تأثير المستخلص المائي للحبة السوداء والشاي الأحمر وعفص بلوط العفص في حيوية الرؤيسات الأولية للمشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* من اصل اغنام في الزجاج♦

فؤاد سالم إسماعيل
قسم علوم الحياة/كلية التربية للبنات

إبراهيم احمد عبد الله
قسم علوم الحياة/كلية التربية

جامعة الموصل

ABSTRACT

The results of this study revealed significant effect of the aqueous extracts of the seeds of *Nigella sativa* L. , calyx of the red tea *Hibiscus sabdariffa* L. and nutgalls of *Quercus infectora* Oliv. in concentrations of 5mg/ml , 7.5 mg/ml, 10mg/ml and 15 mg/ml for the seeds of *N.sativa* and the concentrations of 50 mg/ml, 75 mg/ml , 100mg/ml and 150 mg/ml for both the calyx of the red tea, *H. sabdariffa* and nutgalls of *Q. infectora*, on the protoscoleces of *Echinococcus granulosus* of sheep origin *in vitro* .

الخلاصة

بيّنت نتائج هذه الدراسة ان للمستخلص المائي لكل من بذور نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* L. والاوراق الكأسية للشاي الاحمر *Hibiscus sabdariffa* L. وعفص بلوط العفص *Quercus infectoria* Oliv. بالتراكيز 5 ملغم/مل و 7.5 ملغم/مل و 10 ملغم/مل و 15 ملغم/مل لبذور نبات الحبة السوداء و 50 ملغم/مل و 75 ملغم/مل و 100 ملغم/مل و 150 ملغم/مل لكل من الاوراق الكأسية للشاي الاحمر وعفص بلوط العفص تأثير معنوي في حيوية الرؤيسات الاولية للمشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus* من اصل اغنام في الزجاج *in vitro* .

المقدمة

داء الأكياس العدرية Hydatid disease من الامراض الطفيلية المشتركة بين الانسان والحيوان Cyclozoonotic disease يسببه الطور اليرقي لانواع من جنس المشوكات *Echinococcus* (2,1) . يعد داء العدريات من الامراض المتوطنة Endemic في معظم بلدان الشرق الاوسط ، مثل العراق وسوريا وفلسطين ولبنان وقسم من اقطار شبه

♦ البحث ملقى في المؤتمر الأول لعلوم الحياة في كلية التربية جامعة الموصل للفترة 4 – 5 أيلول 2007

الجزيرة العربية وشمال افريقيا والسودان وحوض بحر قزوين فضلاً عن بعض اقطار امريكا الجنوبية (3-6) .

تعالج الاكياس العدرية بطرق مختلفة ومن اهمها العلاج الجراحي والكيمياوي ، ونظراً لتأثير العقاقير الكيمياوية الجانبي على الجسم نتيجة استخدامها لفترة طويلة ، لذا فقد اتجه العديد من الباحثين نحو النباتات الطبية التي تتوفر بكثرة في البيئة المحيطة بالإنسان . وقد استخدمت منذ القدم في علاج الكثير من الامراض التي تصيب الإنسان والحيوان لاحتوائها على مواد فعّالة كثيرة قادرة على علاج الكثير من الأمراض مع آثار جانبية طفيفة في الجسم الحي (7) ، ففي الصين مثلاً درس Kang [8] تأثير مستخلص نبات الحنظل في حيوية الرؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية. كما اشارت الحمو [9] الى التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لنبات البابونج ونبات السعد ونبات الحنظل في حيوية الرؤيسات الاولية في الزجاج .و درس العمري [10] تأثير المستخلصات المائية والكحولية لكل من نبات الشفلّح والسبحبح واوراق نبات الآس في حيوية الرؤيسات الاولية للمشوكات الحبيبية من اصل الانسان والاغنام خارج الجسم الحي وداخله .

وجاءت الدراسة الحالية لبيان تأثير المستخلصات المائية لبذور نبات الحبة السوداء والاوراق الكأسية لنبات الشاي الاحمر وعفص بلوط العفص في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل الاغنام في الزجاج *in vitro* .

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على الاكياس العدرية الكبدية من اصل الاغنام من محلات القصابة في مركز مدينة الموصل .

واستخدمت طريقة Smyth [11] للحصول على الرؤيسات الاولية ، وذلك بتعقيم سطح الاكياس العدرية مرتين بقطن طبي مبلل باليود الكحولي بتركيز 1 % . بعدها فتح الكيس وسحب منه السائل العدري ، ثم جمع مع الرؤيسات الاولية في انابيب اختبار واجريت له عملية غسل بجهاز المنبذة ثلاث مرات بسرعة 3000 دورة لكل دقيقة مع اضافة 20000 وحدة عالمية (IU) بنسلين Penicillin و 1 غم ستربتومايسين Streptomycin لكل لتر من محلول الغسل قبل البدء بالغسلة الثانية ، بعد الغسلة الثالثة سُحب الطافي من السائل واضيف محلول (PBS) المعقم للراسب الحاوي على الرؤيسات الاولية ، واستخدمت رؤيسات اولية ذوات حيوية > 93% **(10)**.

تم الحصول على بذور نبات الحبة السوداء والاوراق الكأسية لنبات الشاي الاحمر وعفص البلوط من المعاشب الطبية الموجودة في مركز مدينة الموصل ومن السوق

المحلي ، وحضرت المستخلصات المائية لهذه النباتات حسب طريقة Riose [12] المحـــورة ، وذلك بأضافة 400 مل من الماء المقطر الى 40 غم من مسحوق النبات ووضع المزيج فـــي جهاز الطحن Blender لمزج النسج الخلوية ، مع استخدام الثلج المجـــروش اثنـــاء عمليـــة الطحن لمنع ارتفاع درجة حرارة المزيج ، ثم ترك المزيج لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 4 °م لغرض النقع ، رشح المزيج من خلال عدة طبقات من الشاش ثم رشح مرة ثانية بأستخدام اوراق ترشيح بواسطة قمع بخنر للترشيح مع التفريغ وذلك للـــتخلص مـــن الاجـــزاء غيـــر المسحونة والالياف النباتية وبذلك تم الحصول على المستخلص النباتي الخام Crude extract . ثم اجريت عملية تجفيد للمستخلصات النباتية بالتبريد تحت ضغط منخفض بإستخدام جهاز التجفيد Lyopholizer ، ثم حفظت العينات بعد جفافها في قناني زجاجية ذات غطاء محكـــم وفي ظروف خالية من الرطوبة لحين الاستخدام .

لغرض تحديد تأثير هذه المستخلصات في حيوية الرؤيسات الاولية في الزجاج ضمن مدة زمنية وتركيز معين ، صممت التجارب بحيث تضمن كل تركيز ثلاثة مكررات فـــضلاً عن مجموعة السيطرة . وضع في كل انبوبة 2 مل من المستخلص النباتي المذاب في داريء الفوسفات الملحـــي Phosphate Buffer Saline (PBS) وحـــسب التراكيـــز والاوقـــات بخصوص المستخلص بعد وضع نحو 2000 رؤيس اولي في الانبوبة نفسها ، ثـــم وضـــعت الانابيب في حمام مائي بدرجة حرارة 37 °م ، ومن ثم رُفعـــت حـــسب الاوقـــات الزمنيـــة المحددة ، وغسلت بداريء الفوسفات الملحي للتخلص من تأثير المستخلصات ، ثم فحـــصت الرؤيسات الاولية تحت المجهر الضوئي وتم تعداد الحية منها والميتة ، وسجلت النتائج فـــي ضوء حركة الرؤيس الاولي والتغيرات والتشوهات الشكلية واصطباغ الرؤيس الاولي بصبغة الايوسين المائي .

تمت الدراسة على النحو الآتي :

1. استخدم المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء بأربعة تراكيز هي : 5 ملغم/مـــل ، 7.5 ملغم/مل ، 10 ملغم/مل و15 ملغم/مل.
2. استخدم المستخلص المائي للاوراق الكأسية لنبات الشاي الاحمر وعفص بلـــوط العفـــص بأربعة تراكيز هي : 50 ملغم/مل ، 75 ملغم/مل ، 100 ملغم/مل و150 ملغم/مل.

النتائج

يتضح من جدول تحليل التباين ANOVA (1) وجود فروقات معنوية بين معاملات الرؤيسات الاولية بالمستخلص المائي لبذور نبات الحبة السوداء ($P< 0.01$) ، وعند اجراء اختبار دنكن يظهر من الجدول (2) تأثير المستخلص في حيوية الرؤيسات الاولية ، واظهرت التراكيز المختلفة تأثيرات مختلفة في الاوقات المختلفة . اذ سبّب التركيز 15 ملغم/مل موت جميع الرؤيسات الاولية بنسبة 100 % في الوقتين 60 دقيقة و45 دقيقة ، وبالنسبة للتركيزين 10 ملغم/مل و7.5 ملغم/مل فكان اعلى تأثير لهما في الدقيقة 60 إذ انخفضت نسبة حيوية الرؤيسات الاولية فيهما الى 6.33 % و42 % ، على التوالي . وبالنسبة للتركيز 5 ملغم/مل فكان اعلى تأثير له في الدقيقة 60 الذي لم يختلف معنوياً عن الوقت 45 دقيقة واختلف هذان الوقتان معنوياً ($P< 0.01$) عن الوقت 15 دقيقة .

وبالنسبة للمعدل العام للتراكيز المستخدمة فقد ظهر فرق معنوي عالي ($P< 0.01$) بين جميع التراكيز المستخدمة ، كذلك اظهر المعدل العام لاوقات تعريض الرؤيسات الاولية فروقاً معنوية عالية ($P< 0.01$) بين جميع الاوقات .

الجدول (1) تحليل التباين ANOVA لتأثير المستخلص المائي لبذور نبات الحبة السوداء في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل الاغنام في الزجاج عند مستوى احتمالية ($P<0.01$)

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F المحسوبة
المعاملات	15	49853.47	3323.56	97.57
التركيز	3	42953.22	14317.74	420.34
الزمن	3	5967.22	1989.07	58.39
التركيز×الزمن	9	933.02	103.66	3.04
الخطأ التجريبي	32	1090	34.06	
الكلي	47	50943.47		

الجدول (2) تأثير المستخلص المائي لبذور نبات الحبة السوداء في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل الاغنام في الزجاج وحسب اختبار دنكن

الوقت / التركيز	سيطرة 0 دقيقة	15 دقيقة	30 دقيقة	45 دقيقة	60 دقيقة	المعدل العام للتركيز
5 ملغم/مل		91.33 h	86.66 gh	80.33 fg	70.33 ef	82.16 d
7.5 ملغم/مل		80 fg	71.33 ef	66.33 e	42 d	64.91 c
10 ملغم/مل	95	47 d	24 c	16 bc	6.33 ab	23.33 b
15 ملغم/مل		22.66 c	11.33 b	0 a	0 a	8.50 a
المعدل العام للزمن		60.25 d	48.33 c	40.66 b	29.66 a	

يتبيّن من جدول تحليل التباين (3) وجود فروقات معنوية عالية بين المعاملات ($P< 0.01$) للمستخلص المائي للاوراق الكأسية لنبات الشاي الاحمر ، وعند اجراء اختبار دنكن يظهر من الجدول (4) تأثير المستخلص في حيوية الرؤيسات الاولية ، واظهرت التراكيز المختلفة تأثيرات مختلفة في الاوقات المختلفة ، إذ سبّب التركيزان 150 ملغم/مل و 100 ملغم/مل موت جميع الرؤيسات الاولية بنسبة 100 % في الوقتين 60 دقيقة و45 دقيقة على التوالي ، وكان للتركيز 75 ملغم/مل اعلى تأثير في الوقتين 60 و45 دقيقة إذ خفّض نسبة حيوية الرؤيسات الاولية الى 5.33% و11.33 % ، على التوالي . بالنسبة للتركيز 50 ملغم/مل ، كان اعلى تأثير له في الوقت 60 دقيقة إذ خفّض حيوية الرؤيسات الاولية الى 62.33 % ، واقل تأثيراً للتركيز نفسه في الوقت 15 دقيقة .

وبالنسبة للمعدل العام للتراكيز المستخدمة فقد ظهر فرق معنوي عالي ($P< 0.01$) بين جميع التراكيز المستخدمة ، كذلك اظهر المعدل العام لاوقات تعريض الرؤيسات الأولية فروقاً معنوية عالية ($P< 0.01$) بين جميع اوقات التعريض .

الجدول (3) تحليل التباين ANOVA لتأثير المستخلص المائي للاوراق الكأسية لنبات الشاي الاحمر حيوية الرؤيسات الاولية من اصل الاغنام في الزجاج عند مستوى احتمالية ($P < 0.01$)

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F المحسوبة
المعاملات	15	53093	3539.53	294.45
التركيز	3	32959.50	10986.50	913.95
الزمن	3	13652.16	4550.72	378.57
التركيز×الزمن	9	6481.33	720.14	59.91
الخطأ التجريبي	32	384.66	12.02	
الكلي	47	53477.66		

الجدول (4) تأثير المستخلص المائي للاوراق الكأسية لنبات الشاي الاحمر في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل الاغنام في الزجاج

الوقت / التركيز	سيطرة 0 دقيقة	15 دقيقة	30 دقيقة	45 دقيقة	60 دقيقة	المعدل العام للتركيز
50 ملغم/مل	95	88.33 I	78.66 h	72 g	62.33 e	75.33 d
75 ملغم/مل		65.33 ef	53.33 d	11.33 b	5.33 ab	33.83 c
100 ملغم/مل		69 fg	47.33 c	0 a	0 a	29.08 b
150 ملغم/مل		7.66 b	0.66 a	0 a	0 a	2.08 a
المعدل العام للزمن		57.58 d	45 c	20.83 b	16.91 a	

يتبين من جدول تحليل التباين (5) وجود فروقات معنوية عالية بين المعاملات ($P< 0.01$) للمستخلص المائي لعفص البلوط ، وعند اجراء اختبار دنكن يظهر من الجدول (6) تأثير المستخلص ، اذ لم يختلف تأثير التركيز 150 ملغم/مل في الاوقات 60 دقيقة و45 دقيقة و30 دقيقة معنوياً عن تأثير التركيز 100 ملغم/مل في الوقتين 60 دقيقة و45 دقيقة إذ سبّب التركيزان موتاً تاماً لجميع الرؤيسات الاولية المعاملة .

بالنسبة للتركيز 75 ملغم/مل فقد تميزت جميع اوقات التعريض عن بعضها معنوياً وبدرجة عالية ($P<0.01$) وكان اعلى تأثير للتركيز في الوقت 60 دقيقة إذ خفّض حيوية الرؤيسات الاولية الى 5 % . وبالنسبة للتركيز 50 ملغم/مل ، فقد تميزت جميع اوقات التعريض عن بعضها معنوياً وبدرجة عالية ($P<0.01$) وكان اعلى تأثير للتركيز في الوقت 60 دقيقة إذ خفّض حيوية الرؤيسات الاولية الى 24 % ، وكان اقل تأثير للتركيز نفسه في الوقت 15 دقيقة .أما بالنسبة للمعدل العام للتراكيز المستخدمة ، فقد ظهر فرق معنوي عالٍ ($P<0.01$) بين جميع التراكيز المستخدمة ، واظهر المعدل العام لاوقات تعريض الرؤيسات الاولية فروقاً معنوية عالية ايضاً ($P< 0.01$) بين جميع اوقات التعريض .

الجدول (5) تحليل التباين ANOVA لتأثير المستخلص المائي لعفص البلوط في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل الاغنام في الزجاج عند مستوى احتمالية ($P<0.01$)

مصادر الاختلاف	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	قيمة F المحسوبة
المعاملات	15	46686.14	3112.40	105.65
التركيز	3	14679.72	4893.24	166.11
الزمن	3	28386.72	9462.24	321.21
التركيز×الزمن	9	3619.68	402.18	13.65
الخطأ التجريبي	32	942.66	29.45	
الكلي	47	47628.81		

الجدول (6) تأثير المستخلص المائي لعفص البلوط في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل الاغنام في الزجاج

الوقت / التركيز	سيطرة 0 دقيقة	15 دقيقة	30 دقيقة	45 دقيقة	60 دقيقة	المعدل العام للتركيز
50 ملغم/مل	96	86.66 f	72.66 e	53.33 d	24 c	59.16 d
75 ملغم/مل		77.66 ef	48 d	14.33 b	5 a	36.25 c
100 ملغم/مل		73.66 e	28.66 c	0 a	0 a	25.58 b
150 ملغم/مل		45 d	0 a	0 a	0 a	11.25 a
المعدل العام للزمن		70.75 d	37.33 c	16.91 b	7.25 a	

المناقشة

بيّنت نتائج الدراسة الحالية ان للمستخلصات المائية لبذور نبات الحبة السوداء والاوراق الكأسية لنبات الشاي الاحمر وعفص بلوط العفص تأثيرا في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل اغنام ، اذ تناسب هذا التأثير طردياً مع زيادة التركيز ومدة التعريض لهذه المستخلصات النباتية . إذ سبّب التركيز 15 ملغم/مل من المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء قتل تام للرؤيسات الاولية خلال مدة 45 دقيقة الجدول (2) ، وقد تطابقت هذه النتيجة مع النتيجة التي توصل اليها **العمري** [10] عند استخدامه مستخلص ثمار الشفلح المائي ولكن بتركيز 300 ملغم/مل . واظهر المستخلص نفسه تفوقاً في التأثير والتركيز على المستخلص المائي للحرمل الذي سبّب خفضاً لحيوية الرؤيسات الاولية الى 19.66 % ولكن ايضاً بتركيز 500 ملغم/مل في دراسة **محمود** (13) . وقد يعود التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لبذور الحبة السوداء الى احتوائه على التانينات والكلايكوسيدات مثل الثايموكونيون Thymoquinone(TQ) والنجلون وانواع اخرى من القلويدات ، واحماض امينية اساسية منها الميثايونين واحماض امينية ثانوية منها حامض الاسبارتيك والارجنين والكلوتاميك واحماض دهنية مشبعة وغير مشبعة وعناصر معدنية منها الكالسيوم والبوتاسيوم وانزيمات مثل انزيم اللايبيز Lipase (21) ، فقد تؤثر هذه المواد في الازموزية بين داخل وخارج الرؤيس الاولي او عن طريق تثبيط الفعاليات الايضية للرؤيسات الاولية او تحلل اجزاء من الغشاء البلازمي مما يفقدها وظيفتها ، ومن النتائج التي تمت ملاحظتها عند معاملة الرؤيسات الاولية بالمستخلص هو حدوث تشوه في شكل الرؤيس الاولي وانكماش الخطم وكذلك انتفاخ الرؤيس الاولي في بعض الحالات ، ودخول صبغة المستخلص داخل الرؤيس الاولي دليل على فقدان الغشاء البلازمي لوظيفته وتحوله من اختياري النفوذية الى تام النفوذية ، وقد يعود السبب الى حدوث خلل في تبادل الايونات على جهتي الغشاء البلازمي (14) . وبالنسبة لتأثير المستخلص المائي للاوراق الكأسية للشاي الاحمر في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل الاغنام ، فقد تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج الربيعي [15] من حيث التأثير في حيوية الرؤيسات الاولية .

كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة ابراهيم [16] الذي استخدم البايوسيانين النقي في حيوية الرؤيسات الاولية ، وتشابهت نتائج استخدام المستخلص المائي للاوراق الكأسية لنبات الشاي الاحمر بتركيز 100 ملغم/مل و150 ملغم/مل خلال الوقتين 45 دقيقة و60 دقيقة مع ما توصلت اليه الحمو [17] عند استخدامها الكحول الاثيلي بتركيز 30 % و40 % خلال الاوقات 1 دقيقة و5 دقيقة و10 دقيقة في التأثير في حيوية الرؤيسات الاولية بنسبة قتل 100 % .

وقد يعود تأثير مستخلص الاوراق الكأسية لنبات الشاي الاحمر المائي في حيوية الرؤيسات الاولية الى احتوائه على نسبة عالية من مادة الميوسيلاج إذ تقدر نسبتها بحوالي 62% وكذلك احتواؤه على العديد من الاحماض العضوية منها حامض الماليك والستريك والتارتاريك والاسكوربيك والهيبسيسيك ويحوي ايضاً كلايكوسيد مهم يعرف بهيدروكسيد الهيبسيسين وعلى صبغات طبيعية ملونة وعلى اوكسالات الكالسيوم وتانينات وعناصر معدنية ، وقد يعود تأثير المستخلص لوجود الاحماض العضوية التي ربما اثرت في الخلايا اللهبية للرؤيس الاولي مما سبّبت خللاً ازموزياً عطّل عملها فتراكمت المواد الايضية داخل الرؤيسات الاولية بكميات كبيرة مؤدية الى موتها (17) .

كما تشابهت نتائج استخدام المستخلص المائي لعفص بلوط العفص بتركيز 100ملغم/مل الذي سبب موتا تاماً مع ما توصلت اليه الحمو [17] عند استخدامها حامض التارتاريك بتركيز 10 % . اما التركيز 150 ملغم/مل من المستخلص نفسه فقد خفّض حيوية الرؤيسات الاولية الى الصفر خلال مدة 30 دقيقة وقد تشابهت هذه النتيجة مع نتائج العمري [10] عند استخدامه التركيز 300 ملغم/مل من مستخلص نبات السبحبح المائي خلال مدة 30 دقيقة ، مع تفوق مستخلص العفص على السبحبح في التركيز .

وقد يعزى تأثير المستخلص المائي لعفص البلوط الى احتوائه على حامض التانيك الذي يعد المكون الرئيس للعفص ، إذ تقدر نسبته حوالي 50 % – 70 % ، واحتواؤه على أحماض فينولية متعددة اهمها حامض الجاليك والالاجيك ، ويحتوي ايضاً على راتنجات ونشاء وكذلك نسب متفاوتة من مادة Quercetin وحامض الديجاليك ومواد دباغية اخرى ، وقد يكون التأثير ناتجاً عن حدوث تحلل انزيمي لمكونات الرؤيس الاولي وبالتالي اضعافها ثم موتها ، او قد يعود لوجود المواد الدباغية والراتنجات التي لها اثر تثبيطي للرؤيسات الاولية من خلال تأثيرها في الفعاليات الحيوية والفسلجية (18) .

ومما لوحظ عند معاملة الرؤيسات الاولية بالمستخلص هو تشوه شكل الرؤيس الاولي وحدوث اما انكماش او انتفاخ للرؤيس الاولي وكذلك انفصال الغشاء البلازمي عن محتويات الجسم فضلاً عن بروز واستطالة رأس الرؤيس الاولي وكأنها تتحول الى دودة بالغة ، إذ قد يحوي المستخلص مادة مشابهة لمادة الصفراء الموجودة في الكلاب التي تسبب اندلاق الرؤيسات الاولية (20) ، إلا ان هذا يحتاج الى دراسة مستقبلية .

المصادر

1-Ozturk A, Onur K , Ozturk E and Sirmatel O., Europ.J.Radiol. Extra, 54 : 35-37 (2005).

2-Dalimi, A. , Ghasemikhah, R. and Hashemi Malayer B., Exp. Parasitol.,109 : 237-240 (2005).

3- الدليمي ، اخلاص شرف. رسالة ماجستير ، كلية التربية للبنات ، جامعة بغداد(2000) .

4-Mamuti, W., Yamasaki, H., Sako, Y., Nakao, K.N., Lightowlers, M. W. and Ito, A. Clin. Diag. Lab. Immunol., 9(3) : 573-576 (2002).

5-Marquardt W.C. , Demaree R.S. and Grieve R.B. Parasitology and Vector Biology . Hercourt Academic. Press (2000) .

6-Andersen F.L., Ouhelli H. and Kachani M. Compendium of Cystic Echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with Special Reference to Morocco . Brigham Young Univ. Print Service, Provo, UT 84604.USA. (1997).

7-AL-Saadi A.A. Yones F.N. and AL-Hadethi A.W. Techn.J., 31: 58-63 (1996).

8-Kang J.F End. Dis.Bull., (Abst.). 9(3): 22-24 (1994) ..

9- الحمو ، رضاء ناظم. مجلة علوم الرافدين ، المجلد (15) ، العدد (5) : 18-23 (2004) .

10- العمري ، ارقم محمد ازهر. رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل (2005).

11-Smyth J. D Proc. Int. Cong. Hydatid. Madrid,: 84-95 (1985).

12-Riose J. L , Recio M.C and Villar A J. Ethnopharmcol., 21 : 139-152 (1987).

13- محمود ، سلوان وعدالله يوسف رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل (2002).

14- الكناني ، انتصار رحيم وعلي ، فواز فاضل. مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري ، المجلد (3) ، العدد (1) :64-68 (2004).

15- الربيعي ، سلوى صبر محسن . رسالة ماجستير ، كلية العلوم، جامعة بغداد (1999).

16- ابراهيم ، زمان عبد الصاحب عبد. اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية (2000).

17- الحمو ، رضاء ناظم. رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة الموصل(1999).

18- Mossa, J. S., AL-Yahya, M. A. and AL-Meshal, I. A. King Saud University Libraries, Riyadh, Saudi Arabia, 1: 244-306 . (1987).

19- العرابي ، فضل يوسف صلاح رسالة ماجستير ، كلية التربيـــة ، جامعـــة الموصـــل .(2003)

20-Smyth .J.D. Introduction to Animal Parasitology .2nd. ed. Hodder and Stoughton . London . (1981) .

21- Takruri, H.R.H. and Damch, M.A.F. J.Sci.Food Agric., 76: 404-410 (1998) .