



دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکترای حرفه‌ای دامپزشکی

شماره ثبت: ۴۳۷

تعیین میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در اجزاء خوراک دام تعدادی از گاوداری های شیری

مشهد با استفاده از روش ELISA

به کوشش:

سعیده مظفری

استاد راهنما:

دکتر محمد محسن زاده

دکتر جلیل مهرزاد

مهرماه ۱۳۹۱



## تعهدنامه

اینجانب سعیده مظفری دوره دکتری حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، عنوان پایان‌نامه: تعیین میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در اجزاء خوراک دام تعدادی از گاوداری های شیری مشهد با استفاده از روش ELISA تحت راهنمایی آقای دکتر محمد محسن‌زاده، آقای دکتر جلیل مهرزاد متعهد می‌شوم:

- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
  - در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
  - مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
  - کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد و مقالات مستخرج با نام «دانشگاه فردوسی مشهد» و یا «Ferdowsi University of Mashhad» به چاپ خواهد رسید.
  - حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت شده است.
  - در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
  - در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.
- امضای دانشجو

### مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم‌افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

به نام خدا

## گواهی اعضای کمیته ی پایان نامه

تعیین میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در اجزاء خوراک دام تعدادی از گاوداری های شیری

مشهد با استفاده از روش ELISA

به کوشش:

سعیده مظفری

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه فردوسی مشهد به عنوان بخشی از فعالیت‌های  
تحصیلی لازم جهت اخذ درجه دکتری حرفه‌ای دامپزشکی

در رشته دامپزشکی

از دانشگاه فردوسی مشهد

جمهوری اسلامی ایران

### ارزیابی کمیته ی پایان نامه، با درجه : عالی و نمره: ۱۹,۷۵

استاد راهنما: دکتر محمد محسن زاده (دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه  
فردوسی مشهد)

استاد راهنما: دکتر جلیل مهرزاد (استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد)

داورپایان نامه: دکتر سمانه عیدی (استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد)

داورپایان نامه: دکتر عبدالله جمشیدی (دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه  
فردوسی مشهد)

مهر ماه ۱۳۹۱

تقدیم به مهربان فرشتگانی که سخات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن  
و تمام تجربه های یکتا و زیبای زندگیم، مدیون حضور سبز آنهاست

پدر بزرگوارم که از نگاهش صلابت، از رفتارش محبت و از صبرش ایستادگی را آموختم.  
مادر مهربانم، دریای بی کران فداکاری و عشق که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر

خواهر عزیزم دکتر وحیده مظفری که وجودش کرمانش و صفایش مایه آرامش من است.  
برادر عزیزم دکتر وحید مظفری و همسر عزیزش دکتر سارا موحد؛ به پاس محبت های بی دریغشان  
برادر عزیزم دکتر سعید مظفری که همواره در طول تحصیل تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات و متحمل زحمتم بود.

و برادرزاده نازنینم دریا که وجودش شادی بخش زندگی من است.

پاس خدای را که هر چه دارم از اوست

از اساتید محترم و فریخته جناب آقای دکتر محمد محسن زاده و جناب آقای دکتر جلیل مهرزاد اساتید راهنمای  
گرامیم که دلسوزانه و دبرانه این حقیر را در امر پایان نامه راهنمایی کردند، کمال تشکر را دارم.

از اساتید محترم جناب آقای دکتر عبدالله جمشیدی و سرکار خانم دکتر سمانه عیدی که زحمت داوری این پایان  
نامه را متقبل شدند سپاسگزارم.

قدردان زحمات تمام اساتید بزرگوارم طی دوران تحصیل در دانشکده دامپزشکی، هستم.

پنجمین از جناب آقای دکتر محمد عزیز زاده که زحمت بخش آمار این پایان نامه را متقبل شدند تشکر می‌کنم.

از تمامی همکلاسی‌های عزیزم در ورودی ۸۵ که سال‌هایی پر از خاطرات شیرین را در کنارشان سپری کردم، کمال  
تشکر و پاس را دارم و برایشان بهترین‌ها را آرزو می‌کنم.

## چکیده

تعیین میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در اجزاء خوراک دام تعدادی از گاو‌داری های شیری

مشهد با استفاده از روش ELISA

به کوشش:

سعیده مظفری

آفلاتوکسین ها سموم طبیعی هستند که انواع گوناگونی از غذای انسان و خوراک دام را آلوده می کنند و منجر به تهدید سلامت انسان و دام می شوند. هدف از این مطالعه تعیین سطح آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در اجزا خوراک دام (شامل کنسانتره، سیلوی ذرت و خوراک آماده) جمع آوری شده از مزارع پرورش گاو شیری مشهد بود. سطوح آفلاتوکسین B<sub>1</sub> با روش الایزا که روشی سریع و حساس می باشد، سنجیده شد. در تمامی ۷۲ نمونه، حضور آفلاتوکسین B<sub>1</sub> با دامنه غلظت ۴ تا ۱۲۷ میکروگرم در کیلوگرم و میانگین غلظت ۲۸ میکروگرم در کیلوگرم تشخیص داده شد. سطح آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در ۷۱ نمونه بیش از حداکثر مجاز تایید شده در ایران (۵ میکروگرم در کیلوگرم) برای نمونه های خوراک گاو شیری مشاهده شد. خوراک آماده بالاترین سطح آلودگی را با دامنه غلظت ۶-۱۱۹ میکروگرم در کیلوگرم (میانگین غلظت ۳۸±۶,۳ میکروگرم در کیلوگرم) نشان داد، بدنبال آن کنسانتره با دامنه غلظت ۴-۱۲۷ میکروگرم در کیلوگرم (میانگین غلظت ۳۲±۶,۵ میکروگرم در کیلوگرم) و سیلوی ذرت با دامنه غلظت ۴۰,۵-۸,۵ میکروگرم در کیلوگرم (میانگین غلظت ۱۶ ±۱,۵ میکروگرم در کیلوگرم). بیشترین آلودگی در زمستان (میانگین غلظت ۴۲±۹,۳ میکروگرم در کیلوگرم) رخ داد، بدنبال آن پاییز (میانگین غلظت ۲۷±۲,۸ میکروگرم در کیلوگرم)، بهار (میانگین غلظت ۲۶ ±۴,۱ میکروگرم در کیلوگرم) و در آخر تابستان (میانگین غلظت ۱۸,۵ ±۲,۸ میکروگرم در کیلوگرم). نتایج نشان داد اختلاف آماری قابل توجهی بین میزان آفلاتوکسین نمونه های سیلوی ذرت و خوراک آماده وجود داشت (p<۰,۰۵). طبق نتایج بدست آمده از این مطالعه، از آن جایی که این مایکوتوکسین سلامت حیوانات را متاثر می سازد و شیر آلوده می تواند خطری جدی برای بهداشت عمومی باشد، نظارت دائمی برای آفلاتوکسین B<sub>1</sub> توسط صنعت خوراک، همچنین آگاهی دادن بخش پرورش دهندگان بسیار توصیه می شود و مفید است.

کلمات کلیدی:

آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، اجزا خوراک دام، گاو شیری، الایزا

## فهرست مطالب

مقدمه ..... ۱

### فصل اول: مروری بر تحقیقات انجام شده

۱-۱- قارچ ها..... ۴

۱-۱-۱- رشد و تغذیه قارچ ها..... ۵

۱-۲-۱- طبقه بندی قارچ ها..... ۶

۱-۲-۱-۱- قارچ اسپرژیلوس..... ۸

۲-۱- مایکوتوکسین ها ..... ۹

۱-۲-۱- آفلاتوکسین ها ..... ۱۱

۲-۲-۱- خصوصیات فیزیکی برخی از آفلاتوکسین ها..... ۱۲

۳-۲-۱- وقوع طبیعی و ساختار شیمیایی آفلاتوکسین ها..... ۱۳

۴-۲-۱- عوامل موثر در تولید آفلاتوکسین ها..... ۱۴

۵-۲-۱- رخداد آفلاتوکسین ها در غذای انسان و دام..... ۱۶

۶-۲-۱- بیوسنتز..... ۱۶

۷-۲-۱- متابولیسم..... ۱۸

۸-۲-۱- جذب و توزیع..... ۲۰

۹-۲-۱- حذف..... ۲۱

۱۰-۲-۱- باقیمانده..... ۲۱

۱۱-۲-۱- آفلاتوکسیکوزیس در انسان ..... ۲۲



- ۲۲-۱-۱۱-۱- شرایط در معرض برخورد.....
- ۲۲-۱-۱۱-۲- مسمومیت حاد.....
- ۲۳-۱-۱۱-۳- مسمومیت مزمن.....
- ۲۴-۱-۱۲-۱- آفلاتوکسیکوزیس در حیوانات.....
- ۲۴-۱-۱۲-۱- سمیت آفلاتوکسین ها و حساسیت حیوانات.....
- ۲۵-۱-۱۲-۲- نشخوارکنندگان.....
- ۲۵-۱-۱۲-۳- گوساله.....
- ۲۶-۱-۱۲-۴- گاو شیری و گوشتی.....
- ۲۷-۱-۱۳-۱- مقررات آفلاتوکسین رایج.....
- ۲۸-۱-۱۴-۱- کنترل و پیشگیری.....
- ۲۸-۱-۱۵-۱- روش های حذف و غیر فعال کردن آفلاتوکسین ها.....
- ۳۳-۱-۱۶-۱- روش های تشخیص مایکوتوکسین ها.....
- ۳۷-۱-۱۷-۱- اقدامات ایمنی و سلامتی هنگام کار با آفلاتوکسین ها.....
- ۳۷-۱-۳- تحقیقات گذشته.....

## فصل دوم: مواد و روش ها

- ۴۳-۱-۲- مواد مورد نیاز ارائه شده توسط کیت.....
- ۴۳-۲-۲- تجهیزات و مواد مورد نیاز.....
- ۴۵-۳-۲- روش کار.....
- ۴۵-۳-۲-۱- جمع آوری نمونه.....

- ۴۵.....آماده سازی نمونه.....۲-۳-۲
- ۴۶.....روش انجام آزمایش.....۳-۳-۲
- ۴۷.....محاسبه نتایج.....۴-۲
- ۴۷.....رسم منحنی کالیبراسیون.....۱-۴-۲
- ۴۷.....تجزیه و تحلیل آماری.....۵-۲

### فصل سوم: نتایج

- ۴۹.....نتایج.....۱-۳
- ۵۰.....تجزیه و تحلیل آماری.....۲-۳

### فصل چهارم: بحث، نتیجه گیری و پیشنهادها

- ۵۸.....بحث.....۱-۴
- ۶۳.....نتیجه گیری و پیشنهادها.....۲-۴
- ۶۶.....منابع و مأخذ.....

## فهرست جدول ها

صفحه

عنوان و شماره

---

- جدول ۱-۳- دامنه و میانگین و انحراف معیار میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در تمامی نمونه ها طی ۴ فصل..... ۵۱
- جدول ۲-۳- میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در گاوداری A ..... ۵۴
- جدول ۳-۳- میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در گاوداری B ..... ۵۴
- جدول ۴-۳- میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در گاوداری C ..... ۵۴
- جدول ۵-۳- میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در گاوداری D ..... ۵۵
- جدول ۶-۳- میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در گاوداری E ..... ۵۵
- جدول ۷-۳- میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در گاوداری F ..... ۵۵

## فهرست نمودارها

صفحه

عنوان و شماره

- 
- نمودار ۳-۱- مقایسه میانگین غلظت AFB1 در ۳ نوع خوراک طی ۴ فصل..... ۵۲
- نمودار ۳-۲- مقایسه میانگین غلظت AFB1 در نیمه اول و نیمه دوم سال در ۳ نوع خوراک..... ۵۲
- نمودار ۳-۳- مقایسه میانگین غلظت AFB1 در ۴ فصل..... ۵۳
- نمودار ۳-۴- مقایسه میانگین غلظت AFB1 در ۳ نوع خوراک..... ۵۳
- نمودار ۳-۵- منحنی استاندارد کیت AFB1..... ۵۶

## فهرست تصاویر

صفحه	عنوان و شماره
۱۳	تصویر ۱-۱-: فرمول ساختمانی برخی از آفلاتوکسین ها
۳۶	تصویر ۱-۲-: الیزای رقابتی مستقیم (A) و غیر مستقیم (B)

﴿مقدم﴾

مایکوتوکسین ها به عنوان یکی از بارزترین آلوده کننده های مواد غذایی که بهداشت عمومی، امنیت غذایی و اقتصاد ملی بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه را تحت تاثیر قرار می دهند مورد بررسی قرار می گیرند (۱). از میان مایکوتوکسین ها، آفلاتوکسین ها به واسطه گستردگی فراوان در طیف وسیعی از غذاها و خاصیت بالقوه سرطان زائی در انسان، بیشترین توجه را به سوی خود جلب نموده اند (۲). آفلاتوکسین ها متابولیت های ثانویه شدیداً سمی، سرطان زا، تراژوژن، جهش زا، تضعیف کننده سیستم ایمنی و هیپاتوتوکسیک در انسان و حیوانات بوده که عمدتاً توسط قارچ های آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس نومیوس به دنبال رشد روی اقلام غذایی تولید می شوند (۱،۳).

این سموم در مواد خوراکی قبل از برداشت، در انبار و یا بعد از فرایند در کارخانجات در شرایط مطلوب درجه حرارت و رطوبت تولید می شوند (۴).

آفلاتوکسین های  $G_2, G_1, B_2, B_1$  توسط آژانس بین المللی تحقیق روی سرطان<sup>۱</sup> (IARC) در گروه I عوامل سرطان زا طبقه بندی شده اند که در این میان آفلاتوکسین  $B_1$  بیشترین سمیت و سرطان زائی را داراست (۱). دام هایی که از خوراک آلوده به آفلاتوکسین  $B_1$  تغذیه می کنند مشتق هیدروکسی آن یعنی آفلاتوکسین  $M_1$  را در شیر دفع می کنند. آفلاتوکسین  $B_1$  می تواند به پروتئین ها مثل کازئین متصل شود، بنابراین می تواند در محصولات لبنی وجود داشته باشد (۳).

در مورد حداکثر مقدار مجاز آفلاتوکسین  $B_1$  و  $M_1$  در کشورهای مختلف قوانین متنوعی وجود دارد اما به طور معمول حداکثر مقدار مجاز آفلاتوکسین  $B_1$  را در خوراک دام ۱۰-۲۰ میکروگرم در کیلوگرم و حداکثر مقدار مجاز آفلاتوکسین  $M_1$  را در شیر ۰،۵ میکروگرم در کیلوگرم نظر می گیرند (۵).

روش های مختلفی جهت اندازه گیری مقدار آفلاتوکسین ها در خوراک دام و مواد غذایی وجود دارد از جمله  $HPLC^2$ ،  $TLC^3$  و  $ELISA^4$ . در این میان الایزا با توجه به امکانات موجود، دقیق، سریع و حساس بودن آن جهت اندازه گیری میزان آفلاتوکسین در خوراک دام کاربرد بیشتری می یابد (۲).

<sup>1</sup> International Agency for Research on Cancer (IARC)

<sup>2</sup> High Performance Liquid Chromatography

<sup>3</sup> Thin Layer Chromatography

<sup>4</sup> Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay

کنترل و ارزیابی آفلاتوکسین ها در خوراک دام و مواد غذایی و مقایسه آن ها با حدود مجاز و استانداردها به منظور ارائه راه کارها و اقدامات جهت حذف یا کاهش این سموم در خوراک و مواد غذایی و تأمین امنیت غذایی، بهداشت و سلامت عمومی و اقتصاد ملی امری ضروری به نظر می رسد. بنابراین این تحقیق با هدف بررسی حضور و تعیین میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه های خوراک دام تعدادی از گاو‌داری های شیری شهر مشهد با روش الیزا انجام گرفت.



# فصل اول

مروری بر تحقیقات انجام شده

## مروری بر تحقیقات انجام شده

### ۱-۱- قارچ‌ها

قارچ‌ها ارگانیسم های یوکاریوت (هسته دار) هستند. اختلاف اساسی قارچ ها با گیاهان سبز در این است که قارچ ها فاقد کلروفیل بوده، بنابراین نمی توانند بوسیله عمل فتوسنتز مواد آلی مورد نیاز خود را از دی اکسید کربن و آب بسازند و هتروتروف بوده و باید تمام مواد مورد نیاز را از محیط اطراف بدست آورند و مواد مورد نیاز خود را عمدتاً از طریق جذب بدست می آورند.

ساختار رویشی قارچ های کپکی معمولاً رشته ای منشعب، به نام ریشه است که با دیواره های سلولی احاطه می شود. دیواره سلولی قارچ ها واجد پلی ساکارید است که از میان آن ها انواعی مثل گلیکان - کیتین است که کیتین به میزان فراوان در دیواره سلولی آن ها به کار رفته است. علاوه برآن میزان فراوانی گلیکوپروتئین هم ممکن است مشاهده شود. انواع پلی ساکاریدها در دیواره قارچ وجود دارد و مقادیر آن ها در گونه های قارچی یکسان شبیه هم هستند و به همین خاطر از ساختار پلی ساکاریدی در طبقه بندی استفاده می شود. در زیر غشای سلولی، پروتوپلاسم است که همانند سایر یوکاریوت هاست و داخل آن اندامک های مختلف سلولی مثل میتوکندری مشاهده می شود.

دستگاه گلژی در اکثر قارچ های حقیقی از نظر ساختار شناسی بسیار ساده است. هسته های بیشتر قارچ ها کاملاً کوچکند و ساختارهای فوق العاده، انعطاف پذیرند. هسته قارچ‌ها معمولاً حاوی یک هستک بزرگ است که اغلب در مرکز جای می گیرد.

غشاء هسته معمولاً دو لایه است و منافذ مشخصی دارد. سیتوپلاسم در قارچ‌ها همانند سایر یوکاریوت هاست و در اطراف آن یک غشاء پلاسمایی قرار دارد. در این غشاء ماده ای وجود دارد که نسبت به سایر سلول ها در قارچ‌ها فراوان تر است و به آن ارگوسترول می گویند. بعضی از داروهای ضد قارچی از طریق مهار در سنتز این ماده از رشد قارچ‌ها جلوگیری می کنند.

گلیکوژن و چربی از ماده ذخیره‌ای قارچ‌ها به حساب می‌آیند، اما نشاسته در سلول‌های قارچی یافت نمی‌شود. قارچ‌های رشته‌ای (کپکی) از رشته‌های میسلیم تشکیل شده‌اند که سرانجام روی ساختمان‌های خاص به نام اسپوروفور تولید اسپور می‌نمایند. یک شاخه یا انشعاب میسلیم را هیف یا ریشه می‌گویند که با دیواره سختی محدود می‌باشد. هیف بسته به نوع قارچ رشته‌ای ممکن است دیواره عرضی داشته یا نداشته باشد. به دیواره عرضی سپتا گویند که اگر باشد به راحتی دیده می‌شود و هیفا را به سلول‌های مجزا و مشخص تبدیل می‌کند. بعد از دوره رویشی، قارچ‌های رشته‌ای روی انشعابات خاصی از رشته‌های میسلیم، هاگ تولید می‌کنند. تولید مثل قارچ‌ها بوسیله اسپورها انجام میشود و معمولاً زمانی که شرایط محیطی رشد قارچ‌ها مناسب باشد از طریق غیر جنسی و اگر شرایط نامناسب باشد از طریق تولید مثل جنسی زیاد می‌شوند (۶).

### ۱-۱-۱- رشد و تغذیه قارچ‌ها

یک محیط کشت کامل برای رشد و تغذیه قارچ‌ها، بایستی دارای ماده آلی مناسب به عنوان منبع کربن، منبع ازت، یون‌های معدنی در حد لازم، سایر یون‌های معدنی در حد بسیار جزئی و ماده آلی خالص به عنوان یک عامل رشد با غلظت بسیار کم باشد.

گلوکز منبع کربن بوده که تقریباً کلیه قارچ‌ها می‌توانند جذب و استفاده نمایند. دوقند ساکاروز و مالتوز را نیز به راحتی می‌توانند جذب کنند. بیشتر قارچ‌ها می‌توانند از نشاسته و سلولز به خوبی استفاده نمایند. همه قارچ‌ها می‌توانند به سادگی از ترکیبات آلی از ته استفاده نمایند. اغلب این ترکیبات می‌توانند به صورت پپتون اسید آمینه (به عنوان مثال گلوتامیک اسید) و یا آمید (مثل آسپاراژین) باشند. تعداد معدودی از قارچ‌ها می‌توانند علاوه بر اینکه از منابع آلی، ازت مورد نیاز خود را بدست می‌آورند از ترکیبات معدنی مانند نمک‌های آمونیوم و یا نیترات‌ها نیز استفاده نمایند. قارچ‌ها از ترکیبات آلی نظیر پپتون و یا آسپاراژین هم به عنوان منبع کربن و هم ازت استفاده می‌کنند و مواد مورد نیاز خود را بدست می‌آورند. از مواد معدنی مورد نیاز در محیط کشت میتوان پتاسیم، ترکیبات فسفردار (مانند فسفات)، منیزیم و سولفورها (مانند سولفات) را نام برد. گرچه

کلسیم یکی از عناصر اصلی تغذیه برای گیاهان سبز است اما برای قارچ‌ها ضروری نبوده و تعداد کمی از قارچ‌ها از آن استفاده می نمایند.

از ترکیبات معدنی که در حد بسیار جزئی و حتی به نسبت چند قسمت در میلیون در محیط کشت ضروری اند، می توان عناصر آهن، روی، منگنز و مولیبدن را نام برد. این مواد بیشتر در ساختمان آنزیم‌های ضروری شرکت دارند، بعضی از این عناصر به مقدار بسیار جزئی مورد نیاز هستند. از عوامل دیگر جهت رشد قارچ‌ها ترکیبات آلی است که اساسی‌ترین آن ها، ویتامین‌ها، آن هم بسیار کم است. دو ویتامین که بیشتر قارچ‌ها به آن نیاز دارند ویتامین ب<sub>۱</sub> (تیامین) و بیوتین است. گذشته از منبع غذایی مناسب و قابل دسترس عوامل دیگری که رشد قارچ را تحت تأثیر قرار می دهند عبارتند از: رطوبت، دما، pH و اکسیژن. بیشتر قارچ‌ها دارای زندگی هوازی بوده و در اثر فقدان اکسیژن رشدشان متوقف می شود. قارچ‌ها و میسلیموم آنها مانند سایر ارگانیسم ها برای رشد خود نیاز صد در صد به آب داشته و برخی در محیط‌های مایع و در حالت ژله مانند و یا در هوایی که از آب اشباع شده باشد می توانند رشد نمایند.

درجه حرارت در تشکیل دستگاه تولید مثل (تولید اسپور) از عمده ترین عامل‌هاست اما ممکن است درجه حرارت لازم برای تشکیل دستگاه تولید مثل با حرارت لازم برای رشد میسلیموم متفاوت باشد. بهترین دما برای بیشتر گونه‌ها بین ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد است با حداقل و حداکثر محدوده‌ی ۱۰ تا ۴۰ درجه سانتیگراد.

pH بهینه که برای رشد انواع مختلف قارچ‌ها مناسب باشد بسیار متفاوت است. عموماً بهترین سطح pH برای رشد، ۴ الی ۷ به نظر می رسد. در حالی که نور برای رشد و رویش قارچ‌ها نیاز نیست اما ممکن است در برخی قارچ‌ها رشد را به وفور افزایش دهد و برای تحریک اندام های تولید مثلی جنسی و غیر جنسی نیاز باشد (۷،۶).

## ۱-۲-۱- طبقه بندی قارچ‌ها

سلسله قارچ‌ها شامل چهار شاخه :