيوانية في قيمتها الغذائية، الكربوهيدرايت، العناصر المعدنية والفيتامينات (أبوغرسة، 2001)، وتتميز هذه البذور بأنها وسط جيد لنمو الفطريات مع غياب شروط النقل والتخزين الصحيحة مثل الرطوبة، الحرارة، التهوية المناسبة، مسببه بذلك تلون البذور وتلفها وتدهور نوعيتها (ميخائيل وتركي، 1982، Sharif وآخرون، 1987)، واغلب هذه البذور مستوردة من خارج ليبيا وتنقل وتخزن ويتم تداولها بدون مراعاة للشروط المثالية للتخزين مما يؤثر على صحة الإنسان وعندما تطول فترة التخزين تفرز تلك الفطريات السموم التي تلوث هذه البذور وتصبح غير صالحة للإستهلاك (الجالي، 1996)، ولهذه السموم تأثيرات على الصحة، حيث يؤدى الى خفض وزن الفئران البيضاء، وانخفاض فى مستوى البروتين والالبومين فى الدم كما يسبب تغيرات فى الكبد (Kocabas وآخرون 2003)، كما أشارت كثير من الدراسات الى دور البذرة فى حمل الفطريات مثل *Asperigullus niger* ، *frequentans* *Penicillium* ، *Fusarium oxysporium* ، *Rhizopus* sp ، *Phomopsis* sp. من موسم لاخر على بذور الحمص (عبدالله، 2006)،

كما تم عزل الفطرين *Asperigullus ochreceus* ، *Penicillium* من بذور فول الصويا والعدس والسمسم والحمص(El-Kady واخرون 1986)، وفي مصر تم عزل *Asperigullus*، *Penicillium*، *Rhizopus*، *Mucor* من بذور الحمص والفاصولياء والبازلاء والعدس (Abd Al-Hafez، 1988)، وفى دراسة اخرى اجريت في الساحل الغربي من ليبيا شملت 14 نوع من الحبوب (قمح، شعير، شوفان، فول السوداني، حمص، عدس، فاصولياء، بازلاء، حلبة، فول، أرز، الذرة الصفراء، قصب، ذرة سكرية) تم عزل الفطريات .spp *Asperigullus* ، *Penicillium* spp.، *Rhizopus* spp.، *Helminthosprium* spp.، *Chaetomium* spp.، *Ericothecium* spp.، *Acremonium* spp. ، *Alternaria* spp. ، *Tricothecium* spp. (بو حليقة، 2009). في العراق تم عزل 12 جنس من هذه الفطريات محمولة ومرافقة لبذور البقوليات وهي: *Alternaria* spp. ، *Aspergillus* spp. ، *Ascochyta* spp. ، *Chaetomium* spp.، *Cladosporium* spp. ، *Fusarium* spp. ، *Geotrichum* spp. ، *Penicillium* spp.، *Rhizoctonia* spp. ، *Rhizopus* spp. ، *Stemphylium* spp. ، *Verticillium* spp.(سرحان، 2009). نظرا لاستهلاك البقوليات كبذور جافة بمعدلات عالية والتي تكون غالبا مستوردة، ومع غياب شروط النقل والتخزين والتداول الصحيحة مما أدى إلى وجود بيئة مناسبة للفطريات بداخل أو على سطح هذه البذور، فقد استهدفت هذه الدراسة عزل وتعريف الفطريات المحمولة عليها وبداخلها، والكشف عن وجود السموم الافلاتوكسين بها.

2. مواد وطرق البحث

جمع العينات:

تم جمع عينات من محاصيل بذور وهى الحمص *Cicer arietinum* ، الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* ، البازلاء *Pisum sativum*، اللوبيا *Vigna unguicutata*، العدس *Lens esculenta* والفول *Vicia faba* من اسواق مناطق تقع فى الشمال الشرقى من ليبيا وهى على التوالى (بنغازى، المرج، البيضاء، درنة، التميمى وطبرق)، حيث بلغ عددها 180 عينة بمعدل (30 عينة من كل صنف)، وأحضرت إلى معمل أمراض النبات بقسم وقاية النبات التابع لكلية الزراعة–جامعة عمر المختار، البيضاء ووضعت فى أكياس ورقية بمعدل كيلو جرام من كل متجر (خمس متاجر لكل موقع) وتم خلط العينات لتمثل موقع واحد في منطقة الدراسة والتى شملت 6 مواقع بمسافة على طول الساحل الشمالي الشرقي من ليبيا ابتداء من مدينة بنغازي وحتى مدينة طبرق.

فحص البذور الجافة:

تم فحص البذور مباشرة بعد وصولها للمعمل تحت المجهر التشريحي بعد تسجيل وجود الشوائب والحصى المختلطة مع العينة، و لتحديد الفطريات المتواجدة على سطحها.

اختبار حيوية البذور:

تحت ظروف التعقيم تم وضع 10 بذور/ طبق بترى الحاوى على أوراق ترشيح مبللة، وحضنت على درجة حرارة الغرفة (25°م) لمدة 7 ايام مع المحافظة على رطوبة الاطباق، ثم قدر نسبة الحيوية (عدد البذور النابته/عدد البذور الكلية)*100.

عزل وتحديد الفطريات:

طريقة ورق الترشيح المبلل:

باستخدام أطباق بتري معقمة تحتوى على ثلاث طبقات من أوراق الترشيح مبلله بالماء ، عقمت 5 بذور سطحيا بالكحول الايثيلى 70% لمدة دقيقتين ثم غسلت بالماء المعقم للتخلص من الكحول وجففت على أوراق الترشيح المعقم، وباستعمال ملقط معقم. نقلت البذور إلى الأطباق بمعدل 5 اطباق لكل نوع من بذور البقوليات، وحضنت الأطباق عند درجة 25 ° م (16ساعة ضوء و8 ظلام). (الجالي ، 1996 و عبد الرحيم، 1995) ثم اخذ القراءات بعد 4 و8 أيام من التحضين.

طريقة مستنبتات الآجار:

وضعت 5 بذور معقمة سطحيا في طبق بتري يحتوى على الوسط الغذائى بيئة بطاطس دكستروز اجار (PDA) بمعدل 5 اطباق لكل معاملة وتم تحضين الاطباق عند درجة 25 ° م .

تنقية وتعريف الفطريات:

تم تنقية المستعمرات الفطرية بأخذ قرص قطره 0.5 من كل مزرعة فطرية ووضعها على اطباق جديدة تحتوى البيئة الغذائية PDA. تم تعريف هذه الفطريات بناء على مواصفات المستعمرات (شكل و حجم ولون المستعمرة) النامية على PDA وتجهيز شرائح ميكروسكوبية بصبغة لاكتوفينول لدراسة مواصفات كل فطر تحت المجهر

اعتمادا على المراجع (Toussoun و Nelson 1976)، (Alexopoulos وMime 1979)، (Barnett و Hunter ، 1998)، (Mathur و Kongsdal، 2003) ومنشورات(CMI,1966a)، (CMI,1966b)، .(CMI,1966c)

فصل السموم الفطرية:

لفصل سموم الافلاتوكسين اتبعت الطريقة التي ذكرها Jones (1972) حيث قسمت العينة إلى 4 أقسام متساوية، واخذ من كل قسم منها كميه مقدارها 20 جرام على شكل دقيق وأضيف إليها 100 مل هكسان ووضعت على درجة 40–60 °م في حمام مائي لمدة 4 ساعات لإزالة الدهون واخذ العينة المعاملة 10 جرام من العينة المعاملة في دورق مخروطي سعة 250 مل وأضيف لها 10 مل ماء مقطر ومعقم و100 مل كلورفورم ثم رجت في الهزاز(نوع Shaker) لمدة 30 دقيقة لاستخلاص الافلاتوكسين وتم ترشيح الخلاصة بواسطة ورق ترشيح رقم 1 ووزعت الرشاحة في أنابيب اختبار ووضعت في حمام مائي فى درجة حرارة 70م° لتبخير الكلورفورم ولتركيز الخلاصة حتى حجم 1مل. لفصل الرشاحة قد استخدمت ألواح زجاجية مغطاة بطبقة رقيقة من السيلكا جل قياس 20 X 20 للفصل الكروموتوغرافى باستخدام سلسلة من المذيبات (ايثايل استيت وكلورفورم وحمض الخليك) وبعد نهاية الفصل والتجفيف فحصت الالواح تحت الاشعة فوق البنفسجية وعلمت مناطق الفصل بوساطة قلم رصاص لدلالة على وجود الافلاتوكسين الذى يعطى شعاع ازرق.

3. النتائج

بينت نتائج الفحص الجافة لبذور المحاصيل المختبرة وهى الفاصوليا، الحمص، الفول، البازلاء، اللوبيا والعدس الى خلو هذه البذور من الحشرات والحصى والشوائب وعدم وجود تشوهات او تكسير لهذه البذور، عدا بذور الفاصوليا المتحصل عليها من أسواق بنغازي فقد سجل عليها تلون فى قصرة البذرة، كما لم تظهر نتائج المشاهدة تحت المجهر التشريحى وجود اى تراكيب فطرية، و تشير نتائج هذه الدراسة الى انخفاض فى حيوية البذور ويزداد هذا الانخفاض بزيادة عدد البذور المصابة والتى عزلت منها الفطريات بعد تحضينها، ومن الجدول (1) يتضح وجود اختلاف فى نسبة تواجد الفطريات باختلاف نوع البذرة ومنطقة الدراسة، وقد اختلفت النسبة المئوية للإصابة في البذور المختبرة في كل المناطق، حيث سجلت نسبة 92% فى بذور الفاصوليا المجموعة من بنغازي، يليه الحمص والبازلاء 30 % في بذور المتحصل عليها من طبرق ودرنة، في حين كانت الإصابة فى الحمص والفول 25% للبذور التى تم جلبها من المرج وبنغازي. هذا وقد أظهرت نتائج الدراسة الموضح في الجدول(1) أن بذور محصول العدس لم يسجل عليها أي فطريات في كل المناطق المجموعة منها، أما نتائج

اختبار حيوية هذه البذور فقد سجل أعلى نسبة إنبات فى البذور المختبرة 100% لبذور اللوبيا والبازلاء والتى بلغت نسبة اصابتها (0%)، بينما انخفضت نسبة انبات بذور الفاصوليا إلى 10 % فى حين بلغت نسبة إصابتها 92.5% وقد عزلت منها معظم الفطريات المسجلة فى هذه الدراسة.

مناطق الدراسة	نسبة الانبات ونسبة الإصابة (%) في البذور المختبرة											
	فاصوليا		حمص		فول		بازلاء		لوبيا		عدس	
	انبات%	اصابة%	انبات%	اصابة%	انبات%	اصابة%	انبات%	اصابة%	انبات%	اصابة%	انبات%	اصابة%
بنغازي	10	92	97.5	12.5	47.5	25	29.5	7.5	77.5	0	0	0
المرج	95	10	50	25	50	0	100	0	100	25	0	0
البيضاء	92.5	20	55	10	50	7.5	100	0	100	5	0	0
درنة	87.5	7.5	52.5	22.5	45	10	67.5	30	2.5	0	0	0
التميمى	97.5	12.5	65	20	55	22.5	2.5	0	75	0	0	0
طبرق	62.5	65	50	30	35	27.5	75	5	5	0	0	0

LSD 5%		نسبة الانبات	نسبة الاصابة
	المناطق	37.2	18.1
	البذور	37.2	18.1
المناطق* البذور		16.7	8.1

4. المناقشة

بينت نتائج العزل من بذور البقوليات المختبرة تسجيل وجود الفطريات هى:

Penicillium sp.، *Asperigullus flavus* ، *Asperigullus niger* ، *Asperigullus* sp. ، *Rhizopus* sp ، *Sclerotinia* sp. ، *Botrytis* sp.، *Fusarium* sp. اتفقت هذه النتائج مع كل من (Abdel-hafes 1988) (Sarhan، 2006) (Al-Abdalall، 2010)، ويتضح من النتائج ان بذور الحمص هى الأكثر تلوث بالفطريات فقد تم عزل وتعريف 20 نوع فطرى منها أنواع من الجنسين *Aspergillus* sp و *Alternaria* sp بالاضافة الى *Pencillium* والاجناس الممرضة منها *Botrytis* و *Sclerotinia* وقد توصل الى هذه النتائج كل من (عبدالله 2006) (Margaret واخرون 2013)، كما تشير النتائج الى ان الفطريات الملوثة للبذور تختلف باختلاف النوع النباتى، فقد سجلت على بذور الحمص عدد من الفطريات هي *Asperigullus* sp. ، *A. niger* ، *A. flavus* إضافة إلى *Penicillium* sp. و *Alternaria* sp. أما من بذور الفول فعزل منها *Asperigullus* sp.، *A. niger* ، *Rhizopus* sp. ، *Fusarium* sp. ، *Alternaria* sp. . وأما الفطريات المعزولة من بذور البازلاء في ثلاث مناطق فقط (بنغازي ودرنة وطبرق) هي *Asperigullus* sp. ، *A. niger* ، *Fusarium* sp.، *Penicillium* sp. وفى حين كانت باقى مناطق بذورها خالية من الإصابة. اللوبيا فقط في بنغازي سجل عليها الفطريات التالية *Fusarium* sp.، *Penicillium* sp.، *Asperigullus* sp. والعدس لم يسجل أي إصابة عليه ، وهذه الفطريات سجلت على البذور العديد من المحاصيل كما ذكرها كل من (الجالي ،1996)، (عبد الله،2006) و (سرحان، 2009).

ومن النتائج نلاحظ أن السموم فطرية فصلت من بذور الفاصوليا والحمص الفول التى سجل عليها وجود فطر *Asperigullus* sp. الذى له اهمية فى انتاج سموم الافلاتوكسين (Habish، 1972) (الجالي ،1996) وهذه النتائج تؤكد على ان غياب انواع الفطر فى بذور البازلاء، اللوبيا والعدس نتج عنه خلوها تماماً من سم الافلاتوكسين فى جميع العينات المتحصل عليها من المناطق المختبرة، ومن جهة اخر عند حساب نسبة انبات هذه البذور المختبرة، فان النتائج أشارت إلى نسبة إنبات بذور الملوثة بجنس *Aspergillus* *أو* نوع *Asperigullus flavus* تتراوح ما بين 50-55% ، مما يشير الى ان انخفاض حيوية هذه البذور بسبب ظروف التخزين والتداول أو يعزى الى تأثير الفطريات المعزولة منها أو يرجع هذا الانخفاض فى نسبة الانبات الى السموم المنتجة بواسطة فطر *Aspergillus* ، وقد اكد العيد واخرون (2009) أن زيادة تركيز السموم الفطرية تخفض النسبة المئوية للإنبات بذور، اى ان هذه السموم من العوامل التثبيطية والمخفضة لحيوية

البذور، حيث ادى معاملة بذور الفول بالمترشح الفطرى المحتوى على السم الفطرى الافلاتوكسين الى خفض معدلات الانبات هذه البذور التى كانت حساسة لهذا السم، بالاضافة الى انخفاض في الانشطة الانزيمية للانزيميين (السليليز والاميليز) مقارنة ببذور غير المعاملة كما بينه(Janardhan واخرون 2011)، فى الدراسات حديثه التى أشارت فطر *Asperigullus flvus* الى انتاجه فصله وتعريف السموم الفطرية (الافلاتوكسين) الملوثه للمواد الغذائية التجارية باستخدام الطرق الحديثة مثل تقنيات الفصل الكرموتوغرافى عالى الاداء (Uegaki واخرون 2010)، وخاصة عند توفر الظروف التخزينية الملائمة والتى تعد عامل مؤثر جدا المتمثلة فى نسبة الرطوبة ودرجة الحرارة وتركيز الاكسجين(Marai وAsker ، 2008) حيث ينتج عن الجو الجاف خفض الاصابة بالفطريات ويجعل البيئة غير مناسبة لنموه ولتكاثرالفطريات، كذلك لانتاج سمومها.

وتعد الاجناس *Aspergillus* و *Pencillium* من فطريات التخزين التى تهاجم البذور تحت ظروف الرطوبة العالية كما ذكر(Agarwal و Sinclair 1987)، كما تشير النتائج الى تسجيل 4 أجناس من الفطريات الممرضة المنقولة بواسطة البذور *Alternaria* sp, *Fusarium Botrytis, Sclerotinia,* و التى تنتج عنها اصابة جهازية او موضعية وفقا لما أشار إليه (Agarwa l وآخرون 1987)، كما تشير نتائج هذه الدراسة الى عزل فطر *Alternaria alternate* من بذور الحمص (Dhole و Gurme 2013) وفطر *Aspergillus* من بذور اللوبيا وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره (عبد و رمضان 2009) حيث أكدت دراستهما إلى أن هذين الفطرين تتميز بقدرتها على انتاج انزيم السليلوليز Cellulose الذى يلعب دور فى الامراضية بسبب ما ينتج عنه من تحلل الجدر الخلوية النباتية.

المراجع

أبوغرسة، صلاح الدين مصطفى (2001) أساسيات علم وتقنية البذور. *منشورات جامعة عمر المختار، دار الكتب الوطنية – بنغازي، ليبيا*.

الجالي، زهرة إبراهيم (1996) "تلوث بذور بعض المحاصيل بسموم الافلاتوكسينات بالجبل الأخضر. *رسالة ماجستير، جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا*.

العيد، دهيمات، بوزيان، زهيره، نورالدين، قاسم شاوش، عبدالحكيم، بلعيدى وعبدالعزيز، وداد (2009) تأثير السموم الفطرية لعزلة الفطر Aspergillus fumigatus فى انبات بذور بعض أصناف الحمص. *مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، 25، 95-106*.

بو حليقة، الطاهر أحمد(2009) حصر للفطور المرفقة للحبوب، مجلة وقاية النبات العربي ، *ملخصات المؤتمر العاشر لوقاية النبات*، 27، 50.

سرحان، عبد الرضا طه (2009) تشخيص الفطور المحمولة بالبذور والمرافقة لبذور بعض البقوليات وأسلوب مكافحتها حيويا في العراق. *مجلة وقاية النبات العربية*، 27، 135– 144.

عبدالرحيم، عوض محمد والعوشار، محمد عبدالجواد (1995) أمراض البذور. *منشورات جامعة عمر المختار، دار الكتب الوطنية – بنغازي، ليبيا.*

عبدالله، نجاح سليمان (2006) عزل واختبار القدرة الإمراضية للفطريات الممرضة المحمولة على بذور الحمص بالجبل الأخضر، *مجلة المختار للعلوم*، 13، 93–101.

عبد فاتن نوري ملا ورمضان، نديم احمد (2010) الفطريات المنتجة لأنزيم السليوليز والمحمولة ببذور بعض أنواع البقوليات. *مجلة علوم الرافدين*، 21، 57-65.

ميخائيل، سمير وتركي، بيدر (1982) أمراض البذور. *جامعة الموصل، وزارة التعليم العالي، العراق*.

Abd Al-Hafez, A. (1988) Mycoflora of broad bean chickpea and Ientil seed in Egypt. *Crypto gamie-mycologia* 9, 335-343.

Agarwal, V.K. and Sinclair, J.B. (1987) Mechanism of seed infection. *in Principles of seed pathology, CRC Press, Inc*. 176.

Agarwal, V.K. and Sinclair, J.B. (1987) Seed transmition and inoculation. *in Principles of seed pathology, CRC Press, Inc.* 176.

Al-Abdalall, A.H.A. (2010) Pathogenicity of fungi associated with leguminous seeds in the Eastern kingdom of Saudi Arabia. *African Journal of Agricultural Research*, 5, 1117-1126.

Alexopoulos, C.J. and Mime, C.W. (1979) Interoduction Mycology. *John Wiley and sons, 3rd Edition*.

Marai, I.F., Asker, A.A. (2008) Aflatoxins in rabbit production: hazards and control. Tropical and subtropical Agroecosystems, 8, 1-28.

Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1998) Illustrated genera of imperfect fungi. *The American Phytopathological Societ*, 130- 132.

CMI (1966a) Description of Pathogenic fungi and bacteria. *Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. No. 96. June,1966*.

CMI (1966b) Description of Pathogenic fungi and bacteria. *Commonwealth Agricultural Bureaux, No. 91. June,1966*.

CMI (1966c) Description of Pathogenic fungi and bacteria. *Commonwealth Agricultural Bureaux, No. 94. June,1966*.

Dhole, A.C.and Gurme, M.K. (2013) Utilization of Withania Somnfera (L.)Dunal To Control Seed Borne Fungus Alteraria Alternata (Fr.) Keissler. *J. Chem. Bio. Phy. Sci.*, .3, 723-726.

El-Kady, I.A., El-maghraby, O.M. and Saber, S. (1986) Halophilic or halot-olerant fungi of four seeds from Egypt. *Cryptogamie-mycologie*, 7, 289-293.

Habish, H.A. (1972) Aflatoxin in haricotbean and other pulses. *Exp. Agric.*, 8, 135-173.

Janardhan, A., Subramanyam, D., Praveen Kumar, A., Reddi Pradeep, M. and Narasimha, G. (2011) Aflatoxin Impacts on Germinating Seeds. *Annals of Biological Research*, 2, 180-188.

Jones, B.D. (1972) Method of aflatoxin analysis. *Report of the Tropical products Institute*, 24, 35-39.

Kocabas CN, Coşkun, T., Yurdakök, M., Haziroğlu, R. (2003) The effects of aflatoxin B1 on the development of kwashiorkor in mice. *Hum Exp Toxicol. Mar*, 22, (3), 155-158.

Margaret, E., Neeraja, P.V. and Rajeswari, B. (2013) Screening of Seed Borne Mycoflora of Cicer arietinum L. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 2, (8), 124-130.

Mathur, S.B. and Kongsdal, O. (2003) Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. *International Seed testing Association, Bassersdorf, CH- Switzerland, 425*.

Sarhan, A.R.T. (2006) Identification of seed borne fungi associated with some leguminous seeds in iraq and their control, *Ninth Arab Congress of Plant Protection, 19-23 November 2006, Damascus, Syria*, 68-69.

Sharif, F.M., Sarhan, A.R., Hegazi, A.M., Fatah, A.H., and Salam, M. (1987) Fungi associated with broad bean seed and their control. *Journal of Univ. Kuwait (Sci.)*, 14, 331-336.

Toussoun, T.A. and Nelson, P.E. (1976) Fusarium a Pictorial guide to the identitfication of Fusarium species according to the taxonomic system of snyder and Hansen. *The pennsylvania state university press university park and London, Second Edition*, 43.

Uegaki, R., Tsukiboshi, T. and Cai, Y. (2010) Aspergillus flavus producing aflatoxins isolated from materials of commercial feed in Japan. *JARQ* , 44, 421-427.