

تعیین میزان آفلاتوکسین B1 در خوراک جوچه گوشتی در مرغداری‌های استان اصفهان



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره پنجم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۳

صفحات ۱۲۳-۱۱۷

اردشیر سالمی^{۱*}، ابراهیم رحیمی^۲، مصطفی فغانی^۳، نسیم سالمی^۴

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد،

ایران.

۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۴- واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران.

*نویسنده مسئول: arsalemi@yahoo.com

چکیده

سموم قارچی موجود در خوراک دام به تولیدات دامی مورد مصرف انسان انتقال یافته و باعث عوارضی چون سرطان در انسان می‌شوند. به منظور جلوگیری از انتقال این سموم به انسان باید خوراکی‌های آلوده را از جیره دام حذف نمود. در این تحقیق به جهت پی بردن به میزان آلودگی خوراک طیور گوشتی به سم آفلاتوکسین تعداد ۱۷۷ نمونه خوراک به روش خوشه‌ای و در هر خوشه بطور تصادفی در فصول مختلف جمع‌آوری و مورد آزمایش الیزا قرار داده شد. نتایج آزمایش نشان داد که ۹۸/۹٪ نمونه‌ها آلوده می‌باشند و محدوده آلودگی در نمونه‌های مثبت بین ۰/۶۴ تا ۸۸/۵ $\mu\text{g}/\text{kg}$ و میانگین آنها ۹/۹۱ $\mu\text{g}/\text{kg}$ بود. بیشترین میزان آلودگی در سطح بالاتر از ۱۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$ (حد مجاز آفلاتوکسین در جیره مرغ گوشتی) به دان مخلوط (۴۶/۲ $\mu\text{g}/\text{kg}$) و سویا (۳۳/۴ $\mu\text{g}/\text{kg}$) تعلق دارد و ۲۸/۸۱ درصد از مجموع نمونه‌ها آلودگی بیشتر از حد استاندارد دارند. نمونه‌های تهیه شده در فصل تابستان به دلیل دمای بالای محیط و مساعد بودن هوا جهت رشد قارچها از آلودگی بیشتری برخوردار بودند و نسبت به نمونه‌های سایر فصول اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$). ضمناً بین میانگین آلودگی نمونه‌های جمع‌آوری شده (ذرت گندم سویا جو دان مخلوط و پودر ماهی) اختلاف معنی‌داری ملاحظه نگردید ($P > 0.05$).

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین B1، خوراک طیور، سموم قارچی، آفلاتوکسیبوز



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 5(1)53-59, 2014

Determination of aflatoxin B1 in broiler feed in the poultry farms of isfahan province

Salemi, A.^{1*}, Rahimi, E.², Faghani, M.³ Salemi, N.⁴

1- Pathobiology Department, Epidemiology section, School of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2- Food Hygiene Departement, School of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

3- Animal Sciences Department, School of Agriculture, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

4- Yazd Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran.

** Corresponding author: arsalemi@yahoo.com*

Abstract

Mycotoxins in animal feed transfer to animal products and thus cause some problem like cancer in human. Contaminated feed must be omitted for prevention of toxin transfer. This study was designed for determination of aflatoxin B1 levels in poultry diet. A total of 177 samples were collected randomly from broiler feeds from different farms and tested by ELISA. Results showed %98.9 contamination of total sample. Levels of aflatoxin B1 in positive samples ranged from 0.64 to 88.5 μ g/kg and the average contamination level of samples was estimated at 9.91 μ g/kg. In the levels higher than 10 μ g/kg (permitted for broiler diet) the highest rate belonged to complete feed (46.2%) and soybean meal (33.4%). The results indicated that samples take in summer had more contamination. The difference between this season with others was significant ($p < 0.05$). High temperature in summer causes more fungi reproduction and hence more toxin production. The difference between corn, wheat, soybean, barley and complete diet samples was not significant ($p > 0.05$).

Key words: POULTRY FEED, AFLATOXIN B1, MYCOTOXIN, AFLATOXICOSIS

مقدمه

بدون شک یکی از راههای اصلی انتقال بیماری به انسان از طریق گوارش و مصرف مواد غذایی آلوده می‌باشد. قارچ‌ها که جزء فراوانترین و مقاومترین میکروبها می‌باشند به راحتی و در شرایط و مکانهای متفاوتی رشد نموده و به هنگام رشد خود سمومی تولید می‌کنند که متاسفانه به حرارت بسیار مقاوم هستند بنابراین با جوشاندن مواد غذایی نمیتوان آنها را از بین برد. آفلاتوکسین B₁ یکی از خطرناکترین این سموم است که توسط اسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می‌شود. چنانچه این سم در خوراک حیوان وجود داشته باشد وارد شیر، گوشت و تخم مرغ شده و در مصرف کننده عوارض متعددی از جمله مهار سیستم ایمنی، نکروز سلولی، جهش زایی، ناقص الخلقه زایی و سرطانزایی بوجود می‌آورد. بنابراین اساسی ترین اقدام در جلوگیری از عوارض این سموم در انسان و حیوان جلوگیری از رشد قارچهای مولد آنها در خوراک، اصلاح روشهای برداشت، حمل، ذخیره سازی و نیز استفاده از مواد جاذب سموم در جیره حیوانات و یا حذف خوراک آلوده حیوانات می‌باشد (سالمی، ۱۳۸۰). حد مجاز آلودگی به آفلاتوکسین B₁ در جیره طیور اجداد ولاین ۵ μg/kg و در جیره طیور مادر، تخمگذار و گوشتی ۱۰ μg/kg تعیین شده است (۱، سید اسحاق). لذا در نقاطی که آلودگی جیره طیور بیش از این باشد اقدام لازم در خصوص پیشگیری و حذف آلودگی ضروری است. با توجه به اینکه هدف برنامه توسعه در کشور داشتن جمعیتی سالم و بدور از بیماری میباشد لذا هر اقدامی در جهت نیل به این هدف خدمت به مردم و کمک به توسعه کشور میباشد. وجود آفلاتوکسین در خوراک طیور منجر به آلودگی لاشه پرنده و بالطبع مصرف کننده خواهد شد. اثبات وجود آلودگی در خوراک طیور زنگ خطری برای مقامات بهداشتی محسوب میشود تا در جهت اصلاح روشهای حمل و نگهداری خوراک حیوانات، قوانین و دستورالعملهای لازم را تدوین نمایند. و بر این اساس از بروز بیماریهای مربوطه و سرطان جلوگیری بعمل آورد.

مواد و روش‌ها:

جمع آوری نمونه‌ها

این پژوهش یک مطالعه میدانی از نوع توصیفی-تحلیلی بوده و جامعه آماری آن خوراک طیور توزیع شده در مرغداری‌های گوشتی اصفهان بود. به این منظور تعداد ۱۷۷ نمونه شامل خوراک مخلوط شده طیور، گندم، ذرت، کنجاله پنبه، جو، پودر ماهی و سویا، به روش خوشه‌ای و در هر خوشه بصورت تصادفی ساده از سطح مرغداری‌های استان اصفهان جمع آوری و بمنظور توقف فعالیت میکروارگانیسمها در کنار یخ به آزمایشگاه حمل و در آزمایشگاه نیز تا زمان انجام آزمایش در فریزر نگه داری شد.

آماده سازی نمونه‌ها

مقدار ۵۰ گرم از هر نمونه خوراک آسیاب شد تا یک ترکیب یکنواخت ایجاد شود. سپس ۱۰ گرم از آن را بر داشته و با ۵۰ میلی لیتر متانول ۳۳٪ مخلوط نمودیم. ۲ دقیقه با حرکت دورانی تکان داده بعد از ۱۵ دقیقه آن را با استفاده از کاغذ صافی صاف کرده. سپس به نسبت ۱ به ۱۰ با متانول رقیق شد.

سنجش میزان آفلاتوکسین B₁

میزان آفلاتوکسین B₁ در نمونه‌ها به روش الیزا با استفاده از کیت شرکت Euro Clone مطابق دستورالعمل مربوطه انجام شد. ابتدا ۲۰۰ میکرو لیتر آب مقطر به گوده شاهد، ۵۰ میکرو لیتر از محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها به گوده‌های مربوطه اضافه شد. سپس ۵۰ میکرو لیتر آنزیم کونژوگه و ۱۰۰ میکرو لیتر آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B₁ به همه گوده‌ها به غیر از شاهد اضافه شد. بعد از اینکه پلیت کاملاً تکان داده شد به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اطاق و به دور از نور نگه داری شد. سپس محتویات گوده‌ها خالی و بطور وارونه بر روی کاغذ خشک کن آب گیری شد. در هر گوده ۳۰۰ میکرو لیتر بافر شستشو ریخته و خالی کرده این عمل ۴ بار تا شستشوی کامل گوده‌ها انجام گردید. به همه گوده‌ها

در ذرت به ترتیب ۵/۰۶ و ۱۳/۰۵ $\mu\text{g}/\text{kg}$ بود.

بحث و نتیجه گیری

بطوری که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود میانگین آلودگی در ذرت علیرغم اینکه از نظر آماری بی معنی می‌باشد از سایر مواد بالاتر نشان داده شده است. ولی اگر به جدول شماره ۳ دقت شود بیشترین میزان آلودگی در سطح بالاتر از $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ یعنی حد مجاز آفاتوکسین در جیره مرغ گوشتی به دان مخلوط ($46/2 \mu\text{g}/\text{kg}$) و سویا ($33/4 \mu\text{g}/\text{kg}$) تعلق دارد. به عبارت دیگر در این پژوهش دان مخلوط و سویا از سایر نمونه‌ها خطر بیشتری داشتند. مطالعاتی در خصوص میزان آلودگی خوراک حیوانات در سرتاسر جهان شده است که نتایج بسیار متفاوتی را نشان می‌دهد. در سال ۱۳۵۴ بر روی ۱۴۷ نمونه پنبه دانه و ۱۴۳ نمونه کنجاله پنبه که از سرتاسر ایران جمع آوری شده بود میزان آلودگی به آفاتوکسین در ۶ نمونه پنبه دانه و ۷۵ نمونه کنجاله پنبه میانگینی در حدود ۴۶ میکروگرم در کیلو گرم داشته است (رضوی دهکردی، م). در مطالعه حاضر این میانگین ۹/۹۲ بود. مطالعه دیگری در گاوداریهای صنعتی اطراف شیراز نشان داده است که بالاترین میزان آلودگی به آفاتوکسین B_1 مربوط به کنجاله پنبه، ذرت و تفاله چغندر بوده است (عباسی فر، آ. و همکاران، ۱۳۸۴). مطالعه دیگری بر روی کنجاله پنبه نشان داده است که ۴۰٪ نمونه‌ها به آفاتوکسین B_1 با میانگین $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ آلوده بوده اند (کازمی، ع. ر. و همکاران، ۱۳۷۸). در سال ۱۳۷۳ طی مطالعه‌ای در اصفهان مشخص گردید که نمونه‌های تهیه شده ذرت بین صفر تا $9/9 \mu\text{g}/\text{kg}$ آلوده بوده اند (۲ اردکانی، م. و همکاران، ۱۳۷۴). در مطالعه‌ای که توسط رحیمی و همکاران در سال ۱۳۸۸ صورت گرفت ۶۷٪ از نمونه‌های خوراک بین ۰/۸ تا $155 \mu\text{g}/\text{kg}$ به آفاتوکسین B_1 آلوده بوده اند و در ۱۷/۶٪ از نمونه‌ها آفاتوکسین B_1 بیشتر از حد مجاز بوده است. بیشترین میزان آفاتوکسین B_1 نیز در کنجاله پنبه دیده شده است (رحیمی، ابراهیم، و همکاران، ۱۳۸۷). در مطالعه حاضر ۲۸/۸۱ درصد از نمونه‌ها آلودگی بالاتر

۲۰۰ میکرو لیتر محلول کروموژن اضافه شد. بعد از ۲۰ دقیقه نگه داری در دمای اطاق ۵۰ میکرو لیتر محلول توقف دهنده (اسید سولفوریک) به گوده‌ها اضافه نموده و با تکان دادن پلیت آن‌ها را مخلوط می‌کنیم. با استفاده از دستگاه قرائت کننده الایزا (stat fax 2100, usa) در طول موج ۴۵۰ نانومتر میزان جذب (OD) حفره‌ها به تفکیک ثبت شد. میزان جذب نمونه‌ها و استانداردها را بر میزان جذب استاندارد صفر تقسیم و در ۱۰۰ ضرب کرده درصد جذب نمونه‌ها بدست آمد. لگاریتم غلظت آفاتوکسین استانداردها را در محور طولها و میزان جذب (O.D.) آن‌ها را در محور عرض‌ها وارد کرده تلاقی آن‌ها نقاطی را ایجاد که از اتصال آن‌ها منحنی استاندارد بدست آمد. سپس درصد جذب هر نمونه را بر روی منحنی قرار داده و نقطه معادل آن بر روی محور طولها میزان آفاتوکسین نمونه را بر حسب میکرو گرم بر گرم بدست می‌داد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار spss مورد آزمون‌های آنالیز واریانس یکطرفه و دانکن قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج این پژوهش (جدول ۱) نشان داد که ۹۸/۹٪ نمونه‌ها آلوده می‌باشند و محدوده آلودگی در نمونه‌های مثبت بین $0/64 \mu\text{g}/\text{kg}$ تا $88/5 \mu\text{g}/\text{kg}$ و میانگین آنها $9/91 \mu\text{g}/\text{kg}$ بود. نمونه‌های تهیه شده در فصل تابستان به دلیل دمای بالای محیط و مساعد بودن هوا جهت رشد قارچها از آلودگی بیشتری برخوردار بودند و نسبت به نمونه‌های سایر فصول (جدول ۲) اختلاف معنی داری داشتند ($P < 0.05$). ضمناً بین میانگین آلودگی نمونه‌های جمع آوری شده (ذرت) گندم سویا جو دان مخلوط و پودر ماهی) اختلاف معنی داری ملاحظه نگردید ($P > 0.05$). میانگین آلودگی در کل نمونه‌ها $9/92 \mu\text{g}/\text{kg}$ کمترین میانگین در گندم و بیشترین میانگین

تعیین میزان آفلاتوکسین B1 در خوراک جوجه گوشتی در مرغداری‌های استان اصفهان

الایزا و TLC مورد بررسی قرار دادند محدوده آلودگی نمونه‌ها بین $20 \mu\text{g/kg}$ تا $200 \mu\text{g/kg}$ بود البته ۴ مورد از این نمونه‌ها بین $2000 \mu\text{g/kg}$ تا $5625 \mu\text{g/kg}$ آلودگی داشتند. نمونه‌های دارای آلودگی بالا در طیور مصرف کننده علائم مسمومیت ایجاد می‌کردند (Kichou, et al). زین الدین و همکاران در سال ۲۰۰۷ تعداد ۲۱ نمونه را مورد ارزیابی قرار داده که $66/6\%$ نمونه‌ها دارای $0.5 \mu\text{g/kg}$ تا $5/38 \text{ kg}$ آفلاتوکسین بودند (Zinedin, a., et al., 2007). سوماشکار و همکاران در سال ۲۰۰۴ تعداد ۹ محصول را جهت جداسازی آفلاتوکسین مورد آزمایش قرار دادند که در بین آنها بادام زمینی دارای آلودگی بالاتر از استاندارد هندوستان ($30 \mu\text{g/kg}$) بود.

تفاوت‌های قابل توجهی بین نتایج این مطالعه با سایر بررسی‌ها وجود دارد علت این تفاوت‌ها به عواملی چون اختلاف در روش‌های برداشت، خشک کردن، حمل، انبارداری بستگی دارد.

جدول شماره ۱- آمار توصیفی نمونه‌های تهیه شده از خوراک

از حد مجاز داشته اند. در تحقیقات انجام شده توسط زین الدین در سال ۲۰۰۷ در مراکش 80% نمونه‌های مورد آزمایش تا $11/2 \mu\text{g/kg}$ و 10% آنها $4 \mu\text{g/kg}$ آفلاتوکسین داشته‌اند (Zinedine et al., 2007). احتمال آلودگی ذرت به مایکوتوکسین‌ها در مقایسه با سایر محصولات مانند گندم بالاتر می‌باشد. حضور قارچ و سموم ناشی از آنها در خوراک طیور تابع آلودگی محصولات مورد استفاده در تهیه خوراک طیور است. منشأ آلودگی محصولات کشاورزی می‌تواند قبل از برداشت محصول یا پس از برداشت به هنگام ذخیره نمودن آن باشد (Lozada af., 1995).

در مدت ذخیره سازی محصول میزان رطوبت و درجه حرارت محیط نقش مهمی در رشد قارچ‌ها و تولید سم توسط آنها دارد (Moreno, mm., et al 1986). شایع‌ترین و فراوان‌ترین قارچی که در خوراک طیور وجود دارد اسپرژیلوس فلاووس و پنی سیلیوم هستند. تحقیقات به عمل آمده در زمینه وجود مایکوتوکسین در خوراک طیور محدود می‌باشد. کیچوو و والسر در سال ۱۹۹۳، ۳۱۵ نمونه خوراک طیور را توسط روش‌های

طیور

نام محصول	تعداد نمونه	تعداد آلوده	میانگین آفلاتوکسین $\mu\text{g/kg}$	خطای استاندارد	حداقل آلودگی $\mu\text{g/kg}$	حداکثر آلودگی $\mu\text{g/kg}$	درصد آلودگی
گندم	۳۲	۳۱	۵/۰۶	۰/۵۹۹	۰	۱۱	۹۶/۸۷
ذرت	۳۸	۳۸	۱۳/۰۵	۳/۰۹۰	۱	۸۹	۱۰۰
سویا	۲۹	۲۹	۹/۷۹	۱/۹۸۹	۲	۵۲	۱۰۰
پودر ماهی	۱۷	۱۷	۹/۲۹	۲/۸۹۷	۱	۵۲	۱۰۰
دان کامل	۲۵	۲۵	۱۲/۲۰	۱/۷۰۴	۳	۳۹	۱۰۰
جو	۲۶	۲۵	۱۰/۰۸	۱/۶۶۵	۰	۳۸	۹۶/۱۵
کنجاله آفتابگردان	۵	۵	۹/۲۰	۱/۴۹۷	۶	۱۴	۱۰۰
کنجاله پنبه	۵	۵	۸/۴۰	۱/۴۳۵	۴	۱۲	۱۰۰
جمع	۱۷۷	۱۷۵	۹/۹۲	۰/۸۸۱	۰	۸۹	۹۸/۸۷

* تفاوت میانگین آفلاتوکسین در نمونه‌های جمع آوری شده از نظر آماری معنی دار نمی‌باشد ($p > 0.05$)

جدول ۲- آلودگی نمونه‌ها به آفلاتوکسین B₁ در فصول مختلف

فصل ها	تعداد	میانگین آفلاتوکسین $\mu\text{g}/\text{kg}$	خطای استاندارد	حداقل آلودگی $\mu\text{g}/\text{kg}$	حداکثر آلودگی $\mu\text{g}/\text{kg}$
بهار	۴۴	۸/۳۳	۰/۷۹	۰	۲۷/۹
پائیز	۴۸	۶/۴۴	۰/۶۵	۰/۹	۲۱/۵
تابستان	۵۱	۱۵/۶۸	۲/۶۷	۰/۶۴	۸۷/۵۵
زمستان	۳۴	۸/۲۱	۱/۰۵	۰	۲۲/۶
جمع	۱۷۷	۹/۹۱	۰/۸۸	۰	۸۷/۵۵

*تفاوت میانگین آفلاتوکسین در نمونه های جمع آوری شده در فصول مختلف سال از نظر آماری معنی دار می باشد ($p < 0.05$)

جدول ۳- میزان آلودگی نمونه‌ها به آفلاتوکسین B₁ در سطوح بالاتر از ۵ و ۱۰ $\mu\text{g}/\text{kg}$

نام محصول	گندم	ذرت	سویا	ماهی	دان	جو	کل نمونه ها
موارد آلودگی به آفلاتوکسین بالای $5\mu\text{g}/\text{kg}$	٪۳۶	٪۷۱/۸۸	٪۵۳/۴	٪۵۵/۶	٪۸۸/۵	٪۶۶/۷	٪۶۶/۸
موارد آلودگی به آفلاتوکسین بالای $10\mu\text{g}/\text{kg}$	٪۱۲/۲	٪۲۳/۱	٪۳۳/۴	٪۲۷/۸	٪۴۶/۲	٪۲۹/۷	٪۲۸/۸۱

سیاسگزاری

در پایان از همکاران محترم دکتر محمد مرتضوی، دکتر شادمان فیاض نژاد، که در تهیه نمونه، آقای منوچهر مومنی کارشناس محترم و دلسوز آزمایشگاه و خانم حقانی که در مراحل انجام آزمایش مرا یاری رساندند صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

پیشنهادات: با توجه به بحثها و نتایج فوق پیشنهادات زیر ارائه داده می‌شود.

۱- نظارت وزارت جهاد کشاورزی بر منابع خرید علوفه و غلات، نحوه و مدت زمان حمل و مدت انتظار جهت ترخیص در بنادر.

۲- اصلاح سیستمهای حمل، توزیع و نگه داری خوراک دام و طیور در داخل کشور.

۳- اجرای نظارت‌های بهداشتی و نمونه گیری از خوراک دام و طیور از مراکز توزیع.

۴- اجرای نظارت‌های بهداشتی و نمونه گیری از تولیدات دام و طیور جهت کنترل سموم قارچی در محصولات دامی.

۵- اجرای سیاست‌های تشویقی در جهت کاربرد مواد جاذب سموم در خوراک مشکوک و آلوده توسط دامپروران.

of aflatoxigenic fungi from food and feed samples in India, food microbiology vol21, 6, Dec 2004 , p 809-813.

10- Kichou and Walser MM. The natural occurrence of aflatoxin B1 in Moroccan poultry feeds. *Veterinary and Human Toxicology*35: 105–108.

11- Lozada AF (1995). Isolation and identification of mycotoxigenic fungi in selected foods and feed. *Food Additives and Contaminants* 3: 509–514.

12- Moreno MM and Suarez FGS. (1986). Aflatoxin producing potential of *Aspergillus flavus* strains isolated from Spanish poultry feeds. *Mycopathologia*95: 29–32.

13- Zinedine A, Juan C, Soriano JM, Moltó JC, Idrissi L and Mañes J. (2007) Limited survey for the occurrence of aflatoxin in cereals and poultry feeds from morocco. *International journal of food microbiology* 115:124-127.

14- Zinedine A. (2009). Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. *J. manes food control*, 20: 334-344.

منابع

۱- حمیدیان، سید اسحاق، آفاتوکسین در جیره غذایی طیور *Animalscience-mhtml*

۲- راستی اردکانی، م.، ۱۳۷۴، تعیین میزان آلودگی ذرت انبارهای مرکزی علوفه اصفهان با آفاتوکسین، پایان نامه کارشناسی ارشد رشته سم شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران.

۳- رحیمی، ابراهیم و همکاران، ارزیابی سطح آفاتوکسین B1 در خوراک دام مزارع گاو شیری استان چهارمحال و بختیاری، پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان شماره ۷۹ تابستان ۱۳۸۷.

۴- رضوی دهکردی، م.، جستجو و تعیین مقدار آفلاتوکسین در پنبه دانه و باقیمانده آن بعد از روغن کشی، پایان نامه دکترای حرفه‌ای رشته دارو سازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

۵- سالمی، اردشیر، ۱۳۸۰، قارچ شناسی و بیماری‌های قارچی در دامپزشکی، کتاب، انتشارات نیکخواه.

۶- عباسی فر، آ.، و همکاران، ۱۳۸۴، بررسی میزان آلودگی آفاتوکسین M1 در شیر گاوداریهای اطراف شیراز و یافتن منشأ آن در خوراک دام با استفاده از روش الایزا، کتاب خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره دامپزشکی ایران، صفحه ۱۸۹.

۷- کاظمی، ع.ر.، ۱۳۷۸، بررسی میزان آلودگی کنجاله پنبه دانه مصرفی گاوداری‌های صنعتی اطراف اصفهان به آفاتوکسین، پایان نامه دکترای حرفه‌ای رشته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.

8- Bauduret A. (1990). Mycological and bacteriological survey on feed ingredients and mixed poultry feeds in Reunion Island. *Mycopathologia* 109: 157–164.

9- Isolation, enumeration and PCR characterization

