

Evaluation of Fungal and Aflatoxin Contamination in Factory-made Feed in Rainbow trout Farms in Damghan City

Soheil Alinezhad¹, Gholamhosein Irajian², Seyed Soheil Ghaemmaghami¹

1. Institute of Technical and Vocational Higher Education, Agriculture Jihad, AREEO, Tehran, Iran
2. Rasool Akram Agricultural & Natural Resource Education Center, Institute of Technical and Vocational Higher Education, Agriculture Jihad, AREEO, Tehran, Iran

Article Information

Article history:

Received: 2018/02/08

Accepted: 2018/03/05

Available online: 2018/05/14

Article Subject: Mycology

IJMM 2018; 12(1): 33-42

Corresponding author:

Soheil Alinezhad
Assistant Professor, Institute
of Technical and Vocational
Higher Education, Agriculture
Jihad, AREEO, Tehran, Iran
Tel: 021-66430436

Email:

soheilalinezhad47@gmail.com

Use your device to scan
and read the article online



Abstract

Background and Aims: Aquatic feed consists of different components; the undesirable quality of each of them affects the quality of the meat produced. Fungi are agents of contamination and poison production in food. Aflatoxins are of particular importance among the toxins of fungi. This poison has the ability to transfer through feeds to fish and then humans. The aim of this study was to determine the amount of aflatoxin in the feed and to identify the fungal flora.

Materials and Methods: In this study, 8 rainbow trout farms in Damghan city were evaluated for the assessment of fungal flora and total aflatoxin levels. 500 g sample of feed (pellet) was randomly prepared from the storeroom of the 8 fish farms. Fungi of *Aspergillus Flavous* and also fungal flora were isolated and identified by culture and slide culture method. Total aflatoxin measurement was performed using ELISA method.

Results: A total of 11 genera (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Scopulariopsis*, *Chrysosporium*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Ulocladium*, *Alternaria*, *Pseudallescheria*) were identified. The genera of *Rhizopus* and *Aspergillus* were the highest with 20.38% and 18.47% respectively. Among *Aspergillus* species, *Aspergillus flavus* was the highest with 48.44% and *A. ochraceus* had the lowest incidence of 10.34%. *A. niger* was also reported with 24.74% of the reported cases. The lowest frequency was found in the genus *Chrysosporium* with 1.28%. The average of total aflatoxin concentration was 5.36 ppb in the range of 2.03-11.64.

Conclusions: The aflatoxin content in all samples from Rainbow trout consumption was less than the permitted level (20 ppb).

Keywords: Aflatoxin, Fungal Flora, *Aspergillus*, Rainbow Trout, Damghan

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Alinezhad S, Irajian G, Ghaemmaghami S S. Evaluation of Fungal and Aflatoxin Contamination in Factory-made Feed in Rainbow trout Farms in Damghan City. Iran J Med Microbiol. 2018; 12 (1): 33-42



ارزیابی آلودگی قارچی و آفلاتوکسین در خوراک کارخانه‌ای مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شهرستان دامغان

سهیل علی‌نژاد^۱، غلامحسین ایراجیان^۲، سید سهیل قائم‌مقامی^۱

۱. موسسه آموزش عالی علمی - کاربردی جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۲. مرکز آموزش کشاورزی و منابع طبیعی رسول اکرم دامغان، موسسه آموزش عالی علمی - کاربردی جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و هدف: خوراک آبزیان از اجزای مختلفی تشکیل شده است که کیفیت نامطلوب هریک از آنها بر کیفیت گوشت تولید شده تاثیرگذار است. قارچ‌ها از عوامل فساد و تولید سم درموادغذایی هستند. در بین سموم قارچی آفلاتوکسین‌ها اهمیت زیادی دارند. این سم قابلیت آن را دارد که از خوراک به ماهی و سپس انسان منتقل شود. هدف از این پژوهش تعیین میزان آفلاتوکسین در خوراک و همچنین شناسایی فلور قارچی آن است.

مواد و روش کار: در این مطالعه ۸ مزرعه پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان واقع در شهرستان دامغان برای بررسی فلور قارچی و اندازه‌گیری سطح آفلاتوکسین کل سنجش شدند. از انبار ۸ مزرعه پرورش ماهی، ۵۰۰ گرم نمونه خوراک کارخانه‌ای (پلت) به صورت تصادفی تهیه شد. فلور قارچی با روش کشت و کشت روی لام، جداسازی و شناسایی شدند. آفلاتوکسین کل با استفاده از روش الیزا اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در مجموع ۱۱ جنس (آسپرژیلوس، فوزاریوم، پنسیلیوم، موکور، اسکوپولاریوپسیس، کرایزوسپوریوم، ریزوپوس، آسیدیا، الوکلادیوم، آلترناریا، سوداشریا) شناسایی شدند. جنس‌های ریزوپوس و آسپرژیلوس به ترتیب با ۲۰/۳۸٪ و ۱۸/۴۷٪ بالاترین میزان فراوانی را داشتند. در بین گونه‌های آسپرژیلوس، آسپرژیلوس فلاووس با ۲۴/۴۸٪ بالاترین و آکراسئوس با ۱۰/۳۴٪ پایین‌ترین فراوانی را داشتند. آسپرژیلوس نایجر نیز با ۷ مورد گزارش، ۲۴/۱۴٪ فراوانی داشت و کمترین میزان فراوانی با ۱/۲۸٪ متعلق به جنس کرایزوسپوریوم بود. میانگین میزان آفلاتوکسین کل ۵/۳۶ppb در دامنه ۲/۰۳-۱۱/۶۴ppb بود.

نتیجه‌گیری: میزان آفلاتوکسین در تمام نمونه‌های به‌دست آمده از پلت مصرفی قزل‌آلا، کمتر از میزان مجاز (۲۰ppb) بود. **کلمات کلیدی:** آفلاتوکسین، فلور قارچی، آسپرژیلوس، قزل‌آلای رنگین‌کمان، دامغان

کپی‌رایت © حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۱۹
پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۱۴
انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۰۲/۲۴
موضوع: قارچ شناسی
IJMM1397;12(1): 33-42
نویسنده مسئول:
سهیل علی‌نژاد
استادیار، موسسه آموزش عالی علمی - کاربردی جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
تلفن: ۰۲۱-۶۶۴۳۰۴۳۶
پست الکترونیک: soheilalinezhad47@gmail.com

مقدمه

آبزی‌پروری با تولید ۶۰ میلیون تن سریع‌ترین رشد را در بخش تولید مواد غذایی به خود اختصاص داده است (۳). طبق آخرین آمار موجود، در یک دوره ده ساله، تولیدات حاصل از پرورش ماهی از ۴۱۹۰۹۰۰۰ تن در سال ۲۰۰۴ میلادی به ۷۶۶۰۰۰۰۰ تن در سال ۲۰۱۵ افزایش یافته است. در سال‌های ۲۰۱۳-۲۰۱۵ میزان ماهی مصرفی به‌طور مساوی (۵۰٪) از منابع صید و پرورش ماهی تامین شده است که طبق برآوردها، این نسبت در سال ۲۰۲۵ میلادی به ۵۷٪ (از پرورش ماهی) و ۴۳٪ (از صید ماهی) تغییر می‌کند (۴،۵) که نشان از افزایش سهم آبزی‌پروری در تولید مواد

با رشد روزافزون جمعیت جهان، نیازهای پروتئینی نیز هر روزه افزایش می‌یابد و دریا یکی از منابع تامین این نیازهای پروتئینی است. غذاهای دریایی تازه ۴۰/۵٪ از تولید غذاهای دریایی جهان را تشکیل می‌دهند (۱) و تا چند دهه قبل بهترین منبع تامین آنها صید از دریا محسوب می‌شد ولی امروزه آبزی‌پروری توسعه فراوانی یافته و نیازهای بشر را بیشتر از پیش مرتفع می‌سازد (۲). براساس گزارش سال ۲۰۱۴ فائو تولید کل ماهی، انواع سخت‌پوستان و نرم‌تنان مصرفی انسان، در سال ۲۰۱۲ معادل ۱۳۶ میلیون تن بوده است. براساس همین آمار،

قارچی زیاد است. درکشور ما به دلیل شرایط متنوع آب و هوایی احتمال حضور طیف وسیعی از آلودگی‌های قارچی به ویژه قارچ‌های مولد سم، همراه با سموم تولید شده آنها در محیط وجود دارد. قطعاً نواحی معتدل و مرطوب کناره دریای خزر از نظر پراکندگی قارچی و نوع سم با نواحی گرم و خشک یا معتدل کوهستانی متفاوت هستند. تنوع محصولات کشاورزی در ایران نیز از جمله عواملی است که گسترش انواع بیشتری از قارچ‌ها را در سطح کشور تقویت می‌کند. مطالعه بر سموم قارچی و قارچ‌های تولید کننده آنها در ایران از ابعاد مختلف نظیر بهداشت مواد غذایی و جنبه‌های اقتصادی مربوط به صنایع کشاورزی و دامپروری حائز اهمیت است. قارچ‌های مولد سم با آلوده کردن محصولات کشاورزی به طور مستقیم باعث کاهش کیفیت و کمیت مواد اولیه خوراکی یا خوراک کامل شده یا ارزش فرآورده‌های غذایی با منشا حیوانی را به طور غیرمستقیم کاهش می‌دهند که این امر می‌تواند منجر به شیوع انواع میکوتوکسیکوزیس در انسان و حیوانات مزرعه شود. در همین رابطه، وقوع بیماری‌های زیادی را به حضور سموم قارچی در جیره غذایی نسبت داده‌اند (۱۳). این سموم آثار مخرب و شدیدی نظیر جهش‌زایی و نقص ژنتیکی، بروز سرطان، کاهش رشد و مهار سیستم ایمنی را در موجودات زنده ایجاد می‌کنند. مشکل سموم قارچی فقط در خوراک حیوان یا کاهش عملکرد دام و طیور نیست بلکه در گوشت، شیر و تخم‌مرغ هم وجود دارد که می‌تواند برای سلامت انسان تهدیدآمیز باشد (۱۶). اکثر سموم قارچی شناخته شده به وسیله گونه‌های متعلق به جنس‌های قارچی *آسپرژیلوس*، *پنی‌سیلیوم*، *فوزاریوم*، *کلادی‌سپس*، *آلترناریا*، *استاکی‌بوتریس* و *میروتسیوم* تولید می‌شوند. در تحقیقات مختلف انجام شده، گونه‌های متعددی از جنس‌های مختلف قارچی به ویژه *آسپرژیلوس*، *یوروتیوم*، *پنی‌سیلیوم*، *فوزاریوم* از مواد اولیه استفاده شده در تهیه خوراک دام‌ها جدا شدند که *آسپرژیلوس فلاووس* بالاترین میزان شیوع را داشته است. پراکندگی قارچ‌های مولد سم و گستردگی میزان‌های آنها و نیز وسعت و دامنه اثر سموم قارچی بر موجودات زنده از جمله میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات خطر حضور این سموم در زنجیره غذایی انسان را افزایش داده است. در بین این سموم قارچی، آفلاتوکسین‌ها و اکراتوکسین‌ها خطرناک‌تر از بقیه بوده و آثار زیانباری بر حیوانات پرورشی از جمله ماهیان دارند که می‌توان به کاهش ایمنی بدن، کاهش رشد و تولید، افزایش ضریب تبدیل مواد غذایی و تلفات آبریان اشاره کرد (۱۷، ۱۸). آفلاتوکسین‌ها در بین سموم قارچی، اهمیت خاصی دارند (۱۳).

غذایی با منشاء آبریان دارد. تولید انواع آبریان پرورشی از جمله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور ما نیز روند رو به رشدی داشته است و میزان تولید از ۳۰۰۰۰ تن در سال ۱۳۸۳ به ۱۲۶۵۱۵ تن در سال ۱۳۹۳ افزایش یافته است (۶، ۷). این رشد میزان تولید از دو راه امکان‌پذیر است اول؛ افزایش مساحت زیر کشت و دوم؛ افزایش تولید در واحد سطح زیر کشت که با توجه به محدودیت منابع، مسیر این افزایش به سمت پرورش‌های متراکم و افزایش تولید در واحد سطح زیر کشت خواهد بود (۸). دو عامل آب استفاده شده در استخرهای پرورشی و غذای مصرفی در کیفیت ماهی تولیدی تاثیر بسزایی دارند. این افزایش در تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، منجر به افزایش فعالیت در تولید مکانیزه و تناژ بالای خوراک آنها در کشور شده است که به دنبال آن امکان انتقال عوامل بیماری‌زا و سموم مختلف از راه مصرف مواد غذایی آلوده به ماهی و در نهایت به مصرف‌کنندگان وجود دارد (۹). در گونه‌های مختلف آبریان پرورشی، افزایش تولید به کیفیت و کمیت جیره، شامل تازگی مواد خام، وضعیت و کیفیت پروتئین، چربی‌های باقیمانده در کنجاله‌های گیاهی، اقلام اولیه خوراک و درجه حرارت حین فرآوری بستگی دارد (۱۰، ۱۱). در واقع کارایی مطلوب، عملکرد مناسب و افزایش رشد ناشی از جیره غذایی در آبریان، متأثر از ترکیبات مواد خوراکی، اثر متقابل مواد خوراکی روی همدیگر، پایداری جیره در آب، خوش خوراکی و اندازه ذرات غذایی در دسترس در مراحل مختلف رشد و نمو است (۱۲). قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی وابستگی کامل به غذادهی دستی دارد. از این‌رو کیفیت غذا در کیفیت ماهی تولیدی بسیار تاثیرگذار است و طعم و کیفیت ماهی عرضه شده با غذای مصرف شده ماهی کاملاً مرتبط است. یکی از عوامل موثر در کاهش کیفیت خوراک مصرفی، قارچ‌ها هستند. قارچ‌ها به عنوان مهم‌ترین تجزیه‌کنندگان طبیعت شناخته می‌شوند و یکی از عوامل مهم فساد در انبارهای نگهداری محصولات کشاورزی هستند. گروهی از قارچ‌ها به دنبال رشد روی ماده غذایی تولید سمومی می‌کنند که به نام سموم قارچی یا میکوتوکسین‌ها شناخته می‌شوند (۱۳، ۱۴). فائو میزان خسارتی را که در اثر آلودگی غلات به میکروارگانیسم‌ها، در ثروت ملی کشورهای مختلف جهان وارد می‌شود در حدود ۱۰٪ کل تولیدات مواد غذایی برآورد می‌کند (۱۵). آلودگی مواد غذایی به قارچ‌ها خسارات عمده‌ای به تولیدات غذایی می‌زند که با توجه به شیوه تهیه و نگهداری مواد غذایی، احتمال آلودگی این مواد به انواع قارچ‌ها و در نتیجه تولید سموم

شده بودند، دچار تومور کبدی شده و نزدیک به ۸۵٪ آنها تلف شدند (۱۹). طبق گزارش‌های فائو مقدار LD₅₀ سم آفاتوکسین برای هر کیلوگرم وزن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۰/۸ mg/kg عنوان شده است (۲۹). موضوع آبی‌پروری و پایش از باقیمانده‌های دارویی و سموم و آلاینده‌های محیط زیست در فرآورده‌های دریایی را نه تنها می‌توان جزئی از بخش کلان تولید دانست (۲) بلکه به سبب اهمیت این سم در خوراک آبزیان، سمیت بالا و نیز قابلیت انتقال به انسان از راه محصولات، دریایی و ارزیابی میزان آفاتوکسین‌ها در خوراک و مقایسه آن با مقادیر استاندارد به‌منظور پیش‌آگاهی، ارائه پیشنهادها و اقدامات به منظور پیشگیری از ابتلا به آفاتوکسیکوزیس در دام و انسان، ضروری به نظر می‌رسد. لازم به ذکر است که وجود سموم ناشی از قارچ‌ها به‌ویژه آفاتوکسین بیش از ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم (۲۰ ppb) در خوراک آبزیان طبق استاندارد ملی روش‌های آزمون آفاتوکسین B و G در مواد غذایی «شماره ۲۷۱۱» موسسه استاندارد ایران بالاتر از حد مجاز عنوان شده است.

با توجه به اهمیت موضوع، در این تحقیق برآنیم تا وضعیت جیره ماهیان قزل‌آلای پرورشی در شهرستان دامغان را از لحاظ میزان شیوع گونه‌های آفاتوکسین‌زای اسپرژیلوس و مقادیر آفاتوکسین کل بر حسب ppb و با استفاده از روش شناخته شده الیزا در خوراک‌های نگهداری شده در انبار ارزیابی کنیم. تا در صورت اثبات وجود بیش از حد مجاز، بتوان با انجام دیگر فعالیت‌های تحقیقی درباره نحوه استاندارد کردن آن و رفع مشکلات احتمالی کنونی، اقدام کرده و در راستای کاهش ضررهای اقتصادی و افزایش بهره‌وری و نیز کاهش خطر سلامت افراد جامعه گام برداشت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه کلیه مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان واقع در شهرستان دامغان (شامل ۸ مزرعه پرورش) به‌صورت سرشماری برای بررسی فلور قارچی و اندازه‌گیری سطح آفاتوکسین کل سنجش شدند.

نمونه‌گیری

نمونه‌گیری براساس دستورالعمل «شماره ۷۵۷۰» موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و دستورالعمل «نحوه نمونه‌برداری از کارخانجات تولیدکننده خوراک دام و طیور و آبزیان» سازمان دامپزشکی کشور (۱۳۹۴) در فصل بهار سال ۱۳۹۶ انجام شد. از نقاط مختلف انبار نگهداری از خوراک در هر

اسپرژیلوس فلاووس از گونه‌های اصلی مولد آفاتوکسین است که مسئول آلودگی محصولات کشاورزی قبل از برداشت یا در دوران نگهداری در انبار است. از گونه‌های با اهمیت دسته اسپرژیلوس که قادر به تولید آفاتوکسین‌ها هستند می‌توان از اسپرژیلوس فلاووس، اسپرژیلوس پارازیتیکوس و اسپرژیلوس نومیوس نام برد. در گزارش‌های اخیر، چند گونه دیگر نیز به تولیدکنندگان آفاتوکسین اضافه شده است که عمدتاً در اسپرژیلوس دسته فلاوی طبقه‌بندی شده‌اند (۱۴). چهار آفاتوکسین اصلی شامل AFG₁، AFG₂، AFB₁، AFB₂ است که به مجموع آنها آفاتوکسین کل نیز گفته می‌شود. آفاتوکسین B₁ در قزل‌آلای رنگین‌کمان از سرطان‌زاترین ترکیبات است و قزل‌آلای جوان هم در زمره حساس‌ترین حیوانات به سم مذکور است (۱۹، ۲۰). علائم مسمومیت حاد در ماهی قزل‌آلای شامل کم‌خونی، رنگ پریدگی آبشش‌ها، کدورت چشم منتهی به کاتاراکت و کوری، کاهش حجم هماتوکریت خون، آماس، خونریزی‌های متناوب، جراحات‌های پوستی، تغییر در متابولیسم مواد غذایی و آسیب کبدی است (۲۱). ممکن است در زمان مسمومیت حاد، علائم بالینی مشاهده نشده و مرگ و میری ناگهانی و مرموز رخ دهد. تاکنون مطالعات مختلفی درباره آفاتوکسین‌ها و حضور آنها در خوراک ماهی و سایر دام‌ها در ایران و سایر نقاط جهان انجام شده است.

به عنوان مثال بررسی میزان شیوع گونه‌های آفاتوکسین‌زای اسپرژیلوس و باقیمانده آفاتوکسین در خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در استان‌های تهران و آذربایجان غربی (۹)، جداسازی اسپرژیلوس و اندازه‌گیری میزان آفاتوکسین موجود در پودر ماهی، ذرت و کنجاله سویا (۲۶) اندازه‌گیری میزان آفاتوکسین کل و B₁ در غذای مصرفی ماهی قزل‌آلای در استان چهارمحال و بختیاری (۲۷) و اندازه‌گیری آفاتوکسین‌ها در میگوی پرورشی ایران (۲) نمونه‌ای از کارهای انجام شده‌اند. سوابق تحقیق در خارج از کشور بسیار گسترده است و اطلاعات زیادی درباره تاثیر آفاتوکسین B₁ بر بیشتر گونه‌های پرورشی ماهی شامل قزل‌آلای رنگین‌کمان، گربه ماهی کانال، کپور معمولی، باس دریایی، تیلاپیا و سخت پوستانی نظیر میگوی وانامی و میگوی سیاه ببری وجود دارد (۲۸). اولین شیوع گزارش شده مستند آفاتوکسیکوزیس که بر سلامت ماهیان تأثیر گذاشته، در سال ۱۹۶۰ در ماهی قزل‌آلای پرورشی اتفاق افتاده است. این ماهی‌ها که با غذای پلت شده حاوی پنبه دانه آلوده به آفاتوکسین تغذیه

گیری کرده و درخوراک دام استفاده قرار می‌کند. در مرحله پایانی فرآیندهای آزمایشگاهی، نمونه‌ها با استفاده از یک دستگاه اپتیکیال دانسیتومتر خوانده شدند.

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش آمار توصیفی و به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۲۰۱۳ انجام شد.

یافته‌ها

نمونه‌های خوراک از دو جنبه فلور قارچی و میزان آفلاتوکسین کل بررسی شد. در مجموع ۱۱ جنس (آسپرژیلوس، فوزاریوم، پنسیلیوم، موکور، اسکوپولاریوپسیس، کرایزوسپوریوم، ریزوپوس، آبسیدیا، الکلادیوم، آلترناریا، سودالشریا) شناسایی شدند (جدول ۱). جنس ریزوپوس با ۲۰/۳۸٪ بالاترین میزان فراوانی را داشت که دو مزرعه ۵ و ۷ بیشترین میزان آلودگی به این قارچ را داشتند و بعد از آن جنس آسپرژیلوس با فراوانی ۱۸/۴۷٪ قرار داشت که بالاترین میزان آلودگی به آسپرژیلوس در مزرعه شماره ۷ بود. کمترین فراوانی با ۱/۲۸٪ متعلق به جنس کرایزوسپوریوم بود (جدول و نمودار ۱). بین گونه‌های آسپرژیلوس، آسپرژیلوس فلاووس با ۳۴/۴۸٪ بالاترین و آسپرژیلوس اکراسئوس با ۱۰/۳۴٪ پایین‌ترین فراوانی را داشتند. آسپرژیلوس نایجر نیز با ۷ مورد گزارش ۲۴/۱۴٪ از فراوانی را به خود اختصاص داد (نمودار ۲).

از نظر میزان مجموع آلودگی‌های قارچی مزرعه‌های ۲ و ۸ حداقل آلودگی و مزرعه ۴ بالاترین میزان آلودگی را داشتند (نمودار شماره ۳).

مزرعه پرورشی، مقدار ۵۰۰ گرم نمونه خوراک کارخانه‌ای (پلت) به‌صورت تصادفی تهیه شد و پس از قراردادن در بسته‌های مناسب و ثبت مشخصات به سرعت به آزمایشگاه منتقل شد.

جداسازی قارچی

با روش Samson و همکاران (۲۰۰۰)، رقیق‌سازی نمونه‌های آزمایشگاهی (۳۰) و در نهایت کشت در محیط‌های DRCA و AFPA (*Aspergillus flavus and parasiticus agar*) ساخت شرکت Thermo Scientific Oxoid™ کشور انگلستان اقدام شد. در محیط کشت AFPA، قارچ‌های آسپرژیلوس دسته فلاووی از جمله گونه‌های فلاووس و پارازیتیکوس به صورت پرگنه‌های پشت نارنجی مشخص می‌شوند. محیط DRCA نیز به دلیل داشتن دی‌کلران، روزبنگال و کلرامفنیکل برای جداسازی قارچ‌ها از محیط، بسیار مناسب است.

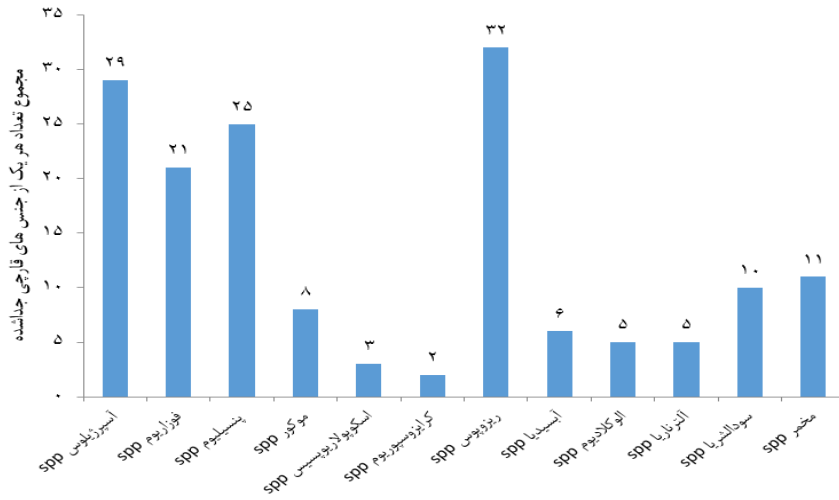
از کلیه پرگنه‌های پشت نارنجی نمونه‌گیری شد و برای خالص‌سازی به پلیت‌های حاوی محیط سابورو دکستروز آگار و چاپکس منتقل شد. بعد از خالص‌سازی پرگنه‌های پشت نارنجی، برای بررسی مورفولوژیکی اقدام به تهیه اسلاید کالچر (کشت بر روی لام) شد. شناسایی فلور قارچی با توجه به ویژگی‌های مورفولوژی ماکرو و میکروسکوپی ایزوله‌های قارچی انجام شد.

اندازه‌گیری آفلاتوکسین

برای اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین نمونه‌های خوراک از روش الیزا استفاده شد. برای اینکار از کیت سنجش آفلاتوکسین کل AgraQuant total Aflatoxin Assay 4/40 شرکت Romer Labs کشور سنگاپور استفاده شد. روش AgraQuant یک روش الیزای مستقیم است که سطح کمی آفلاتوکسین کل را اندازه

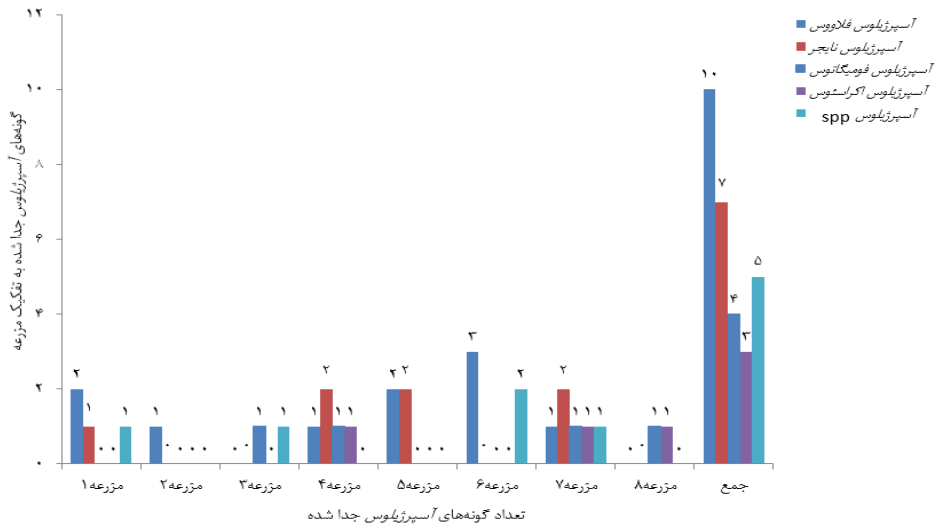
جدول شماره ۱. فراوانی قارچ‌های جداسازی شده به تفکیک مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

مزرعه قارچ	مزرعه شماره ۱	مزرعه شماره ۲	مزرعه شماره ۳	مزرعه شماره ۴	مزرعه شماره ۵	مزرعه شماره ۶	مزرعه شماره ۷	مزرعه شماره ۸
آسپرژیلوس spp.	۴	۱	۲	۵	۴	۵	۷	۸
فوزاریوم spp.	۲	-	۳	۴	۳	۳	۵	۱
پنسیلیوم spp.	۳	۲	۴	۶	۳	۳	۴	-
موکور spp.	-	-	۱	۲	۲	۲	۱	-
اسکوپولاریوپسیس spp.	-	-	-	۱	-	-	۲	-
کرایزوسپوریوم spp.	۱	۱	-	-	-	-	-	-
ریزوپوس spp.	۴	۳	۴	۴	۵	۴	۵	۳
آبسیدیا	۱	۱	-	۱	۲	-	۱	-
الکلادیوم	۱	-	-	۱	۲	-	۱	-
آلترناریا	-	-	-	۲	-	۲	-	۱
سودالشریا	۳	-	-	۳	۱	۲	۱	-
مخمر spp.	۲	-	۲	۱	۴	۱	-	۱

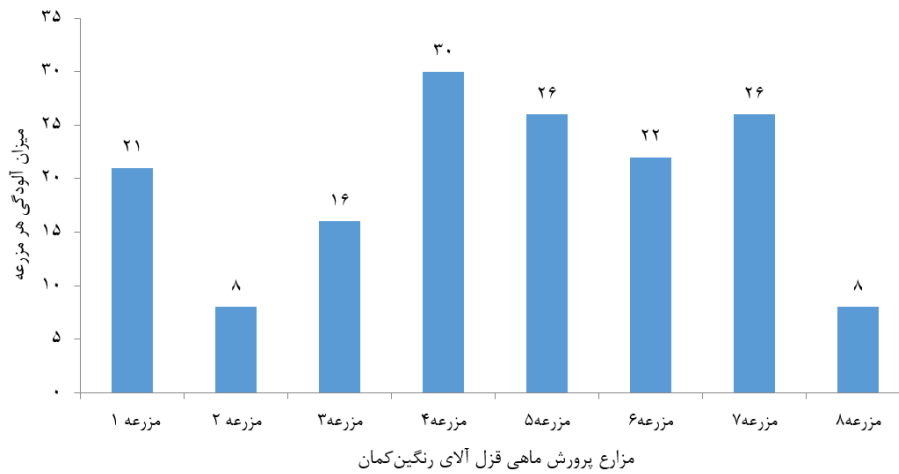


قارچ های جدا شده به تفکیک جنس

نمودار شماره ۱. فراوانی قارچ های جدا شده به تفکیک جنس از مزارع پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان



نمودار شماره ۲. فراوانی گونه های اسپرژیلوس یافت شده در خوراک قزل آلی رنگین کمان به تفکیک مزرعه



نمودار شماره ۳. مجموع آلودگی قارچی به تفکیک مزرعه



پایین‌ترین آن در مزرعه شماره ۲ مشاهده شد. مقادیر آفلاتوکسین به‌دست‌آمده از خوراک به تفکیک مزرعه، در جدول ۲ آمده است.

نتایج به‌دست‌آمده درباره آفلاتوکسین کل، نشان‌دهنده میانگین $5/36$ ppb در دامنه $2/03-11/64$ ppb بود. در ضمن بالاترین میزان آلودگی به آفلاتوکسین کل در مزرعه شماره ۶ و

جدول شماره ۲. مقایسه آفلاتوکسین کل نمونه‌های خوراک مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شهر دامغان

مزرعه ۱	مزرعه ۲	مزرعه ۳	مزرعه ۴	مزرعه ۵	مزرعه ۶	مزرعه ۷	مزرعه ۸
۴/۴۱±۰/۲۱	۲/۰۳±۰/۱۳	۳/۱۴±۰/۱۸	۷/۵۳±۰/۶۴	۵/۲۵±۰/۴۴	۱۱/۶۴±۰/۸۴	۶/۶۷±۰/۵۶	۲/۲۵±۰/۱۷

بحث

رایج‌ترین شکل غذایی برای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در استخرهای پرورشی در اکثر مناطق دنیا استفاده از غذای کنسانتره است که در اندازه‌های مختلف و با توجه به اندازه ماهی استفاده می‌شود. این غذاها بین ۱۳ تا ۱۷ درصد رطوبت دارند (۳۱). بین اجزای سازنده پلت، غلات و مواد پروتئینی، جیره دو گروه اصلی مواد خام ترکیبات هستند که در معرض آلودگی قرار دارند (۹). تحقیق حاضر، با هدف ردیابی سم آفلاتوکسین خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سعی بر اندازه‌گیری و تشخیص میزان حضور سم فوق در غذای مصرفی این ماهیان و نیز جداسازی و شناسایی فلور قارچی خوراک مصرفی داشته است. در این پژوهش ۸ نمونه خوراک پلت شده برای قزل‌آلای بازاری به طور تصادفی از ۸ مزرعه پرورش ماهی در نقاط مختلف شهر دامغان به‌صورت سرشماری و در فصل بهار ۱۳۹۶ جمع‌آوری و آزمایش شد. فلور قارچی و میزان سطح آفلاتوکسین کل با استفاده از روش الیازای مستقیم اندازه‌گیری شد. آسپرژیلوس، فوزاریوم، پنسیلیوم، موکور، اسکوبولاریوسپیس، کرایوسپوریوم، ریزوبوس، آسیدیا، الوکلادیوم، آلترناریا و سودالشریا جنس‌های قارچی جدا شده بودند که جنس‌های آسپرژیلوس، فوزاریوم، پنسیلیوم و آلترناریا از نظر تولید سموم قارچی اهمیت دارند. سه جنس ریزوبوس، آسپرژیلوس و پنسیلیوم بالاترین میزان آلودگی (۵۴/۷۸٪) را داشتند. جنس آسپرژیلوس، ۱۸/۴۷٪ از آلودگی کل را تشکیل می‌داد و از این میزان آسپرژیلوس فلاووس با ۳۴/۴۸٪ بیشترین گونه در بین گونه‌های مختلف آسپرژیلوس بود. که از این نظر با نتایج به‌دست آمده در چند تحقیق دیگر مشابهت دارد (۲۲، ۲۳، ۲۵). در جداسازی عوامل قارچی مولد سم از گندم و ذرت انبار شده در سیلوهای شهر کرمان نیز آسپرژیلوس فلاووس با ۱۴٪ بیشترین جدایه را بین گونه‌های آسپرژیلوس داشت (۳۲). اما با نتایج به‌دست آمده Ebrahimi و Razavilar (۲۰۱۱) اختلاف دارد. در تحقیق ذکر شده فقط ۸/۳٪ از نمونه‌ها به

آسپرژیلوس فلاووس آلوده بودند (۹). نکته دیگر اینکه در نمونه‌های به‌دست آمده از دامغان، گونه آسپرژیلوس پارازیتیکوس جدا نشد. این گونه از قارچ‌های مهم مولد آفلاتوکسین است که از این نظر با بسیاری از گزارش‌های داخل کشور مشابهت دارد (۲۵، ۲۳، ۲۲، ۱۶، ۹). در تحقیقی مشابهی در اهواز بر روی پودر ماهی، ذرت و کنجاله سویا، ۹۴/۶٪ نمونه‌ها به قارچ آسپرژیلوس آلوده بودند که ۸۵/۳٪ از آن را گونه فلاوس تشکیل می‌داد که بسیار بیشتر از تحقیق حاضر است (۲۶).

آسپرژیلوس فلاووس مهم‌ترین عامل مولد آفلاتوکسین به حساب می‌آید، سوش‌های مختلف این گونه ممکن است هم آفلاتوکسین B₁ و هم B₂ را تولید کنند (۳۳). توانایی تولید آفلاتوکسین به وسیله سوش‌های جدا شده از غذا در دامنه وسیعی از ۱/۶۰٪ برای سوش‌های جدا شده از خوراک طیور (۳۴) و تا ۷۶٪ برای موارد جدا شده از خوراک دام در هند (۳۵) گزارش شده است. البته تمامی سویه‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس توانایی تولید آفلاتوکسین را ندارند. سویه‌هایی که توانایی تولید آفلاتوکسین را دارند، سویه‌های سمی و آنهایی که مولد آفلاتوکسین نیستند، سویه‌های غیرسمی نامیده می‌شوند. ضمن اینکه در همه محیط‌ها سویه‌های مولد سم، لزوماً توانایی تولید سم ندارند (۳۶، ۱۳). بنابراین حضور این قارچ‌ها نمی‌تواند به‌طور قطع نشان‌دهنده حضور سم در غذا باشد اما پتانسیل تولید سم وجود دارد و در صورت ایجاد شرایط مساعد مثل بالا بودن میزان رطوبت غذا یا شرایط بد نگهداری، احتمال تولید سم در پلت افزایش می‌یابد. از طرفی ممکن است میزان سم تولیدشده به حدی نباشد که ایجاد مسمومیت و تلفات کند و ماهی‌های آلوده، صید و به بازار عرضه می‌شوند که این می‌تواند باعث تجمع تدریجی سم در مصرف‌کنندگان و به خطر افتادن بهداشت عمومی شود.

براساس نتایج به‌دست آمده میانگین آلودگی غذای مصرفی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در مزارع شهر دامغان به

نگهداری در انبارها و نیز استفاده از مواد اولیه با کیفیت بالا در تولید خوراکی‌های مخلوط را نام برد.

با توجه به گسترش آلودگی و وجود هاگ‌های قارچی‌های مولد آفاتوکسین در محیط، می‌توان ادعا کرد که بخش اعظم آفاتوکسین (با وجود اینکه مقدار آن از حد مجاز نیز پایین‌تر است)، در خود مواد خام مصرفی، قبل از فراوری وجود داشته است و احتمال استفاده از محصولات آلوده به توکسین، با توجه به نوع ترکیبات استفاده شده در تهیهی خوراک ماهیان، وجود دارد که این مورد در آلودگی گزارش شده Alinezhad و همکاران (۲۰۱۱) هم مشاهده شد (۲۲) و آلودگی پلت، ناشی از آلودگی اجزای تشکیل دهنده آن بود.

افزایش سیر صعودی ارسال نمونه‌های خوراک دام، طیور و آبزیان به آزمایشگاه‌های کنترل کیفیت در سطح کشور نشان از توجه بیشتر تولیدکنندگان و دامداران به این مهم است. در این راستا عملیاتی که روی مواد خام استفاده شده در کارخانجات تولیدی انجام می‌شود نظیر پاک‌کردن و جداسازی، آسیاب‌کردن خشک و مرطوب، استفاده از مواد ضد میکروبی و جاذب‌های سموم قارچی، خود می‌تواند بر کاهش بار آلودگی قارچی و کاهش درصد کل آفاتوکسین کل موجود در محصول نهایی مؤثر باشد. تاثیر این توجه در افزایش کیفیت تولید در محصول نهایی را می‌توان مشاهده کرد به عنوان مثال در اندازه‌گیری آفاتوکسین‌ها در میگوی پرورشی ایران، فقط در یک نمونه، آفاتوکسین B₁ به میزان ۱/۷۱ ppb تشخیص داده شد که بسیار کم است و می‌توان از آن چشم‌پوشی کرد (۲). این دقت در تولید روی سایر موارد نیز تاثیرگذار است و باعث افزایش کیفیت می‌شود. در این راستا طی مطالعه میزان اکراتوکسین A در خوراک قزل‌آلای رنگین‌کمان تولید شده در استان چهارمحال و بختیاری در سال ۲۰۱۱ میزان سم اکراتوکسین A در تمام نمونه‌های خوراک ماهی پایین‌تر از حد مجاز بود (۴۰). نتایج این دو تحقیق نیز به نوعی با نتایج به‌دست آمده هم‌خوانی دارد و نشان از تولید خوراک با کیفیت از نظر سم آفاتوکسین در کشور است. در کل در مقایسه با دیگر تحقیقات صورت‌گرفته در سطح ایران و جهان، میانگین سطح آفاتوکسین موجود در پلت مصرفی مزارع پرورشی ماهیان قزل‌آلا در شهر دامغان نشانگر این مطلب است که این نمونه‌ها سطح مطلوبی از نظر استاندارد جهانی آفاتوکسین (که ۲۰ ppb است) دارند. به طور کلی با توجه به مطالعات سایر محققین، رعایت نکات بهداشتی و فنی تولید و فراوری خوراک آبزیان لازم است تا بتوان غذایی سالم و با کیفیت بالا به مزارع پرورش ماهی عرضه کرد. امروزه با

آفاتوکسین ۵/۳۶ ppb کم‌ترین مقدار ۲/۰۳ و بیش‌ترین مقدار ۱۱/۶۴ ppb و کمتر از میزان مجاز (۲۰ ppb) بود. از ۸ مزرعه بررسی شده، ۲ مزرعه حداقل آلودگی به سم آفاتوکسین را نشان دادند و یک مزرعه بیشترین آلودگی را نشان داد که علت آن می‌تواند اختلاف در کارخانه تولیدکننده خوراک و نیز شرایط حمل و نگهداری باشد. دو مزرعه‌ای که حداقل آلودگی را نشان دادند از غذای مشابه استفاده کرده بودند. سایر محققین مقادیر بالاتر از حد مجاز آفاتوکسین در بعضی نمونه‌های خوراک دام را گزارش کرده اند (۲۴، ۳۷، ۳۸، ۳۹). در کار مشابهی که Alinezhad و همکاران (۲۰۱۱) انجام دادند، میزان آفاتوکسین B₁ در نمونه پلت یکی از کارخانجات خوراک دام استان تهران کمی بیشتر از ۲۰ ppb بود (۲۲). در بررسی Ebrahimi Mohammadi و Razavilar از خوراک انبار شده ماهیان قزل‌آلا در استان آذربایجان غربی، میزان آفاتوکسین کل در فصل بهار ۸/۶ ppb و در فصل تابستان ۶/۱ ppb اندازه‌گیری شد که در اینجا هم مقادیر آفاتوکسین در تمام نمونه‌ها پایین‌تر از سطح پذیرفتنی بود (۹). Motallebi و همکاران (۲۰۰۳) در دو مرحله نمونه‌گیری در دو زمان متفاوت از سال در استان آذربایجان غربی، خوراک مصرفی قزل‌آلای پرورشی را آزمایش کردند که در این مطالعه تاثیر فصل و شرایط محیطی مثل دما و رطوبت بر میزان آلودگی بررسی شد. غلظت آفاتوکسین در پاییز و زمستان بین ۲ تا ۴ ppb بود. در حالی که در تعدادی از نمونه‌های گرفته شده در بهار و تابستان، غلظت آفاتوکسین‌های B₁، B₂، G₁، G₂، بین ۱/۲۱ تا ۶/۶۲ ppb بود. نتایج هر دو تحقیق ذکر شده نزدیک به نتایج به‌دست آمده در این بررسی است که نشان از کیفیت خوب خوراک مصرفی از نظر آلودگی به سم آفاتوکسین دارد اما در تحقیق‌های صورت گرفته در دو سال ۱۳۸۴ تا ۱۳۸۵ در استان چهارمحال و بختیاری این میزان نگران‌کننده بود. اندازه‌گیری میزان آفاتوکسین B₁ و کل در غذای مصرفی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که سطح آفاتوکسین B₁ و کل به ترتیب در ۱۲/۸٪ و ۷۴/۳٪ نمونه‌های خوراک بیش از حد مجاز استاندارد اتحادیه اروپا بود (۲۷). به سبب اهمیت موضوع در سطح جهانی، تحقیقات متعددی درباره حضور سم در خوراک مصرفی حیوانات از جمله آبزیان، اثر سرطان‌زایی آفاتوکسین بر آبزیان و نیز گزارش تلفات آبزیان وجود دارد. این تحقیقات بیانگر این حقیقت است که قارچ‌های مولد آفاتوکسین گسترشی جهانی دارند و جلوگیری از وقوع آلودگی طبیعی به آفاتوکسین در خوراک دام نیاز به همکاری و توجهی جهانی دارد که از موارد مهم آن می‌توان شرایط مناسب



مستمر تحقیقات بیشتری در نقاط مختلف کشور و روی شکل‌های مختلف خوراک انجام شود.

سیاسگزاری

از آقای مهندس علی شریفی، مدیر گروه شیلات مرکز آموزش رسول اکرم دامغان به سبب همکاری در جمع‌آوری اطلاعات کارگاه‌های پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در منطقه تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

افزایش تولید آبزیان پرورشی، به‌ویژه قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور و به موازات آن افزایش تولید خوراک این ماهی، بحث تأمین امنیت غذایی و تولید غذای سالم که تضمین‌کننده تولید ماهی سالم باشد نیز مطرح است. انسان در آخرین مرحله از چرخه مصرف این منبع پروتئینی قرار دارد که تمام مخاطرات ایجاد شده سم فوق به نوعی می‌تواند سلامت این گروه را به خطر بیفکند. در پایان پیشنهاد می‌شود با توجه به اهمیت موضوع چه از نظر میزان تولید استخرهای پرورش ماهی و چه از نظر بهداشت عمومی، به‌طور

References

1. Bozari, IS. *Seafood Processing Technology, Quality and Safety*. West Sussex: Wiley Blackwell; 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118346174>
2. Motalebi AA, Razavilar V. High performance liquid chromatographic determination of aflatoxins in Iranian shrimp. *Pajouhesh & Sazandegi*. 2004;61:65-70.
3. Food and Agriculture Organization of the United Nation. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Roma: FAO; 2014.
4. fao.org [homepage on the Internet]. Rome: An Overview of Recently Published Global Aquaculture Statistics. [updated 2015]. Available from: <http://www.fao.org/3/a-bs235e.pdf>
5. fao.org [homepage on the Internet]. Rome: FAO Global Capture Production database updated to 2015 Summary information Fisheries and Aquaculture Department. [updated 2015]. Available from: <http://www.fao.org/3/a-br186e.pdf>
6. Statistical yearbook of Iran fisheries, 2003-2013, Iran fisheries organization. Management and resources development deputy, the office of management and budget, Department of statistics, 2014.
7. Statistical yearbook of Iran fisheries, 2013-2014, Iran fisheries organization. Management and resources development deputy, the office of management and budget, Department of statistics, 2015.
8. Ebrahimzadeh Mousavi HA, Hoosseinifard SM, Khosravi AR, Soltani M, Yosefian M. Evaluation of antifungal activity of Sulangan, Cumin, Antarctic and Garlic oils of *Fusarium Solana* isolated from ornamental aquarium fish. *J Vet Res*. 2007;62(3):163-8.
9. Ebrahimi Mohammadi K, Razavilar V. A survey on prevalence rate of Aflatoxigenic species of *Aspergillus* and residues of aflatoxins by ELISA method in Rainbow Trout feeds in Tehran and West Azarbayjan provinces – Iran. *J of comparative pathobiology*. 2011;8(1):385-94.
10. Hardy RW, Castro E. Characteristics of the Chilean salmonid feed industry. *Aquaculture*. 1994;124:307-20 [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90404-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90404-9)
11. Moren M, Suontama J, Hemre GI, Karlsen Ø, Olsen RE, Mundheim H, Julshamn K. Element concentrations in meals from krill and amphipods, possible alternative protein sources in complete diets for farmed fish. *Aquaculture*. 2006;261:174-81. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.022>
12. NRC. *Nutrient Requirement of Fish and Shrimp*. Committee on animal nutrition. Board on agriculture. National research council. Washington DC: National Academy Press; 2011.
13. Allameh A, Razzaghi-Abyaneh M. *Mycotoxins*. 1st ed. Tehran: Emam Hossein University; 2001.
14. Razzaghi-Abyaneh M, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Shams-Ghahfarokhi M, Alinezhad S. *Aflatoxins, Public Health and Agricultural Significance*. Tehran: ITVHE; 2011. PMID:PMC3279816
15. Hedayati MT. A survey on wheat samples for mycotoxin zearalenone from Mazandaran Province 2002. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2005;15(49):89-94.
16. Ebrahimzadeh A, Mohammadzadeh F, Salimi A. Prevalence of fungal contamination of flours in Zahedan Bakeries in 2013. *Med J Mashad Univ Med Sci*. 2016;57(5):705-10.
17. Leong YH, Ismail N, Latif AA, Ahmad R. Short Communication: Aflatoxin occurrence in nuts and commercial nutty products in Malaysia. *Food Control*. 2010;21:334-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.06.002>

18. Magan N, Olsen M. *Mycotoxins in Food Detection and Control*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2004 .
19. Royes JB, Yanong RPE. *Molds in fish and aflatoxicosis*. 2002, Avilabel at <http://edis.ifas.ufl.edu/FAO95> downloaded in 02/09/2011 .
20. Hendricks JD. 1994 Carcinogenicity of aflatoxins in non-mammalian organisms. In: *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. San Diego; Academic Press; 1994.103–36. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-228255-3.50011-8>
21. Sahoo PK, Mukherjee SC, Jain AK, Mukherjee A. Histopathological and electron microscopic studies of gills and opisthonephros of Rohu, *Labeo rohita* to acute and subchronic Aflatoxin B1 toxicity. *Asian Fish Sci*. 2003;16:257–68.
22. Alinezhad S, Tolouee M, Kamalzadeh A, Motalebi A A, Nazeri M, Yasemi M, Shams-Ghahfarokhi M, Tolouei R, Razzaghi-Abyaneh M. Mycobiota and aflatoxin B1 contamination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed with emphasis to *Aspergillus* section *Flavi*. *IFSR*. 2011;10(3):363-74.
23. Alinezhad S, Razzaghi-Abyaneh M, Ghaemmagami SS, Khajehrahimi AE, Rahanandeh M, Saberi SR. Fungal contamination in handmade and factory-made feed of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pajouhesh & Sazandegi*. 2013;100:35-45.
24. Motalebi AA, Ardalani K, Jamili S. Effect of temperature on the produced aflatoxins in the rainbow trout feed in West Azerbaijan province. *JFAS*. 2003;3:392-7.
25. Ghaemmaghami SS, Modirsaneii M, Khosravi A, Razzaghi-Abyaneh M. 2016. Study on mycoflora of poultry feed ingredients and finished feed in Iran. *IJM*. 2016;8(1):47-54. PMID:27092224 PMCID:PMC4833740
26. Mayahi M, Razi Jalali M, Salamat N. Isolation of *Aspergillus* spp and determination of aflatoxin level in fish meal, maize and soya meal. *Shahid Chamran University Journal of Science*. 2007;17:95-105.
27. Raeisi M, Rahimi A, Fadaeifard F, Ansari M. Determination of aflatoxin B1 and total in cultured rainbow trout feed in Chaharmahal & Bakhtyari Province. *Vet J of Islamic Azad University Garmsar Branch*. 2007;3(3):149-52 .
28. Jalilpour J, Vahabzadeh H, Sepahdari A, Pajand Z. Effect of toxicity contaminated food by Aflatoxin B1 on growth and some liver enzymes of starred sturgeon (*Acipenser stellatus*) juveniles. *J Aquac Res Dev*. 2014;7(4):1-11 .
29. www.fao.org , aflatoxins and aflatoxicosis. (Received data : 2005.05.25).
30. Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC, Filtenborg O. (2002) *Introduction to Food and Airborne Fungi*, 6nd ed. Utrecht: CBS; 2002.
31. Gall GAE, Crandell PA. The rainbow trout. *Aquaculture*. 1992;100:1-10. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90333-G](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90333-G)
32. Sarafi O, Faezi Ghasemi M, Chaiechi Nosrati A. Isolation and characterization of toxicogenic fungi strains from wheat and corn used in Kerman city. *Journal of Microbial World*. 2016;8(4):330-36.
33. Hedayati MT, Pasqualotto AC, Warn PA, Bowyer P. *Aspergillus flavus*: Human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*. 2007;153:1677-92. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/007641-0> PMID:17526826
34. Labuda L, Tanvinova D, Fungi recovered from Slovakian poultry feed mixtures and their toxinogeniety. *Ann Agric Environ Med*. 2006;13(2):193-200. PMID:17195991
35. Dutta TK, Das P. Isolation of aflatoxigenic strains of *Aspergillus* and detection of aflatoxine B1 from feeds in India. *Mycopathologia*. 2000;151(1):29-33. <https://doi.org/10.1023/A:1010960402254>
36. Cutuli MT, Cuellar A, Camara JM, Mateos A, Suarez G. Different media and methodologies for the detection of aflatoxin production by *Aspergillus flavus* strains isolated from trout feed. *Mycopathologia*. 1991;113(2):121–5. <https://doi.org/10.1007/BF00442423> PMID:1903512
37. Fraga ME, Curvello F, Gatti, MJ, Cavaglieri, LR, Dalcerro, AM, Rocha- Rosa CA. Potential aflatoxin and ochratoxin A production by *Aspergillus* species in poultry feed processing. *Vet Res Commun*. 2007;31(3):343-53. <https://doi.org/10.1007/s11259-006-3434-x> PMID:17216313
38. Keller KM, Queiroz BD, Keller LAM, Ribeiro JMM, Cavaglieri LR, Gonzalez Pereyra ML, et al. 2007. The mycobiota and toxicity of equine feeds. *Vet Res Commun*. 2007;31(8):1037-45. <https://doi.org/10.1007/s11259-007-0028-1> PMID:17285246
39. Charoen Pornsook K, kavisarasai P. Mycotoxins in animal feedstuffs of Thailand. *KMITL Sci Tech J*. 2006;6(1):25-8.
40. Fadaeifard F, Koorangi H, Rahimi E, Raiisy M, Pirzadeh R. Determination of ochratoxin A in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed in Chaharmahal Va Bakhtiary province by ELISA assay. *Journal of Food Hygiene*. 2013;2(8):71-9.