بررسی آزمایشگاهی میزان حساسیت ارقام گندم مورد استفاده برای کشت در استان یزد به آلودگی با قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* مولد آفلاتوکسین

دکتر عباسعلی جعفری ندوشن*[1]، دکتر محمد حسین فلاح زاده**، سید محمد تقی طباطبایی***، محمدرضا وظیفه شناس†، علی جعفری†

*استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی- دانشگاه علوم پزشکی یزد، **استادیار گروه آمار- دانشگاه علوم پزشکی یزد، ***کارشناس ارشد اصلاح نباتات- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی یزد، †مربی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی یزد.

تاریخ دریافت: ۸۶/۷/۲۶ تاریخ تایید: ۸۷/۳/٤

چکیده:

زمینه و هدف: گندم از مهمترین غلات مورد استفاده در ایران بوده که بسیار حساس به آلودگی با قارچ ها از جمله قارچ های مولد آفلا توکسین می باشد. استفاده از ارقام بذر گندم مقاوم در برابر آلودگی با این قارچ ها می تواند نقش مهمی در پیشگیری و کنترل آلودگی گندم و مواد غذایی که از آرد گندم تهیه می شوند داشته باشد. این مطالعه با هدف بررسی میزان حساسیت ارقام مختلف گندم که جهت کشت از طرف جهاد کشاورزی استان یزد به کشاورزان توصیه می شود. نسبت به آلودگی با شایع ترین قارچ مولد آفلاتوکسین (*آسپرژیلوس فلاووس*) انجام شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی میزان حساسیت ۱۰ رقم بذر گندم که توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد برای کشت به کشاورزان گندمکار توصیه می شود. در شرایط برون تنی (In vitro) در برابر آلودگی تجربی آنها با تعداد ۱×۱۰^{۳} کونیدی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* مولد سم آفلاتوکسین بررسی گردید. پس از ٤۸ ساعت آلودگی میزان کلونیزاسیون و تکثیر قارچ بر روی هر گندم با شمارش کونیدی های تولید شده توسط قارچ به عنوان معیاری برای میزان حساسیت در نظر گرفته شد. داده ها با استفاده از آزمونهای آماری کروسکال والیس، ضریب همبستگی پیرسون و آزمون مقایسات چند گانه تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: گندم کویر، روشن و شیراز به ترتیب با میانگین ۱۱۸۵۰۰، ۱۵۲۵۰۰ و ۱۲۲۰۰۰ CFU/ml (Colony forming units) پس از ٤۸ ساعت مجاورت با کونیدی های قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* به ترتیب از مقاوم ترین گونه ها به این قارچ بودند. گندم سیستان (۹ شوری) و اکبری به ترتیب با میانگین CFU/ml ۵٦۱۰۰۰، ٤٦۰۵۰۰ بیشترین حساسیت نسبت به آلودگی به این قارچ را نشان دادند ($P<۰/۰۰۱$). از نظر آماری هیچگونه ارتباط معنی داری بین میزان حساسیت ارقام گندم مورد مطالعه با میزان پروتیین آنها مشاهده نشد.

نتیجه گیری: صرف نظر از نگهداری و انبار گندم در شرایط مناسب که مانع از رشد میکرو اورگانیسم های مختلف از جمله قارچ ها می شود، استفاده از ارقام مقاوم در برابر آلودگی با قارچ های مولد آفلا توکسین برای کشت و تولید محصول مقاوم می تواند کمک موثری در پیشگیری از آلودگی گندم تولیدی به این قارچ باشد.

واژه های کلیدی: *آسپرژیلوس فلاووس*، آفلاتوکسین، حساسیت، گندم.

مقدمه:

گندم از مهمترین غلات مورد استفاده در ایران بوده و بالاترین میزان سطح کشت و تولید در ایران را داراست. با توجه به اهمیت نان به عنوان رایج ترین ماده غذایی در جیره غذایی انسان و همچنین استفاده فراوان از مواد غذایی که از آرد گندم تهیه می شوند بخصوص در کشور ما، آلودگی آن با میکروارگانیسم های مولد سموم مختلف از جمله قارچ های مولد آفلاتوکسین می تواند نقش مهمی در تهدید سلامت انسان داشته باشد. به علاوه استفاده از ضایعات نان و همچنین آرد گندم جهت تغذیه دامها، در صورت آلودگی به

نویسنده مسئول: یزد- صفاییه- خیابان بوعلی- دانشکده پزشکی- گروه انگل شناسی و قارچ شناسی- تلفن: ۰۳۵۱-۸۲٤۱۷۵۱، *E-mail:jafariabbas@yahoo.co.in*

www.SID.ir

قارچ‌های مولد آفلاتوکسین می‌تواند باعث آلودگی شیر و فراورده های لبنی به این سم باشد.

قارچ ها از عوامل بیولوژیک مهم آلوده کننده محصولات کشاورزی بوده به طوری که می توانند در مراحل کاشت، داشت و برداشت و همچنین در زمان انبار و ذخیره سازی باعث فساد و تخریب آنها شوند. قارچ‌ها با ترشح آنزیم‌ها و متابولیت های مختلف می توانند نه تنها باعث فساد و از بین بردن غلات از جمله گندم شوند بلکه می‌توانند با تولید سموم مختلف از جمله آفلاتوکسین از عوامل تهدید کننده جدی سلامت انسان از جمله در کشور ما باشند (۲،۱).

آفلاتوکسین از جمله سموم قارچی است که به وسیله گونه‌هایی نظیر *آسپرژیلوس فلاووس*، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و *پنی سیلیوم پوبرولوم* تولید شده و در صورت آلودگی غذایی انسان یا حیوان با آن می‌تواند باعث تخریب حاد کبد، سیروز کبد و محرک و یا القا کننده سرطانی شدن سلول‌های کبدی و همچنین عوارض تراتوژنیک در انسان و حیوانات شود. به علاوه این سم می تواند از راه مصرف غذا و خوراک دامها از راه شیر و فرآورده های دام به انسان منتقل شود (۳). در بین گونه های مولد آفلاتوکسین قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* از مهمترین و شایع ترین قارچ های مولد آفلاتوکسین در گندم و آرد بوده که در مطالعات مختلف آزمایشگاهی عموما از این قارچ استفاده می شود (۴). اسپورهای این قارچ از راه هوا منتشر شده که می تواند باعث آلودگی غلات، حبوبات و سایر مواد غذایی و همچنین علوفه و خوراک دامها به آفلاتوکسین شود. شستشوی گندم و حرارت دادن گندم خشک (۲۰۰-۱۵ درجه سانتیگراد) قبل از آرد نمودن آن می‌تواند باعث کاهش میزان آفلاتوکسین B1 آن شود (۵). با توجه به اینکه کنترل کامل و پیشگیری از آلودگی گندم با قارچ های مولد آفلاتوکسین بسیار سخت و هزینه بر است لذا انتخاب گونه های مقاوم در برابر آلودگی با قارچ های مولد آفلاتوکسین می‌تواند کمک مفیدی در جلوگیری از آلودگی گندم و آرد با آفلاتوکسین باشد.

مطالعات متعددی بر روی آلودگی گندم به قارچ‌های مولد آفلاتوکسین انجام شد که از جمله مطالعه Halt بر روی محصولات آردی در کشور کرواسی می‌باشد که قارچ آسپرژیلوس را به عنوان عامل غالب آلوده کننده گندم (۳۴/۸٪) معرفی شده که گونه *آسپرژیلوس فلاووس* بالاترین میزان (۱۰٪) حایز بیشترین گونه جدا شده گزارش شده است. آفلاتوکسین B1 به عنوان رایج‌ترین نوع آفلاتوکسین موجود در گندم و آرد گزارش شده است که از *آسپرژیلوس فلاووس* عمدتاً تولید می‌شود (۴). Toteja و همکاران در مطالعه‌ای در کشور هند ۴۰/۳ درصد نمونه های گندم ایالت های مختلف این کشور را دارای آلودگی بیش از میزان مجاز (≥5 µg/kg) گزارش نمودند که ماکزیمم میزان آلودگی مربوط به ایالت اتارپرادش و به میزان ۶۰۶ میکروگرم در هر کیلوگرم گندم گزارش کردند (۶).

در بررسی Berghofer و همکاران در استرالیا بر روی گندم و آرد گندم از نظر فلورمیکروبی شایع ترین کپک های جدا شده شامل آسپرژیلوس، پنی سیلیوم و کلادوسپوریوم بودند (۷).

Escobar و همکاران در کشور کوبا در مطالعه بر روی میزان آلودگی مواد غذایی مختلف به آفلاتوکسین B1 ۲۵ درصد از نمونه های گندم را آلوده به آفلاتوکسین B1 گزارش نمودند. همچنین ۱۱/۳ درصد از نمونه‌های آلوده حاوی ۲۰-۱ میکروگرم آفلاتوکسین در هر کیلوگرم گندم بوده اند (۸).

در ایران اغلب مطالعات انجام شده جهت جداسازی و تعیین میزان آلودگی به آفلاتوکسین بر روی پسته بوده که احتمالاً به دلیل ارزش صادراتی آن است (۱۰،۹). همچنین در مطالعه ای در شهر ارومیه بر روی نان مصرفی ۱۸/۲ درصد از نان های مصرفی آلوده به انواع آفلاتوکسین ها گزارش شدند که میزان آلودگی در این مطالعه ppb ۲۰-۱۰ (Parts per billion) تعیین شد (۱۱). در مطالعات دیگر نقش آفلاتوکسین موجود در غذا و خطر احتمالی القا سرطان مری در شمال ایران و کشور

Archive of SID
www.SID.ir

کره بررسی شده است (۱۳،۱۲). با بررسی های انجام شده به نظر می‌رسد که در رابطه با میزان آلودگی و میزان حساسیت ارقام گندم در سطح کشور و از جمله استان یزد نسبت به آلودگی به قارچ های مولد آفلاتوکسین از جمله *آسپرژیلوس فلاووس* تاکنون مطالعه ای انجام نشده است. لذا با توجه به شیوع بالای قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و با توجه به خطرات ناشی از مصرف گندم و فرآورده های آلوده به سم ناشی از این قارچ انجام مطالعه حاضر ضروری و مفید به نظر می‌رسد.

هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی میزان حساسیت گندم‌های مختلفی که از طرف جهاد کشاورزی به کشاورزان جهت کشت توصیه می‌شود نسبت به آلودگی تجربی به قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* مولد آفلاتوکسین بوده است.

روش بررسی:

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و در شرایط برون تنی (In vitro) بر روی ۱۰ رقم گندم که توسط اداره جهاد کشاورزی استان یزد تهیه و برای کشت به کشاورزان توصیه و داده می شود، در محل آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد انجام شد. ارقام گندم مورد استفاده و خصوصیات هر کدام به شرح زیر می باشد:

۱-*گندم روشن:* مخصوص مناطق معتدل-توان تولید ۵-۴ تن در هکتار- درصد پروتئین ۱۳

۲-*گندم کویر:* مخصوص مناطق معتدل و گرم- توان تولید ۸-۴/۲ تن در هکتار- درصد پروتئین ۱۱/۳

۳- *گندم مرودشت:* مخصوص مناطق معتدل و گرم- توان تولید ۹/۵-۶/۵ تن در هکتار- درصد پروتئین ۹/۸

۴- *گندم پیشتاز:* مخصوص مناطق معتدل – توان تولید ۱۰/۵-۷/۵ تن در هکتار- درصد پروتئین ۱۰/۵

۵- *گندم شیراز:* مخصوص مناطق معتدل – توان تولید ۱۰-۷ تن در هکتار- درصد پروتئین ۱۰/۸

۶- *گندم بک کراس روشن:* مخصوص مناطق معتدل- تولید ۶-۴/۷ تن در هکتار- درصد پروتئین ۱۰/۶

۷- *گندم بم (۴ شوری):* مخصوص مناطق گرم- توان تولید ۴/۴ تن در هکتار- درصد پروتئین ۱۱/۵

۸- *گندم اکبری (۶ شوری):* مخصوص مناطق گرم- توان تولید ۳/۹ تن در هکتار- درصد پروتئین ۱۰/۶

۹- *گندم سیستان (۹ شوری):* مخصوص مناطق گرم- توان تولید ۴/۱ تن در هکتار- درصد پروتئین ۱۱/۱

۱۰- *لاین ER-S-81-14:* مخصوص مناطق گرم- توان تولید ۴/۴ تن در هکتار- درصد پروتئین ۱۱/۸

مقدار ۱۰ گرم از هر نمونه گندم بصورت کاملاً تصادفی از کیسه های گندم موجود در انبار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد انتخاب گردید. جهت از بین بردن آلودگی سطحی احتمالی، با محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۳ دقیقه شستشو و در نهایت سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده و داخل ارلن‌های استریل حاوی ml ۱۰ آب مقطر استریل ریخته شدند. از کلنی های ۷ روزه *آسپرژیلوس فلاووس* (PTCC 5006) در داخل پلیت حاوی محیط سابورو دکستروز آگار (Liofilchem، Italy) حاوی mg/l ۵۰ کلرامفنیکل (هجرت، ایران) جهت تهیه سوسپانسیون کونیدی قارچ برای تلقیح گندم ها استفاده شد.

ابتدا ۵ سی سی نرمال سالین استریل به پلیت حاوی کلنی‌های قارچ مذکور اضافه و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت rpm ۱۰۰ بر روی شیکر روتاتور (بهداد- ایران) مخلوط گردید. با استفاده از لام هموسیتومتر، سوسپانسیون ۱×۱۰^{۳} کونیدی قارچ در هر میلی لیتر سرم فیزیولوژی تهیه گردید. به هر ارلن حاوی ۱۰ گرم گندم میزان ۵ میلی لیتر سوسپانسیون ۱×۱۰^{۳} کونیدی قارچ اضافه، کاملاً مخلوط و سپس به مدت ۴۸ ساعت در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد و بر روی شیکر روتاتور (۱۵۰ rpm) نگهداری شدند. در پایان میزان ۱۰ میکرولیتر از مایع داخل ارلن گندم ها را مجدداً با استفاده از لام هموسیتومتر از نظر تعداد کونیدی های قارچ شمارش و با توجه به ضریب رقت، تعداد کونیدی قارچ در هر

Archive of SID

www.SID.ir

میلی لیتر محاسبه شد. برای هر نمونه گندم ۱۰ بار آزمایش فوق تکرار و میانگین تعداد کونیدی‌های شمارش شده در پایان آزمایش محاسبه گردید. داده ها به کمک نرم‌افزار آماری SAS/STAT و با استفاده از آزمون‌های آماری کروسکال والیس، ضریب همبستگی پیرسون و آزمون مقایسات چند گانه تجزیه و تحلیل و مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها:

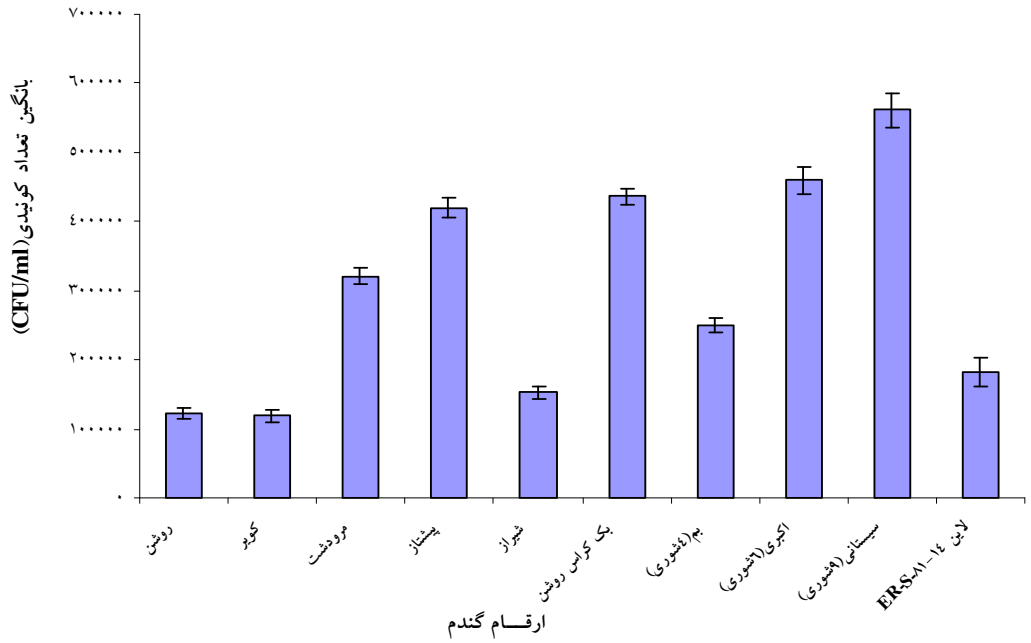
گندم کویر با میانگین ۱۱۸۵۰۰، گندم شیراز با میانگین ۱۵۲۵۰۰ و گندم روشن با میانگین ۱۲۲۰۰۰CFU/ml به ترتیب از مقاوم ترین گونه ها به قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* بودند. گندم سیستان با میانگین ۵۶۱۰۰۰ CFU/ml و گندم اکبری با میانگین ۴۶۰۵۰۰ CFU/ml بیشترین حساسیت به این قارچ را نشان داد (نمودار شماره ۱). به عبارتی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* به راحتی و سریع تر می‌تواند گندم سیستان و گندم اکبری را در مقایسه با سایر گندم ها آلوده کرده و بر روی آن رشد و نمو کند.

با کمک نرم افزار آماری SAS و با استفاده از تست آماری کروسکال والیس تفاوت بین میزان کلونیزاسیون (میزان حساسیت) بین ارقام مختلف گندم معنی دار بود (P<۰/۰۰۱).

همچنین با انجام آزمون آماری ناپارامتری (Dunn's Multiple Comparison test) تفاوت بین سوش های مختلف گندم (مقایسه دو بدو) از نظر میزان حساسیت به قارچ آلوده کننده بررسی گردید (نمودار شماره ۱).

از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین میزان حساسیت ارقام گندم مورد مطالعه با میزان پروتئین آنها مشاهده نشد.

ofSID



نمودار شماره ۱: مقایسه میزان حساسیت (تعداد کونیدی های قارچ *اسپرژیلوس فلاووس* شمارش شده در واحد حجم) دو روز پس از تلقیح با ۱۰۰۰ کونیدی قارچ *آسپرژیلوس فلاووس*.

-P<۰/۰۰۱ بین ارقام مختلف گندم بر اساس آزمون آماری کروسکال والیس.

- بر اساس آزمون مقایسات چند گانه Dunn's P<۰/۰۱ بین گندم روشن و سیستانی، مرودشت و سیستانی، پیشتاز و لاین ER-S-81-14، شیراز و روشن، بم و اکبری.

-P<۰/۰۰۱ بین گندم شیراز و اکبری، شیراز و سیستانی، سیستانی و بک کراس و ER-S-81-14، سیستانی و بم.

-P<۰/۰۵ بین گندم یک کراس و بم.

CFU=Colon forming units

www.SID.ir

بحث:

در مطالعه حاضر میزان مقاومت ۱۰ رقم گندم که در استان یزد به عنوان بذر اصلاح شده جهت کشت کاربرد دارند در برابر آلودگی با قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* مولد آفلاتوکسین مورد بررسی قرار گرفته است. تمامی گندم ها ۴۸ ساعت پس از آلودگی به ۱۰۰۰ کونیدی این قارچ آلودگی شدید به کلنی های *آسپرژیلوس فلاووس* را نشان دادند ولی کمترین میزان شمارش کونیدی های این قارچ در گندم های کویر، روشن و شیراز مشاهده و بیشترین شمارش مربوط به گندم سیستان بود. به نظر می‌رسد که گندم از غلات نسبتاً حساس به قارچ های مختلف از جمله قارچ های مولد آفلاتوکسین باشد. هدایتی و همکاران در مطالعه ای بر روی انبارهای گندم استان مازندران گزارش کردند که ۶۳/۷ درصد نمونه های گندم مورد آزمایش به انواع آسپرژیلوس آلوده بودند که *آسپرژیلوس فلاووس* فراوان‌ترین گونه را تشکیل که از ۶۴/۶ درصد نمونه ها جدا شده که عامل مهم آلودگی گندم ها به آفلاتوکسین گزارش شده است (میانگین ppb ۳/۱۲) (۱۴). به نظر می‌رسد گندم های مخصوص کشت در مناطق گرم مانند گندم سیستان و گندم اکبری بیشترین حساسیت به آلودگی با قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* داشتند و پس از این دو نوع گندم، گندم های بک کراس، روشن و پیشتاز که اغلب در مناطق معتدل کاربرد دارند حساسیت بیشتری نسبت به آلودگی با این قارچ نشان دادند.

علی رغم اینکه با بررسی‌های انجام شده در ایران مطالعه مشابهی انجام نشده ولی Attala و همکاران با آلودگی تجربی گندم با ۴ گونه قارچ آسپرژیلوس در رطوبت‌های مختلف، سموم مختلف از جمله آفلاتوکسین B1، B2، T-2 toxins و Zearalenone در این گندم ها جدا کردند که میزان این سموم ارتباط مستقیمی با میزان رطوبت در این گندم ها داشته است (۱۵).

Spanjer و همکاران به استفاده از روش HPLC و الیزا با استفاده از ستون Immunoaffinity تعداد ۲۴ سم قارچی مختلف از جمله آفلاتوکسین در گندم، ذرت، بادام زمینی، پسته، کورن فلکس در کشور هلند جدا کرده که به کمک این تکنیک مقادیر ۲۰۰-۱۰ میکروگرم سم آفلاتوکسین در هر کیلوگرم مواد غذایی آزمایش شده قابل اندازه گیری بود (۱۶).

Stubblefield و همکاران در مطالعه ای مشابه با آلوده کردن نمونه‌های مختلف گندم به قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* توانست ۹۰۰ میکروگرم آفلاتوکسین B1 و G1 از هر گرم گندم آلوده شده به *آسپرژیلوس فلاووس* پس از ۵-۴ روز به دست آورد (۱۷). Abbas و همکاران در مطالعه ای بر روی اکولوژی و آلودگی غلات و حبوبات با قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و آفلاتوکسین در دلتای می سی سی پی گزارش نمودند که این قارچ به طور معنی داری توسط غلات قبلی بجا مانده بر روی زمین وارد خاک شده و در سال های ۲۰۰۲ در مزارع کشت گندم بالاترین میزان آلودگی به قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* به میزان ۴۵۷ کونیدی قارچ در هر گرم گندم جدا نمودند. در این مطالعه گندم Kernels دارای بالاترین آلودگی به این قارچ و در نتیجه بالاترین آلودگی به آفلاتوکسین (متوسط ppb ۵۷) گزارش نمودند (۱۸).

نتیجه گیری:

هر چند که نگهداری و انبار گندم در شرایط مناسب (عدم رطوبت و گرما) که مانع از رشد میکرو اورگانیسم‌های مختلف از جمله قارچ‌ها می شود، استفاده از ارقام مقاوم در برابر آلودگی با قارچ‌های مولد آفلاتوکسین برای کشت و تولید محصول مقاوم می تواند کمک موثری در پیشگیری از آلودگی گندم تولیدی به این قارچ ها باشد.

نتایج مطالعه حاضر بیانگر این است که گندم کویر هر چند به عنوان گندم مورد استفاده در مناطق گرم و معتدل شناخته می شود، بیشترین مقاومت در برابر

Archive of SID

www.SID.ir

تشکر و قدردانی:

آلودگی با *آسپرژیلوس فلاووس* را نشان داده و برای کشت در استان یزد توصیه می شود.

از کلیه کسانی که ما را در این امر یاری نمودند قدردانی می گردد.

منابع:

1. Khanafari A, Soudi H, Mir Abou Alfathi M. [Biocontrol of aspergillus flavus and aflatoxin B1 production in corn. Iranian Journal Environ Mental Health Sciences and Enginnring (IJEHSE). 2007 Summer; 4(3): 163-8.] Persian

2. Tayebi J, Mir abou alfathi M. Aflatoxins B_1, B_2 and aspergillus flavus contamination of several maize hybrids in field. Appl Entomol Phytopathol. 2002 March; 69(2): 79-84.

3. Kang'ethe EK, M'Ibui GM, Randolph TF, Lang'at AK. Prevalence of aflatoxin M1 and B1 in milk and animal feeds from urban smallholder dairy production in Dagoretti Division, Nairobi, Kenya. East Afr Med J. 2007 Nov; 84(11 Suppl): S83-6.

4. Halt M. Aspergillus flavous and aflatoxin B_1 in flour production. Eur J Epidemiol. 1994 Oct; 10(5): 555-8.

5. Hwang JH, Lee KG. Reduction of aflatoxin B_1 contamination in wheat by various cooking treatments. Food Chem. 2006; 98(1): 71-5.

6. Toteja GS, Diwakar S, Singh P, Saxena BN, Sinha KK, Sinha AK, et al. Aflatoxin B_1 contamination in wheat grain samples collected from different geographical regions of India: a multicenter study. J Food Protect. 2006-Jun; 69(6): 1463-7.

7. Berghofer LK, Hocking AD, Miskelly D, Jansson E. Microbiology of wheat and flour milling in Australia. Int J Food Microbiol. 2003 Agu; 85(1-2): 137-49.

8. Escobar A, Regueiro OS. Determination of aflatoxin B_1 in food and feedstuffs in Cuba (1990 through 1996) using an immunoenzymatic reagent kit (Aflacen). J Food Prot. 2002 Jun; 65(1): 219-21.

9. Yazdanpanah H, Mohammadi T, Abouhossain G, Cheraghali AM. Effect of roasting on degradation of aflatoxins in contaminated pistachio nuts. Food Chem Toxicol. 2005 Jul; 43(7): 1135-9.

10. Mehrnejad MR, Panahi B. The influence of hull cracking on aflatoxin contamination and insect infestation in pistachio nuts. Appl Entomol Phytopathol. 2006 March; 73(2): 105-23.

11. Ramin AGH. The study of aflatoxins and their productsing agents in bread that consumed as ruminant foodstuffs. J Veterinary Res. 2003; 58(4): 347-51.

12. Moradi A, Kalavi K, Qujeq D, Ghaemi EO, Marjani A, Ghourchaei A. Risk factors associated with esophageal cancer in North of Iran. Saudi Med J. 2007 Jul; 28(7): 1141-3.

13. Ok HE, Kim HJ, Shim WB, Lee H, Bae DH, Chung DH, et al. Natural occurrence of aflatoxin B_1 in marketed foods and risk estimates of dietary exposure in Koreans. J Food Prot. 2007 Dec; 70(12): 2824-8.

14. Hedayati MT, Mohammadpoor RA. [A survey on wheat samples for mycotoxin zearalenone from mazandaran province 2002. J of Mazandaran Univ Med Sci. 2006 Dec-Jun; 15(49): 89-94.] Persian

15. Atalla MM, Hassanein NM, El-Beih AA, Youssef YA. Mycotoxin production in wheat grains by different Aspergilli in relation to different relative humidities and storage periods. Nahrung. 2003 Feb; 47(1): 6-10.

Archive of SID

www.SID.ir

16. Spanjer MC, Rensen PM, Scholten JM. LC-MS/MS multi-method for mycotoxins after single extraction, with validation data for peanut, pistachio, wheat, maize, cornflakes, raisins and figs. Food Addit Contam. 2008 Apr; 25(4): 472-89.

17. Stubblfield RD, Shotwell OL, Hesseltine CW, Smith ML, Hall HH. Production of aflatoxin on wheat and oats: measurement with a recording densitometer. Appl Microbiol. 1967 Jan; 15(1): 186-90.

18. Abbas HK, Accinelli C, Zablotowicz RM, Abel CA, Bruns HA, Dong Y, et al. Dynamics of mycotoxin and Aspergillus flavus levels in aging BT and non-Bt corn residues under Mississippi no-till conditions. J Agric Food Chem. 2008 Aug; 56(16): 7578-85.

Archive of SID

www.SID.ir