تأثير استخدام المستخلص المائي والكحولي لنبات أكليل الجبل على فطر الرشاشية الصفراء المعزولة من الأعلاف في محافظة حماة

عبدالعزيز الحاج نعسان* عبد الكريم حلاق** سنا علوان***

(الإيداع :23 حزيران 2024 ، القبول: 12 آب 2024)

الملخص:

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم مدى انتشار تلوث اعلاف الدواجن والمجترات بفطر الرشاشية الصفراء والى تقييم الفعالية التثبيطية لمستخلص أكليل الجبل المائي والكحولي إزاء فطر الرشاشية الصفراء المعزولة من الأعلاف. حيث أجريت هذه الدراسة في الفترة الواقعة ما بين 2023/5/16 إلى 20/ 8/ 2023 في مخبر الكيمياء الحديثة في كلية الطب البيطري في جامعة حماة. إذ تم جمع عينات الدراسة من مخازن اعلاف الدواجن والمجترات في محافظة حماة.

أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع مستوى تلوث أعلاف الدواجن والمجترات بفطر الرشاشية الصفراء حيث بلغت نسبت انتشار فطر الرشاشية الصفراء في اعلاف الدواجن 24% وفي أعلاف المجترات 56%.

كما أظهرت النتائج عن وجود فعالية تثبيطية لمستخلصي أكليل الجبل المائية والكحولية حيث بلغت قيمة التركيز المثبط الأدنى للمستخلص المائي 18 ملغ/ مل أما المستخلص الكحولي كان أكثر فعالية من المستخلص المائي إذ بلغت قيمة التركيز المثبط الأدنى للمستخلص الكحولي 14 ملغ/مل.

نستنتج من هذه الدراسة ارتفاع مستوى التلوث بفطر الرشاشية الصفراء في اعلاف الحيوانات و وجود فعالية تثبيطية لمستخلصي نبات أكليل الجبل المائي والكحولي تجاه فطر الرشاشية الصفراء

الكلمات المفتاحية: أكليل الجبل، فطر الرشاشية الصفراء، أعلاف الحيوانات، افلاتوكسين، استخلاص.

*طالب دراسات عليا في قسم الصحة العامة والطب الوقائي– كلية الطب البيطري – جامعة حماة.

**أستاذ صحة الحيوان المساعد– قسم الصحة العامة والطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماة

***مدرس في قسم الأحياء الدقيقة – كلية الطب البشري – جامعة حماة

The effect of using aqueous and alcoholic extracts of the rosemary plant on the Aspergillus flavus isolated from feed in Hama Governorate.

Abdulaziz Alhaj Nassan[*], Abdulkarim Hallak[**] Sana Alwan[***]

(Received:23 June 2024 , Accepted:12 August 2024)

Abstract:

This study aimed to evaluate the prevalence of contamination of feed of poultry and ruminants with the Aspergillus flavus and Evaluate the inhibitory effectiveness of aqueous and alcoholic rosemary extract against the Aspergillus flavus isolated from feed. This study was conducted in the period from 16/5/2023 to 20/8/2023 in the modern chemistry laboratory at the College of Veterinary Medicine at the University of Hama. The study samples were collected from poultry and ruminant feed stores in Hama Governorate.

The results of this study showed a high level of contamination of poultry and ruminant feeds with the Aspergillus flavus, as the prevalence of the Aspergillus flavus in poultry feeds reached 24% and 56% in ruminant feeds.

The results also showed an inhibitory activity for the aqueous and alcoholic rosemary extracts, as the minimum inhibitory concentration value for the aqueous extract reached 18 mg/ml, while the alcoholic extract was more effective than the aqueous extract, as the minimum inhibitory concentration value for the alcoholic extract reached 14 mg/ml.

We conclude from this study that there is a high level of contamination with the Aspergillus flavus in animal feed and the presence of inhibitory activity of aqueous and alcoholic rosemary plant extracts against the Aspergillus flavus.

Key words: rosemary, Aspergillus flavus, animal feed, aflatoxin, extraction.

1. Master candidate –Department of public health and preventive medicine– Veterinary faculty – University of Hama
2. Ases. Prof in the department of public health and preventive medicine– veterinary faculty – University of Hama
3. PHD in Microbiology –Department of microbiology – Faculty of Medicine –University of Hama

المقدمة Introduction:

يعد التلوث بالفطور من أهم المشاكل التي تصيب المواد الأولية في غذاء الأنسان و أعلاف الحيوان، إذ أن توافر الظروف الملائمة لنمو الفطور بدءاً من الحقل ثم النقل والتخزين والتصنيع يزيد من هذا التلوث (Bennett and Klich , 2003) يعد الجنس Aspergillus من الفطريات الناقصة التي يمكن أن تنمو على مدى واسع من المواد الغذائية والنباتات والأعلاف وتتميز بعض أنواعه خاصة Aspergillus flavus و Aspergillus parasiticus بمقدرتها على إفراز سموم الأفلا (Aflatoxins) وهي من أكثر السموم الفطرية أهمية، والتعرض لها يؤدي إلى إحداث حالات من التسمم يدعى بالـ Aflatoxicoses اضافة الى مقدرتها في إحداث بعض الأمراض الخطرة مثل سرطان الكبد وتلف الأنابيب البولية (Nephrones)، وقد يؤدي التركيز المرتفع منه إلى الوفاة وتعد سموم الأفلا إحدى الملوثات الغذائية العالية السمية التي تدخل إلى السلسلة الغذائية ابتداءً من الحقل وحتى وصولها إلى المستهلك بطريقة مباشرة أو غير مباشر. كما يعد سم الأفلا B1 الأكثر سميّة والأكثر انتشاراً من بين السموم الفطرية التي عادة تلوث مجموعات كبيرة من السلع الزراعية والأعلاف (Abbès *et al.*,2012).

تمتلك النباتات الطبية العديد من الجواهر الفعالة مثل: الفينولات والقلويدات والفلافونويدات والبروتينات (Pawar *et al.*, 2019)، إذ تؤثر هذه الجواهر الفعالة المستخلصة من النباتات الطبية والعطرية في نمو الفطريات والبكتريا المسببة للأمراض وهذه الجواهر الفعالة ناتجة عن عمليات التمثيل الضوئي ومنها التربنتينات والتنينات والجليكوزيدات وغيرها من المواد الفعالة (Loi *et al.*, 2020,; Bhattachar, 2011)..

يعد نبات إكليل الجبل (Rosmarinus officinalis) من العائلة الشفوية (Labiatae) وهو نبات شبه شجيري صغير دائم الخضرة وله رائحة عطرية تشبه الكافور وله مذاق مر ، تحتوي أوراقه على الزيوت الطيارة بمقدار 2% (مثل زيت الكارفاكرول و الثيمول) بالأضافة الى مواد عضوية كالكافور، وهو منعش ومقوي لجريان الدم في الجلد، كما إن أوراقه المجففة لها مفعول مهدىء، مدرر للبول، مضاد للتقلص، مطهر ويستخدم في صناعة العطور، بالإضافة الى الزيوت الطيارة يحتوي نبات اكليل الجبل على بعض الاحماض الفينولية و حمض الروسماريك وبعض الفلافونويدات (حلاق وآخرون، 2022 ، قبيسي،2007 ، قبيسي، 2004 ، Singh et al., 2010). بينت دراسة للباحث (Lavanya and Brahmaprakash,2011) تأثير التربينات والحموض الفينولية والفلافونيدات المستخلصة بالإيثانول والكلوروفورم من أربعة نباتات منها إكليل الجبل(السيقان والأوراق) على فطر Fusarium oxysporum وعدد أخرمن الفطريات والبكتيريا، وكان لهذه المستخلصات تأثير تثبيطي عالي على نمو الأحياء المجهرية المدروسة وقد اشارت دراسة (Centeno *et al.*, 2010) الى وجود تأثير معنوي بتثبيط نبات اكليل الجبل لنمو كل من الفطر Aspergillus flavus و Aspergillus ochraceus وأشار الباحثون إلى إمكانية استخدام تراكيز قليلة من مستخلص اكليل الجبل لحفظ الأغذية وفي دراسة للباحث (Moghtader *et al.*,2011) وجدو أن النبات يحتوي على 41 مركب من الزيوت الطيارة وقدر قام الباحثون بدراسة تاثير هذه الزيوت الطيارة والمضاد الحيوي الجنتامايسين والمبيد الفطري Benomal 10% على فطر Aspergillus flavus ولاحظوا أن الزيوت الطيارة لها تأثير مثبط عالي على الفطر مقارنة بالمستحضرين الآخرين إذ أن لهذه الزيوت الطيارة وخاصة مركب Pinene وهو من التربينات الأحادية (Monoterpenes) تأثير مثبط على نمو الفطور.

وقد ذكر ابراهيم والجبوري (1998)، أن أفضل الطرق للحد من تلوث المواد الغذائية والمحاصيل الزراعية بالفطور تكمن في منع توفير الظروف الملائمة لنموها، وبالتالي حماية الإنسان والحيوان من خطر الإصابة بالأمراض، بالإضافة إلى ضرورة فحص كافة المواد المستخدمة في صناعة الأعلاف للتأكد من سلامتها.

ونظراً لإن المستخلصات النباتية الطبية غير سامة وآمنة وليس لها آثار جانبية ضارة وهي متوفرة بكثرة فقد اتجهت أنظار الباحثين إلى استخدام هذه النباتات كمثبطات لنمو الفطريات الممرضة المنتجة للسموم ولقلة البحوث التي تناولت نبات أكليل الجبل ودراسة تأثيره التثبيطي على الفطريات المعزولة من الأعلاف فقد جاءت هذه الدراسة.

أهداف الدراسة:

1) عزل فطر الرشاشية الصفراء من أعلاف الدواجن والمجترات ودراسة نسبة انتشارها في محافظة حماة.
2) تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات أكليل الجبل على نمو هذه الفطريات.

المواد وطرق العمل:

أجريت هذه الدراسة في مخبر الكيمياء الحديثة في كلية الطب البيطري في جامعة حماة في الفترة الواقعة ما بين 2023/5/16 و 2023/8/20 حيث تم إجراء الدراسة كما يلي:

طريقة الاستخلاص: لقد تم في هذه الدراسة اتباع طريقتين في الاستخلاص و هي طريقة الاستخلاص المائي و طريقة الاستخلاص الكحولي.

أولاً: تحضير المستخلص المائي:

اتبعت الطريقة (El–fallal and El–kattan,1997) وذلك بوزن (10) غم من المسحوق النباتي ووضعهافي بيشر زجاجي نظيف ثم أضيف له (100) مل ماء مقطر مغلي، ثم وضعت في الحضانة لمدة (30) دقيقة على درجة حرارة (28م)، وبعدها تم ترشيح المزيج بواسطة قطعة شاش في أنابيب زجاجية، ثم تم تثفيل الانابيب في المثفلة بسرعة 3000/دورة بالدقيقة /لمدة (10) دقائق ثم تم جمع الراشح ووضعه في أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة بعد ذلك تم تجفف الماء في الفرن على درجة حرارة (70م) إلى أن تبخر الماء كلياً ، وبذلك تم الحصول على المسحوق الجاف للمستخلص والذي تم حفظه في المجمدة لحين الاستخدام.

ثانياً: تحضير المستخلص الكحولي:

أتبعت طريقة (Shtayeh and Abu chadeid, 1999) لتحضير المستخلص الكحولي، إذ تم أخذ 20 غم من كل عينة جافة للأجزاء النباتية المختلفة ووضعت في دورق مخروطي حجم 500 مل وأضيف إليها كمية معينة من الكحول الإيثيلي 95% وأكمل الحجم إلى 200 مل، ووضعت بجهاز الرجاج الأفقي (Horizontal Shaker) لمدة نصف ساعة وعلى سرعة متوسطة. ثم رشحت بثلاث طبقات من قماش الشاش لفصل العوالق الصلبة ثم أجري الترسيب باستعمال جهاز الطرد المركزي وبسرعة 3000 دورة بالدقيقة لمدة 15 دقيقة لفصل العوالق الصغيرة، تم تركيز الراشح بالمبخر الدوار وجفف بالفرن عند درجة حرارة 45م. واستعملت المادة الجافة في تحضير التراكيز المختلفة للمستخلصات.

ثالثاً: جمع العينات :

تم جمع عينات الأعلاف لإجراء الدراسة من مناطق مختلفة، بواقع 50 عينة (25 عينة لكل نوع من الأعلاف) وبوزن 500 غرام كعينة أبتدائية وحفظت في اكياس نايلون نظيفة ونقلت الى المخبر لإجراء الدراسة عليها.

رابعاً: عزل وتشخيص فطريات الـAspergillus :

تم زرع الفطور من الأعلاف بنثر 0.5 غ من الأعلاف على سطح الوسط الزرعي الـPDA (Amadi *et al.*,2009). وتم فحص المستعمرات الفطرية بالاعتماد على الصفات المظهرية من حيث شكلها، ولونها ، وحجمها ، والصبغات وقطر المستعمرة بالإضافة إلى الصفات المجهرية إذ تم أخذ جزء من المستعمرات النامية ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة وفحصها تحت المجهر لملاحظة شكل الخيط الفطري، وحجمه، ولونه، والكوانيدات، والتراكيب التكاثرية التي ينتجها الفطر وشخصت بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية حسب المصادر التالية (De Hooge *et al.*,2000 ;Midgley *et al.*,1997; Ellis,1994,).

خامساً: تأثير التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية في نمو الفطريات المختبرة:

تم اتباع طريقة (Hmawndi , 2006) حيث تم اختبار التراكيز المحضرة بإضافتها الى الوسط الزرعي SDA وإضيف المضاد الحيوي البنسلين والستربتومايسين بعد أن يبرد قبل صبه ،كما تم إضافة المحلول الخزين من المستخلص النباتي (المحضر بحل 1 غم من المسحوق الجاف ب 10 مل ماء مقطر معقم ويرشح بمرشحة قطر 0.22) بحسب المعادلة C1V1=C2V2، مع بقاء وسط دون إضافة مستخلص كشاهد للمقارنة وبعد أن صب وبرد ،لقحت الأطباق لكل معاملة بأقراص كل منها بقطر 5مل مأخوذة من حافة مستعمرة فطرية نقية بعمر اسبوع بواسطة ثاقب فليني بحيث وضعت في منتصف الطبق المعامل، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 28 م وبعد وصول نمو المستعمرات في معاملة الشاهد الى حافة الطبق تم حساب مقدار التثبيط للنمو الشعاعي(Percent Inhibition of Radial Growth (PIRG بأخذ معدل قطرين متعامدين للمستعمرات النامية وفق المعادلة الموصوفة في (Jinantana and Sariah , 1997):

$$PIRG = \frac{R1-R2}{R1} * 100$$

R1: أقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر في معاملة الشاهد

R2: اقصى نمو شعاعي لمستعمرة الفطر في الأطباق الحاوية على المستخلص.

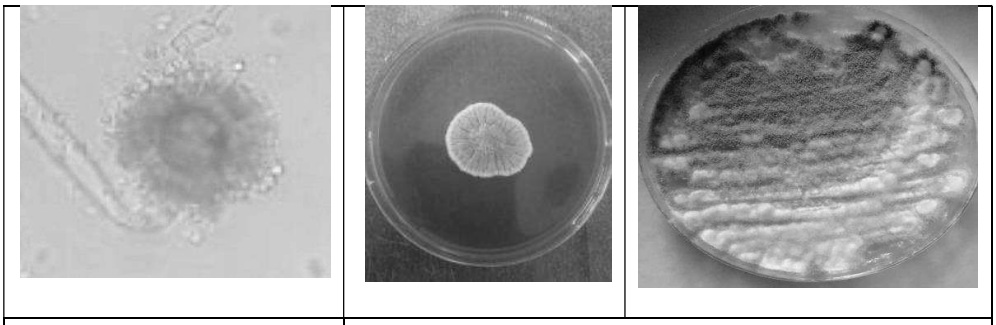
خامساً: التحليل الإحصائي:

تم استخدام برنامج Microsoft Excel, 2010 وذلك لحساب النسب المئوية والمتوسطات الحسابية.

النتائج:

عزل وتشخيص فطر الرشاشية الصفراء :

شخصت عزلة فطر الرشاشية الصفراء حسب الصفات المظهرية النامية على الوسط الزرعي Potate Dextro Agar إذ أعطت العزلة على الوسط لوناً أبيض في المراحل الأولى ثم يتحول إلى لون اخضر فاتح ذو حواف صفراء أو بيضاء، أما السطح السفلي فظهر باللون الذهبي الى البني المحمر، ونسيج المستعمرات مترابط غير مفكك وذو طبيعة مخملية. أما الصفات المجهرية فإنه يمتلك حامل كوانيدي ذو جدار ثخين عديم اللون وتتسع النهاية لتشكل الحويصلة التي تمتلك شكل متطاول في المراحل الأولى من النمو وفيما بعد يصبح كروي أما الفاليدات فهي أحادية التفرع وتحمل كوانيدات كروية أو شبه كروية وهذا يتوافق مع الصفات المظهرية والمجهرية لهذا النوع.(صورة رقم 1).



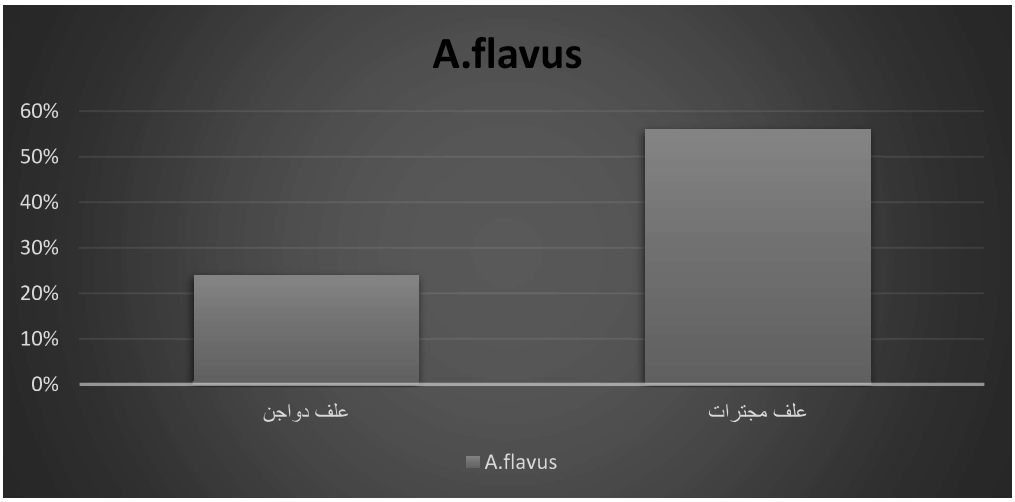
الصفات المظهرية لفطر الرشاشية الصفراء	الصفات المجهرية

الصورة رقم 1: الصفات المظهرية والمجهرية لفطر الرشاشية الصفراء

أظهرت النتائج أن نسبة انتشار فطر الرشاشية الصفراء كان اكثر انتشاراً في اعلاف المجترات حيث أن 24% من عينات اعلاف الدواجن و 56% من عينات اعلاف المجترات المفحوصة احتوت على الفطر (جدول رقم 1، مخطط رقم 1).

الجدول رقم (1): النسبة المئوية لتواجد فطور الرشاشيات في أعلاف الدواجن والمجترات

	A.flavus
علف دواجن	24%
علف مجترات	56%



مخطط رقم (1): النسبة المئوية لتواجد فطور الرشاشيات في الأعلاف

تأثير مستخلص أكليل الجبل على نمو فطر الرشاشية الصفراء:

أظهرت النتائج الموضحة في (الجدول رقم 2) أن الفعالية التثبيطية لمستخلص أكليل الجبل تجاه فطر الرشاشية الصفراء اعتمدت على نوع المستخلص كحولي أو مائي وتركيز المستخلص، إذ أظهر المستخلص الكحولي فعالية أكبر في

تثبيط نمو فطر الرشاشية الصفراء من المستخلص المائي ، كما بينت النتائج أن تركيز 14 ملغ/ مل من المستخلص الكحولي أعطى نسبة تثبيط 100% أما بالنسبة للمستخلص المائي فإن تركيز 18 ملغ /مل أعطى نسبة تثبيط 100%.

الجدول رقم (2): الفعالية التثبيطية لمستخلصي أكليل الجبل على فطر الرشاشية الصفراء

نسبة التثبيط % / التركيز ملغ/مل	المستخلص المائي %	المستخلص الكحولي %
طبق شاهد	0	0
2	17.6	39.8
4	29.4	51.5
6	45.1	60.2
8	65.2	70.6
10	70.4	75.2
12	80.6	88
14	85.1	100
16	90.4	
18	100	

المناقشة:

أظهرت النتائج ارتفاع نسبة الإصابة بفطر الرشاشية الصفراء في كل من اعلاف الدواجن والمجترات وقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع ما وجده (Aliyu *et al.*,2016) حيث وجد أن نسبة عزل فطر الرشاشية الصفراء من أعلاف الدواجن 22%، بينما كانت نتائج هذه الدراسة منخفضة مقارنة مع ما وجده (Gherbawy *et al.*, 2019) في السعودية إذ بلغت نسبة عزل فطر الرشاشية الصفراء من أعلاف الدواجن والمجترات 59.9% في حين وجد (الساسي وآخرون، 2024) في ليبيا أن نسبة عزل فطر الرشاشيات من أعلاف الدواجن بلغ 59.1%. و يمكن ان يعزى هذا الاختلاف الى التباينات بين منطقة و اخرى في الظروف البيئية من حيث الحرارة و الرطوبة بالاضافة الى اختلاف ظروف التخزين و مدى الالتزام باجراءات التخزين و التداول الجيد للاعلاف. و بشكل عام يعود سبب تلوث أعلاف الدواجن والمجترات بفطور الرشاشيات بسبب الحمولة الفطرية لمكونات العلف (ذرة، صويا، نخالة القمح) وكذلك عملية التلوث نتيجة سوء معاملة الأعلاف بعد التصنيع وارتفاع نسبة الرطوبة فيها، حيث أن ارتفاع النشاط المائي للأعلاف يشجع على نمو الفطور الملوثة (Aliyu *et al.*,2016)، بالإضافة إلى قدرة فطور الرشاشيات على تحمل الحرارة العالية مما يزيد من فرصة وجودها في الأعلاف (Battilani *et al.*,2003).

أشارت نتائج الدراسة الى تأثير المستخلص الكحولي والمائي لنبات إكليل الجبل حيث تبين إنخفاضاً واضحاً في النمو السطحي لفطر *الرشاشية الصفراء* من خلال تأثيره المثبط وهذا يتفق مع ما وجده (عبداللطيف، 2009) إذ وجد أن الخلاصة الكحولية للأوراق الجافة لنبات أكليل الجبل لها القدرة على تثبيط نمو الرشاشية الصفراء وبنسبة تتراوح بين (11.77 – 83.5 %) إذ استخدمت تراكيز حتى 10 ملغ/ مل، وربما يعود هذا التأثير لما يحتويه مستخلص إكليل الجبل على مركبات فعالة مثل Phenolic Acids ، Flavonoid ، Carnosol ، Carnosic Acid، Diterpenoid إضافة إلى أنواع من الزيوت الطيارة (Singh *et al.*,2010). ، كما إن مستخلصي إكليل الجبل يحتويان على مواد فعالة عديدة منها الفلافونات والتربينات ، حيث تعمل الفلافونات على تثبيط عالي للغزلات الفطرية وتمنع إنبثاق الفطر وتبقيه في حالة سكون (Delrio *et al.*,2003). أما ميكانيكية عمل التربينات فهي تثبيط بناء مركب Ergosterol المهم في بناء الغشاء البلازمي للخلية الفطرية مما يؤدي إلى إختلال النفاذية في داخل الخلية وخارجها مؤدياً إلى إرتشاح المواد إلى الخارج

وبالتالي موت الفطر (Reichling *et al.*,2009). إضافة إلى أن التربينات تكون محبة للدهون وهذه الصفة تجعلها أكثر قابلية للذوبان في الأغشية الخلوية وبالتالي تعرقل تكوين الغشاء وتكون أكثر سمية للفطريات (Cowan,1999). وهذه الأسباب وغيرها كان لها الدور الأساسي في تثبيط وقتل الفطريات المدروسة في بحثنا هذا. وقد اشارت النتائج التي توصلما اليها في دراستنا هذه ان للمستحلص الكحولي تاثير تثبيطي اعلى من المستخلاص المائي و هذا يمكن ان يعزى الى ان التبانيات في قدرة الجواهر الفعالة في الانحلالية حيث يمكن ان تكون هناك جواهر فعالى لها تاثير تثبيطي قوي قادرة على الانحلال في الوسط الكحولي و غير قادرة على الانحلال بالوسط المائي و بالتالي تم الحصول عليها من المستخلص الكحولي و اعطت الفعالية التثبيطية الاقوى. وبهذا الخصوص لم نجد دراسات تناولت مقارنة التاثير التثبيطي لمستخلصي اكليل الجبل المائي و الكحولي ليتنسة لنا المقارنة.

الاستنتاجات:

1) ارتفاع مستوى التلوث في اعلاف الدواجن (24%) والمجترات (56%) بفطر الرشاشية الصفراء .
2) وجود أثر تثبيطي فعال لمستخلصي نبات اكليل الجبل تجاه فطر الرشاشية الصفراء مع كفاءة اعلى للمستخلص الكحولي.

التوصيات:

1) دراسة انتشار انواع أخرى من الفطريات في اعلاف الحيوانات.
2) إضافة بودرة أكليل الجبل الى الأعلاف المركبة.
3) اتباع إجراءات وقائية للحد من تلوث الأعلاف بالفطور.

المراجع:

1) **ابراهيم، اسماعيل خليل ، الجبوري، كركز محمد ثلج .(1998)**. السموم الفطرية وآثارها ومخاطرها. مركز اباء للأبحاث الزراعية. الطبعة الأولى. دار الكتب والوثائق ، بغداد.

2) **الساسي، المهدي احمد ، محمد، ابراهيم غريبي ، الرياني، محمد احمد ، الشريف، محمد حسين ، تارسين، احمد عمران .(2024)**. الكشف عن الفطريات وتقدير سم الزيرالينون في عينات من علف الدواجن، المجلة الليبية لوقاية النبات ، العدد (14) : 1 – 9.

3) **حلاق، عبد الكريم، الحكواتي، سعاد و قنبر، طلة** (2022). تاثير اضافة مطحون و مستخلص الزعتر البري و اكليل الجبل في الوزن الحي ووزن الاعضاء الداخلية لطيور اللحم. مجلة جامعة حماه، مجلد5، عدد 2، صفحة: 94–79

4) **عبد اللطيف، مها .(2009)**. دراسة تأثير الخلاصة الكحولية لأوراق نبات أكليل الجبل Rosmarinus officinalis في نمو فطر A.flavus وإفرازه للأفلاتوكسين ، مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ، مجلد 25، عدد 1 ص: 121 – 134.

5) **قبيسي ، أكرم جميل .(2007)** . مستشار الإنسان في الغذاء والدواء ، معجم طب الأعشاب والتغذية . دار البشائر للطباعة ، دمشق ، سوريا ص 355.

6) **قبيسي ، حسان .(2004).** معجم الأعشاب والنباتات الطبية ، دار الكتب العلمية ، بيروت ، لبنان ص 363 .

7) **Abbès, S.; Salah-Abbès J. B.; Bouraoui Y.; Oueslati S. and Oueslati, R. (2012).** Natural occurrence of aflatoxins (B1 and M1) in feed, plasma and raw milk of lactating dairy cows in Beja, Tunisia, using ELISA. Food Addit Contam 5:11-15.

8) **Aliyu. R.M .; Abubakar. M.B.; Yakubu. Y.; Kasarawa. A.B.; Lawal. N,; Bello. M.B,; Fardami. A.Y .(2016).** Prevalence of potential toxigenic Aspergillus species isolated from poultry feeds in Sokoto metropolis. Sokoto Journal of Veterinary Sciences 14(1): 39-44.

9) **Amadi, J. E., and Adeniyi, D. O. (2009).** Mycotoxin production by fungi isolated from stored grains. Afr. J. Biotechnol. 8: 1219-1221.

10) **Battilani P, Pietri A, Bertuzzi T, Languasco L, Giorni P & Kozakiewicz Z (2003).** Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in grapes grown in Italy. Journal of Food Protection, 66(4): 633–636.

11) **Bennett , J . W , and Klich , M . (2003)** . Mycotoxins . Clin Microbiol .Rev 16 (3) : 497 - 517 .

12) **Bhattachar, S.(2011)** . Natural antimutagens: a review. Res. J. Med. Plant. (2011);5:116–126.

13) **Centeno, S.; Calvo,M.A.; Adelantado, C.& Figueroa, S. (2010).** Antifungal Activity of Extracts of Rosmarinus officinalis and Thymus vulgaris against Aspergillus flavus and A. Pakistan J. of Biological Sciences.,13(9):452- 455.

14) **Cowan, M. M. (1999)** Plant product as antimicrobial agent. Clin. Microbial. Rev ., 12(4):564-582.

15) **De-Hoog , G.S.; Guarro , J. and Figueras ,M.J.(2000)** .Atlas of clinical fungi2 nd ed. Vol. 1. Centraalbureau voor Schimmel cultures . Utrecht. The Netherlands .

16) **Delrio, J.A.,; Baidez, A.G.; Botia, J.M. & Ortuno, J. (2003)** Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea* L.) and their influence on resistance against *Phytophthora* sp. Food Chemist., 83 :75-78.

17) **El-fallal ,A.A. and El- Kattan ,M.H.(1997).** Effect of plant extracts on the mycelial growth of some cultivated mushrooms .Egypt .J. microbial .32(1):41-48.

18) **Ellis , D.H. (1994).** Clinical Mycology : The human opportunistic mycosis.Gillingham . Printers pty. Ltd . Australia . p.166.

19) **Gherbawy. Y,; Shebany. Yassmin . M ,;Alharthy.Helal. M .(2019).** Aspergilli and Their Aflatoxins Contamination of Poultry and Animal Feedstuff Samples in Western Region of Saudi Arabia , Agricultural and food Sciences, Environmental Science, 8 (10): 141 -153.

20) **Hmawndi, Nahla Jawhar Kareem. (2006).** Antifungal activities of extracts of some plants grown naturally in Kurdistan. Thesis of agriculture science. University of Sulaimania.

21) **Jinantana, J. and Sariah. M. (1997).** Antagonistic effect of Malaysian isolates of *Trichoderma harzianum* and *Gliocladium virens* or *Sclerotium rolfsii* . pertanika ,J. Tropical Agriculture science. 20: 38-41.

22) **Lavanya, G. & Brahmaprakash, G. P. (2011).**Phytochemical Screening and antimicrobial activity of compounds from selected medicinal and aromatic plants. Inter. J. of Sci. and Nat., 2(2):287-291.

23) **Loi, M.; Paciolla, C.; Logrieco, A. and Mule, G. (2020).** Plant bioactive compounds in pre- and post-harvest management for aflatoxins reduction. Front. Microbiol.;11 .

24) **Midgley,G. ; Clayton,Y.M. and Hay,R.J. (1997).** Diagnosis in colour medical mycology. Mosby – Wolf , an imprint of Mosby international, Spain 155p.

25) **Moghtader,M.; Salari,H. & Farahmand, A. (2011).** Evalution of the antifungal effects of rosemary oil and comparison with synthetic borneol and fungicide on the growth of Aspergillus flavus .J. of Ecol. and the Nat. Environment., 3(6):210- 214.

26) **Pawar, S.; Shende, P. and Trotta, F.(2019).** Diversity of β-cyclodextrin-based nanosponges for transformation of actives. Int. J.Pharm. 9;565:333-350.

27) **Reichling,J.;Schnitzler,P.;Suschke,U.and Saller, R. (2009).** Essential Oils of Aromatic plants with ntibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties- an overview For sch Komplement med, 16:79-90.

28) **Singh, A.; Sharma, P.K. & Garg, G.(2010)** Natural products as preservatives. International Journal of pharma and Bio. Sciences, 1(4):601-612 .