



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دانشکده علوم زراعی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی

موضوع:

بررسی تغییرات کمی و کیفی تولید افلاتوکسین در تعدادی از  
گونه‌های آسپرژیلوس با روش HPLC

استاد راهنما:

دکتر صفرعلی مهدیان

دکتر بهنام امیری بشلی

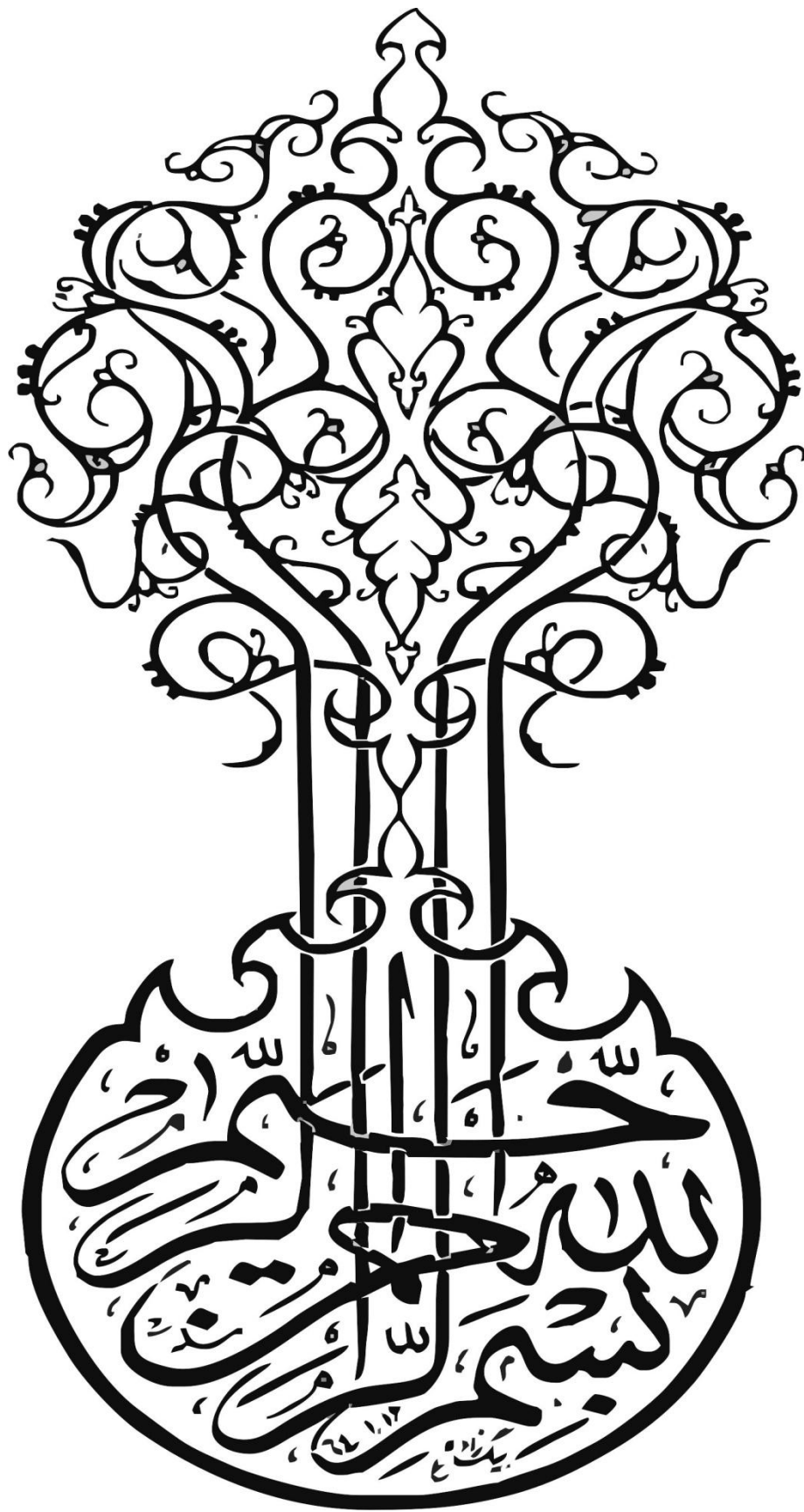
استاد مشاور:

سید سامان سید جعفر نظری

نام دانشجو:

فاطمه اصغر نژاد

تیر ۱۳۹۰





دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دانشکده علوم زراعی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی

موضوع:

بررسی تغییرات کمی و کیفی تولید افلاتوکسین در تعدادی از  
گونه‌های آسپرژیلوس با روش HPLC

استاد راهنما:

دکتر صفرعلی مهدیان

دکتر بهنام امیری بشلی

استاد مشاور:

سید سامان سید جعفر نظری

نام دانشجو:

فاطمه اصغر نژاد

تیر ۱۳۹۰

## سپاسگزاری

شکر و سپاس فراوان خداوند را که در پرتو لطف و مهر بیکرانش روشنائی بخش کلبه حیاتم بوده و خوان نعمتش میهماندار نیازهایم. برتر از هر چیز خداوندی است که علم او در همه مخلوقات جاری بوده و به آنها احاطه دارد، زیرکیهای هوشمندان به او نمیرسد. اولی است که پایانی برای او نیست تا به نهایت رسد و نه آخری است که تمام شود. سپاس بیکران به درگاه حق تعالی که توفیق نائل شدن به این مرتبه را بر این بنده ناچیز عنایت فرمود.

در این مجال بر خود لازم میدارم از زحمات پدر و مادر دلسوزم که در طول تحصیل همواره مشوق و یار و یاور من بودند و همیشه از کمکهای بیدریغشان بهره‌مند بودهام و خواهر و برادر مهربانم که مرا همراهی و محبت نمودند قدردانی و برای این عزیزان آرزوی توفیق روزافزون از درگاه حق تعالی مسئلت نمایم.

اکنون که به یاری پروردگار مهربان تحقیق و نگارش این پایاننامه به انجام رسیده است بر خود واجب میدانم درود فراوان خود را تقدیم اندیشمندان فرزانه‌های میدارم که افتخار شاگردی ایشان را دارم، از اساتید دلسوز و ارجمند **جناب آقای دکتر صفرعلی مهدیان و جناب آقای دکتر بهنام امیری بشلی** که زحمت راهنمایی این تحقیق را تقبل نموده و در طول انجام آن با صبر و حوصله فراوان یاریم نمودند صمیمانه قدردانی مینمایم. همچنین بر خود واجب می - دانم از **جناب آقای سید سامان سید جعفر نظری** که مشاوره این پایاننامه را عهده‌دار بوده و در تمام مراحل این پژوهش مرا راهنمایی نمودند، سپاسگزاری نمایم. از جناب آقای دکتر تاجیک که زمینه اجرای این تحقیق را با دراختیار قراردادن گونیه‌های قارچی اسپرژیلوس برای اینجانب فراهم نموده‌اند صمیمانه متشکرم. از جناب آقای دکتر تاجیک و جناب آقای دکتر بابائی زاد که زحمت داوری این تحقیق بر عهده ایشان بود و نیز از سرکار خانم دکتر چالوی

نماینده محترم تحصیلات تکمیلی به خاطر راهنمایی های ارزنده شان متشکرم. در خاتمه از تمامی کسانی که مرا در این دوره یاری نموده‌اند سپاسگزارم.

این ناچیز را اگر قدریست به

پدر بزرگوار و مادر عزیزم

که در پرتو مدد الهی تا به امروز آموزگاران مهر

و عاطفه صبوری و حامیان معنوی

و آرامش بخش لحظاتم بودند

خواهر و برادر عزیزم

به خاطر همه خوبیها و همراهیهایشان

و آنان که در محضرشان آموختم

تقدیم مینمایم .

## چکیده

افلاتوکسینها گروه بزرگی از سموم قارچی هستند که توسط گونه‌های خاصی از جنس *Aspergillus* تولید میگردند. این گروه از سموم قارچی به عنوان مهمترین توکسینهای قارچی محسوب میشوند که وجود آنها در محصولات غذایی به ویژه بذور گندم و ذرت یک خطر همیشگی برای ایجاد بیماریهای مزمن و خطرناک در انسان و حیوان در نظر گرفته شده است. در این پژوهش، در محیط کشت ساده و کم هزینه سیب-زمینی دکستروز براث، میزان تغییرات تولید افلاتوکسینهای *B<sub>1</sub>*، *B<sub>2</sub>*، *G<sub>1</sub>* و *G<sub>2</sub>* در گونه‌های *Aspergillus flavus* و *Aspergillus foetidus* با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا بررسی شده است. برای این منظور قارچهای یاد شده در ۵۰ میلی لیتر محیط PDB کشت داده شده و در شرایط مشابه محیط رشد طبیعی (دمای ۲۶ درجه سانتیگراد، رطوبت ۸۰٪ و در تاریکی به مدت ۳۲ روز) نگهداری شدند. پس از دستیابی به دامنه زمانی بیشینه تولید افلاتوکسین، میزان تولید افلاتوکسینهای *B<sub>1</sub>*، *B<sub>2</sub>*، *G<sub>1</sub>* و *G<sub>2</sub>* در ۱۳ گونه قارچ آسپرژیلوس شامل: *A. ustus*، *A. terreus*، *A. candidus*، *A. carneus*، *A. ostianus*، *A. auricomus*، *A. sclerotiorum*، *A. niger*، *A. fumigatus*، *A. parasiticus*، *A. caespitosus*، *A. awamori* و *A. niveus* ارزیابی شده است. در ادامه این پژوهش میزان آلودگی افلاتوکسین در بذور گندم و ذرت جمع آوری شده از بازار شهر ساری که دارای بیشترین تعداد گونه‌های آسپرژیلوس بودند، با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس یافته‌های این تحقیق در دو گونه قارچی *A. flavus* و *A. foetidus* روند تولید چهار نوع افلاتوکسین طی دوره زمانی ۳۲ روزه به صورت سینوسی بود. در گونه *A. foetidus* افلاتوکسینهای *B<sub>1</sub>*، *B<sub>2</sub>* و *G<sub>1</sub>* به ترتیب به میزان ۸/۷۱، ۲/۳۰ و ۳/۱۰ میلیگرم در ۵۰ میلیلیتر محیط PDB در روز ۲۴ پس از کشت و افلاتوکسین *G<sub>2</sub>* به میزان ۰/۰۲ میلیگرم در ۵۰ میلیلیتر محیط PDB در روز ۲۰ پس از کشت به بیشترین مقدار خود رسیدند. در گونه *A. flavus* افلاتوکسینهای *B<sub>1</sub>*، *B<sub>2</sub>* و *G<sub>2</sub>* به ترتیب به میزان ۴۸۷/۹۲، ۱۸/۴۶ و ۸/۵۷ میلیگرم در ۵۰ میلیلیتر محیط PDB در روز ۲۰ پس از کشت و افلاتوکسین *G<sub>1</sub>* به میزان ۱۲۶/۴۹ میلیگرم در ۵۰ میلیلیتر محیط PDB در روز ۲۴ پس از کشت به بیشترین مقدار خود رسیدند. بیشترین توکسین تولید شده از نوع *B<sub>1</sub>* در قارچ *A. flavus* و کمترین آن از نوع *G<sub>2</sub>* در قارچ *A. foetidus* بوده است. بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده محدوده زمانی ۲۴-۲۰ روز به عنوان محدوده زمانی مناسب جهت بررسی توانائی تولید افلاتوکسین در ۱۳ گونه دیگر آسپرژیلوس انتخاب گردید. در

بین این قارچها، گونه *A. parasiticus* بیشترین میزان افلاتوکسین را تولید نمود. افلاتوکسین  $G_1$  در گونههای *A. niger* تولید نشد. افلاتوکسین  $G_2$  در گونههای *A. niger*، *A. ostianus*، *A. niveus* و *A. sclerotiorum* تولید نشد. افلاتوکسین  $B_2$  در دو گونه *A. sclerotiorum* و *A. carneus* تولید نشده و افلاتوکسین  $B_1$  در گونه *A. ostianus* تولید نشد. به طور کلی در گونههای بررسی شده میزان تولید افلاتوکسین  $B_1$  بیشترین بوده است. بر اساس نتایج حاصل از شناسائی و جداسازی گونههای قارچ آسپرژیلوس از بذور گندم و ذرت، پنج گونه به اسامی *A. flavus*، *A. parasiticus*، *A. awamori*، *A. niger* و *A. fumigatus* شناسائی شدند. با توجه به نتایج به دست آمده از روش TLC، حضور افلاتوکسین در عصاره استخراج شده از بذور گندم و ذرتی که بیشترین میزان آلودگی به گونههای قارچی آسپرژیلوس را دارا بودند، تأیید نگردید. در واقع با استفاده از روش TLC حضور هیچ یک از چهار نوع افلاتوکسین در گونههای قارچ آسپرژیلوس جداسازی شده از بذور گندم و ذرت به اثبات نرسید.

## کلمات کلیدی:

آسپرژیلوس، افلاتوکسین، کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا



## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	مقدمه.....
۲	۱- کلیاتی درباره قارچ آسپرژیلوس.....
۳	۱-۱- اهمیت آسپرژیلوس.....
۴	۲- کلیاتی درباره متابولیتها و زهرا بههای قارچی.....
۷	۲-۱- نقش زهرا بههای میکروبی در بیماریهای گیاهی.....
۸	۳- کلیاتی درباره افلاتوکسین.....
۹	۳-۱- شرایط محیطی تولید افلاتوکسین.....
۱۱	۳-۲- نقش آسپرژیلوس و افلاتوکسین در عفونت‌های گیاهی.....
۱۳	۳-۳- اهمیت آلودگی قارچی در گندم و ذرت.....
۱۴	۳-۴- تاریخچه افلاتوکسین.....
۱۶	۳-۵- ویژگی کلی افلاتوکسین.....
۱۶	۳-۶- انواع افلاتوکسین.....
۲۱	۴- کلیاتی درباره مسمومیت‌های قارچی.....
۲۱	۴-۱- انواع افلاتوکسیکوز.....
۲۲	۴-۲- نحوه بیماریزائی افلاتوکسین.....
۲۴	۴-۳- پیشگیری و کنترل افلاتوکسیکوز.....
۲۵	۴-۴- LD <sub>50</sub> افلاتوکسین.....
۲۶	۵- روش‌های تخلیص و شناسایی زهرا بههای قارچی و باکتریائی.....
۲۶	۵-۱- روشهای زیستی.....
۲۶	۵-۲- روشهای ایمونولوژی.....

۲۶	..... ۵-۲-۱- روشهای انتشار در ژل
۲۷	..... ۵-۲-۲- سنجش به روش هماگلوتیناسیون
۲۷	..... ۵-۲-۳- کواگلوتیناسیون
۲۷	..... ۵-۲-۴- آگلوتیناسیون ذرات لاتکس فعال و معکوس
۲۸	..... ۵-۲-۵- ایمونوالکتروفورز
۲۸	..... ۵-۲-۶- الیزا
۲۹	..... ۵-۲-۷- الیفا
۲۹	..... ۵-۳- روشهای مبتنی بر کروماتوگرافی
۳۰	..... ۵-۴- روش رادیوایمنواسی
۳۰	..... ۵-۵- روشهای پروبهای اسیدنوکلیک و واکنشهای زنجیرهای پلیمراز
۳۱	..... <b>فصل اول: مروری بر منابع علمی</b>
۳۲	..... ۱-۱- گزارشاتی درباره قارچهای مولد افلاتوکسین و دامنه میزبانی آنها
۳۹	..... ۱-۲- گزارشاتی درباره روشها و محیطهای کشت جهت تشخیص قارچ اسپرزیلوس
۴۱	..... ۱-۳- گزارشاتی درباره بیماریهای ناشی از انواع افلاتوکسین
۴۴	..... ۱-۴- گزارشاتی درباره روشها و محیطهای کشت جهت سنجش مقادیر افلاتوکسین
۵۰	..... ۱-۵- گزارشاتی درباره شرایط مناسب جهت تولید افلاتوکسین
۵۵	..... <b>فصل دوم روش تحقیق</b>
۵۶	..... ۲-۱- وسائل و مواد مورد نیاز
۵۶	..... ۲-۱-۱- فرضیات پژوهش
۵۷	..... ۲-۱-۲- اهداف پژوهش
۵۸	..... ۲-۱-۳- مواد شیمیائی مصرفی
۶۰	..... ۲-۱-۴- دستگاهها

۶۱	.....HPLC دستگاه ۱-۴-۱-۲
۶۴	..... دستگاه حلال پرانی ۲-۴-۱-۲
۶۴	..... ژرminatور ۳-۴-۱-۲
۶۵	..... جمع آوری نمونه ۲-۲
۶۵	..... جداسازی قارچ ۳-۲
۶۷	..... تعیین گونه اسپرژیلوس ۴-۲
۶۸	..... خصوصیات مرفولوژی کاربردی در تعیین گونه اسپرژیلوس ۱-۴-۲
۶۸	..... خصوصیات ماکرو مورفولوژی ۱-۱-۴-۲
۶۹	..... خصوصیات میکرو مورفولوژی ۲-۱-۴-۲
۷۰	..... محیط کشت و دوره رشد ۲-۴-۲
۷۰	..... محیطهای کشت ۳-۴-۲
۷۱	..... ترکیبات تشکیل دهنده محیطهای کشت ۴-۴-۲
۷۳	..... کلید شناسایی مورد استفاده در تعیین گونههای قارچ اسپرژیلوس ۵-۴-۲
۸۱	..... شرایط و محیط کشت ۵-۲
۸۱	..... محیط کشت جهت تولید افلاتوکسین ۱-۵-۲
	..... ۶-۲ استخراج افلاتوکسین از محیط مایع سیب زمینی دکستروز براث حاوی گونههای اسپرژیلوس
۸۲	..... رشد یافته ۸۲
۸۳	..... استخراج افلاتوکسین از بذور گندم و ذرت با بیشینه آلودگی به گونههای اسپرژیلوس ۷-۲
۸۳	..... مشاهده اولیه تحت تابش لامپ UV، ۳۶۵ نانومتر ۱-۷-۲
۸۴	..... شرایط دستگاه HPLC و آنالیز نمونهها ۸-۲
۸۶	..... تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از آنالیز HPLC ۹-۲
۸۷	..... تجزیه و تحلیل آماری ۱۰-۲

۸۷	.....TLC	ارزیابی توانائی تولید افلاتوکسین با استفاده از روش
۸۹	.....	<b>فصل سوم اجرا و نتایج پروژه.</b>
۹۰	.....	۱-۳- شناسائی گونه‌های قارچ <i>Aspergillus</i> جداسازی شده از بذور گندم و ذرت.....
۹۱	.....	۱-۱-۳- تعیین جنس اسپرژیلوس.....
۹۲	.....	۲-۱-۳- تعیین گونه‌های اسپرژیلوس.....
۹۲	.....	۱-۲-۱-۳- خصوصیات گونه <i>A. flavus</i> .....
۹۵	.....	۲-۲-۱-۳- خصوصیات گونه <i>A. parasiticus</i> .....
۹۸	.....	۳-۲-۱-۳- خصوصیات گونه <i>A. awamori</i> .....
۱۰۱	.....	۴-۲-۱-۳- خصوصیات گونه <i>A. niger</i> .....
۱۰۴	.....	۵-۲-۱-۳- خصوصیات گونه <i>A. fumigates</i> .....
۱۰۷	.....UV	۲-۳- شناسائی مقدماتی وجود افلاتوکسین در نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از نور
		۱-۲-۳- وجود رنگدانه افلاتوکسین در دو گونه قارچ اسپرژیلوس <i>A. foetidus</i> و <i>A. flavus</i> طی دوره
۱۰۸	.....	۳۲ روزه با استفاده از لامپ UV، ۳۶۵ نانومتر.....
		۲-۲-۳- وجود رنگدانه افلاتوکسین در ۱۳ گونه قارچ اسپرژیلوس مورد بررسی با استفاده از لامپ
۱۰۸	.....	UV، ۳۶۵ نانومتر.....
		۳-۲-۳- وجود رنگدانه افلاتوکسین در ۵ گونه قارچ اسپرژیلوس شناسائی شده از روی بذور گندم و
۱۰۹	.....	ذرت مورد ارزیابی با استفاده از لامپ UV، ۳۶۵ نانومتر.....
		۴-۲-۳- وجود رنگدانه افلاتوکسین در بذور گندم و ذرتی که دارای بیشترین میزان آلودگی به
۱۱۰	.....	گونه‌های اسپرژیلوس بودند با استفاده از لامپ UV، ۳۶۵ نانومتر.....
		۵-۲-۳- وجود رنگدانه افلاتوکسین در محیط مایع سیب زمینی دکستروز برات بدون مایه‌زنی
۱۱۰	.....	با استفاده از لامپ UV، ۳۶۵ نانومتر.....
۱۱۲	.....HPLC	۳-۳- آنالیز پیک های ظاهر شده در روش

۱۳۱	..... ۴-۳ آنالیز آماری داده‌ها
۱۳۱	..... ۳-۴-۱- مقایسه میانگین
	..... ۳-۴-۲- مقایسه میانگین نتایج حاصل از بررسی تغییرات افلاتوکسین در دو گونه <i>A. flavus</i> و <i>A. foetidus</i> طی دوره رشدی ۳۲ روزه در محیط مایع سیب زمینی دکستروز براث با استفاده از روش HPLC
۱۳۱	..... ۳-۴-۳- مقایسه میانگین نتایج حاصل از ارزیابی تولید افلاتوکسین در ۱۳ گونه قارچ آسپرژیلوس مورد بررسی در روز ۲۲ بعد از مایه‌زنی در محیط مایع سیب زمینی دکستروز براث با استفاده از روش HPLC
۱۴۱	..... ۳-۵- آنالیز لکه‌های ظاهر شده در روش TLC
۱۴۸	..... ۳-۶- نتایج حاصل از ارزیابی تولید افلاتوکسین در گونه‌های شناسائی شده در بذور گندم و ذرت و بررسی آلودگی افلاتوکسین در بذور گندم و ذرتی که در آنها بیشترین میزان آلودگی به گونه‌های آسپرژیلوس مشاهده گردید، با استفاده از صفحات سیلیکاژل ( TLC )
۱۵۰	..... ۳-۶-۱- بررسی آلودگی قارچ آسپرژیلوس و افلاتوکسین در محصولات کشاورزی
۱۵۳	..... ۳-۶-۲- تعیین دما و رطوبت مناسب تولید افلاتوکسین
۱۵۴	..... ۳-۶-۳- اهمیت محیط کشت در رشد و تولید بیشتر افلاتوکسین
۱۵۸	..... ۳-۶-۴- بررسی مقادیر افلاتوکسین در گونه‌های مختلف قارچ آسپرژیلوس مورد آزمایش
۱۵۹	..... ۳-۶-۵- ارزیابی وجود افلاتوکسین در نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از نور UV
۱۶۱	..... نتیجه‌گیری
۱۶۶	..... پیشنهادات
۱۶۸	..... پیوست
۱۷۰	..... منابع
۱۷۱	.....
۱۷۳	.....

## فهرست اشکال

صفحه	عنوان
۲۰	شکل ۱- ساختمان مولکولی باز انواع سموم افلاتوکسین.....
۹۴	شکل ۳-۱- تصاویر میکروسکوپی از گونه قارچی <i>A. flavus</i> .....
۹۵	شکل ۳-۲- کلونی رشد یافته گونه قارچی <i>A. flavus</i> .....
۹۷	شکل ۳-۳- تصاویر میکروسکوپی از گونه قارچی <i>A. parasiticus</i> .....
۹۸	شکل ۳-۴- کلونی رشد یافته گونه قارچی <i>A. parasiticus</i> .....
۱۰۰	شکل ۳-۵- تصاویر میکروسکوپی از گونه قارچی <i>A. awamori</i> .....
۱۰۱	شکل ۳-۶- کلونی رشد یافته گونه قارچی <i>A. awamori</i> .....
۱۰۳	شکل ۳-۷- تصاویر میکروسکوپی از گونه قارچی <i>A. niger</i> .....
۱۰۴	شکل ۳-۸- کلونی رشد یافته گونه قارچی <i>A. niger</i> .....
۱۰۶	شکل ۳-۹- تصاویر میکروسکوپی از گونه قارچی <i>A. fumigates</i> .....
۱۰۷	شکل ۳-۱۰- کلونی رشد یافته گونه قارچی <i>A. fumigates</i> .....
سیب زمینی	شکل ۳-۱۱- تابش فلئورسانس زرد مایل به سبز از عصاره استخراج شده از محیط مایع سیب زمینی دکستروز برات حاوی گونه‌های قارچی <i>A. flavus</i> ، <i>A. fumigates</i> ، ۱۳ گونه قارچ اسپرژیلوس، پنج گونه قارچ اسپرژیلوس شناسائی شده از روی بذور گندم و ذرت و عصاره استخراج شده از بذور گندم و ذرتی با بیشترین میزان آلودگی به گونه‌های اسپرژیلوس.....
۱۱۱	شکل ۳-۱۲- عدم تابش فلئورسانس زرد مایل به سبز از عصاره استخراج شده از محیط مایع سیب زمینی دکستروز برات بدون مایه‌زنی (شاهد).....
۱۱۱	شکل ۳-۱۳- کروماتوگرام افلاتوکسینهای مختلف در نمونه استاندارد ppm ۵۰۰ و محیط مایع سیب زمینی دکستروز برات.....
۱۱۴	شکل ۳-۱۴- کروماتوگرام افلاتوکسینهای مختلف در گونه‌های قارچی <i>A.</i> و <i>A. flavus</i> .....

- ۱۱۵ .....*foetidus*
- شکل ۳-۱۵- کروماتوگرام افلاتوکسینهای مختلف در گونه‌های قارچی *A. awamori* و *A.*
- ۱۱۶ .....*auricomus*
- شکل ۳-۱۶- کروماتوگرام افلاتوکسینهای مختلف در گونه‌های قارچی *A. ostianus* و گونه *A.*
- ۱۱۷ .....*candidus*
- شکل ۳-۱۷- کروماتوگرام افلاتوکسینهای مختلف در گونه‌های قارچی *A. terreus* و *A.*
- ۱۱۸ .....*fumigatus*
- شکل ۳-۱۸- کروماتوگرام افلاتوکسینهای مختلف در گونه‌های قارچی *A. carneus* و *A.*
- ۱۱۹ .....*niveus*
- شکل ۳-۱۹- کروماتوگرام افلاتوکسینهای مختلف در گونه‌های قارچی *A. niger* و *A.*
- ۱۲۰ .....*caespitosus*
- شکل ۳-۲۰- کروماتوگرام افلاتوکسینهای مختلف در گونه‌های قارچی *A. ustus* و *A.*
- ۱۲۱ .....*sclerotiorum*
- شکل ۳-۲۱- کروماتوگرام افلاتوکسینهای مختلف در گونه قارچی *A. parasiticus*.....
- شکل ۳-۲۲- تغییرات میانگین مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین طی دوره رشدی ۳۲ روزه بعد از مایه‌زنی در گونه قارچی *A. flavus* برحسب میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع سیب زمینی دکستروز برآش.....
- ۱۳۵
- شکل ۳-۲۳- مقایسه تغییرات میانگین مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین طی دوره رشدی ۳۲ روزه بعد از مایه‌زنی در گونه قارچی *A. flavus* برحسب میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع سیب زمینی دکستروز برآش.....
- ۱۳۶

شکل ۳-۲۴- تغییرات میانگین مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین طی دوره رشدی ۳۲ روزه بعد از مایهزنی در گونه قارچی *A. foetidus* برحسب میلیگرم در ۵۰ میلیلیتر محیط مایع سیب زمینی دکستروز برات..... ۱۳۷

شکل ۳-۲۵- مقایسه میانگین تغییرات مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین طی دوره رشدی ۳۲ روزه بعد از مایهزنی در گونه قارچی *A. foetidus* برحسب میلیگرم در ۵۰ میلیلیتر محیط مایع سیب زمینی دکستروز برات..... ۱۳۸

شکل ۳-۲۶- تغییرات مجموع مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین طی دوره رشدی ۳۲ روزه بعد از مایهزنی در گونه‌های قارچی *A. foetidus* و *A. flavus* برحسب میلیگرم در ۵۰ میلیلیتر محیط مایع سیب زمینی دکستروز برات..... ۱۴۰

شکل ۳-۲۷- مقایسه میانگین مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین در گونه‌های قارچ آسپرژیلوس

( *A. candidus* و *A. ostianus*، *A. auricomus*، *A. awamori* ) برحسب میلیگرم در ۵۰ میلیلیتر محیط مایع سیب زمینی دکستروز برات..... ۱۴۵

شکل ۳-۲۸- مقایسه میانگین مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین در گونه‌های قارچ آسپرژیلوس

( *A. terreus*، *A. fumigatus*، *A. carneus* و *A. niveus* ) برحسب میلیگرم در ۵۰ میلیلیتر محیط

مایع سیب زمینی دکستروز برات..... ۱۴۶

شکل ۳-۲۹- مقایسه میانگین مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین در گونه‌های قارچ آسپرژیلوس

( *A. niger*، *A. caespitosus*، *A. ustus* و *A. sclerotiorum* ) برحسب میلیگرم در ۵۰

میلیلیتر محیط مایع سیب زمینی دکستروز برات..... ۱۴۷



شکل ۳-۳۰- مقایسه میانگین مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین در گونه‌های قارچ اسپرژیلوس

(*A. parasiticus*) بر حسب میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع سیب زمینی

دکستروز برات..... ۱۴۸

شکل ۳-۳۱- صفحات سیلیکاژل TLC نقطه گذاری شده: (استاندارد افلاتوکسین ۲۰۰۰ ppm و محیط

سیب زمینی دکستروز برات خالص)..... ۱۴۹

شکل ۳-۳۲- صفحات سیلیکاژل TLC نقطه گذاری شده: (گونه‌های قارچی *A. niger* *A. awamori*

*A. fumigates* و *A. parasiticus flavus*)..... ۱۵۱

شکل ۳-۳۳- صفحات سیلیکاژل TLC نقطه گذاری شده: (نمونه‌های استخراج شده از بذور گندم

و ذرت)..... ۱۵۲

## فهرست جداول

صفحه	عنوان
	جدول ۱-۲ - نام مواد شیمیائی و وسائل مصرف شده در بررسی تولید افلاتوکسین در گونه‌های قارچ
۵۸	آسپرژیلوس، درجه خلوص و شرکت تولید کننده آنها.....
	جدول ۲-۲ - نام مواد شیمیائی و وسائل مصرف شده در شناسائی گونه‌های قارچ آسپرژیلوس و شرکت
۵۹	تولید کننده آنها.....
۶۰	جدول ۲-۳ - نام دستگاه و وسائل به کار برده شده در مراحل مختلف و شرکتهای سازنده آنها.....
۱۱۲	جدول ۳-۱ - مقایسه زمان بازداری افلاتوکسین در نمونه استاندارد ppm ۵۰۰ و گونه <i>A. flavus</i> .....
	جدول ۳-۲ - میانگین تغییرات هر یک از چهار نوع افلاتوکسین تولید شده طی دوره رشدی ۳۲ روزه بعد از
	مایه‌زنی در هر یک از گونه‌های قارچی <i>A. foetidus</i> و <i>A. flavus</i> بر حسب میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر محیط
۱۳۴	مایع سیب زمینی دکستروز براث.....
	جدول ۳-۳ - مقایسه میانگین مجموع مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین طی دوره رشدی ۳۲ روزه
	بعد از مایه‌زنی در هر یک از گونه‌های قارچی <i>A. foetidus</i> و <i>A. flavus</i> بر حسب میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر
۱۳۹	محیط مایع سیب زمینی دکستروز براث.....
	جدول ۳-۴ - مقایسه میانگین مجموع مقادیر تولید شده چهار نوع افلاتوکسین در ۱۳ گونه قارچ آسپرژیلوس
۱۴۳	بر حسب میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع سیب زمینی دکستروز براث.....
	جدول ۳-۵ - مقایسه مقادیر چهار نوع افلاتوکسین تولید شده در ۱۳ گونه قارچ آسپرژیلوس بر حسب میلی-
۱۴۴	گرم در ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع سیب زمینی دکستروز براث.....

## فهرست پیوستها

صفحه	عنوان
پیوست ۱- جدول تغییرات مجموع مقادیر ۴ نوع افلاتوکسین تولید شده طی دوره رشدی ۳۲ روزه بعد از مایهزنی در هر یک از گونه‌های قارچی <i>A. flavus</i> و <i>A. foetidus</i> برحسب میلی‌گرم در ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع PDB (در بخش ۳- ۴- ۲).....	۱۷۱
پیوست ۲- تعریف واحد ppm (در بخش ۲- ۸).....	۱۷۲

## لیست علائم و اختصارات

FAO	(Food and Agriculture Organization of the United Nation)
Ngr/gr میلی-	نانوگرم بر گرم (Nanogram/ gram)
Mg مرکز	گرم (Miligram)
CDC	کنترل و پیشگیری از بیماری (Centers for Diseases Control and Prvention)
ppb	قسمت در بلیون (Part Per Bilion)
ppm	قسمت در میلیون (Part Per Milion)
Nm	نانومتر (Nanometer)
IARC	آژانس بینالمللی تحقیقات در زمینه سرطان (International Agency for Research on Cancer)
CYP	P-450 سیتوکروم
BHT	بوتیلید هیدروکسی تولوئن (Butylated Hydroxy Toluene)
LD <sub>50</sub>	(Lethal Dose)
FDA	سازمان غذا و داروی آمریکا (Food and Drug Administration)
(mg/kg) body weight	میلیگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجود زنده (Miligram / kilogram body weight)
µg/ml	میکروگرم بر میلیلیتر (Microgram/ mililitr)
ELISA	روش الیزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
ELIFA	روش الیفا (Enzyme-Linked Immunosofiltration Assay)
TLC	کروماتوگرافی لایه نازک (Thin Layer Chromatography)
GLC	کروماتوگرافی گاز مایع (Gas Liquid Chromatography)
HPLC	کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance Liquid Chromatography)