المجلة العراقية
لبحوث السوق وحماية المستهلك

المجلد (8) العدد (1)
لسنة 2016

عزل وتشخيص السموم الفطرية المرافقة لبعض منتوجات الاندومي والشيبس المتوافرة في الاسواق المحلية.

حليمة زغير حسين	امنة محمد علي	مروة سعدي محمد	مصطفى جمعة حمادي
قسم وقاية النبات	قسم العلوم	قسم وقاية النبات	قسم وقاية النبات
كلية الزراعة	كلية التربية الاساسية	كلية الزراعة	كلية الزراعة
جامعة بغداد	الجامعة المستنصرية	جامعة بغداد	جامعة بغداد

تأريخ استلام البحث: 2015 /6/14   تأريخ قبول النشر: 2016 /4/7

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة إلى أجراء مسح الفطريات المرافقة لبعض منتوجات الاندومي والشيبس كونهما متداولين بشكل واسع من قبل شريحة مهمة جدا في المجتمع وهم الأطفال (الثروة القومية للبلد) فضلا عن استهلاكها من قبل البالغين لكن بنسبة اقل, إذ أظهرت نتائج المسح مرافقة بعض الفطريات للعينات المعقمة وبنسب وجود مختلفة تضمنت الفطريات *Aspergillus flavus* و*Aspergillus niger* و*Penicillium* Spp. و*Fusarium graminearum* و*F. moniliforme* و*Alternaria alternata* و*Rhizopus* Spp. وفطريات أخرى عقيمة لم يتم تشخيصها,واظهرت النتائج سيادة كبيرة للفطر *A.niger* بنسبة اصابة 55% في العينات المعقمة لكلا المنتجين, تلاها الاصابة بالفطر *Fusarium* Spp. و*Penicilium* Spp. و*A. alternata* بنسبة اصابة 55 و20 و17% على التوالي لمنتوج الاندومي المعقم في حين كانت الاصابة بالفطر *A. flavus* و*Penicilium* Spp. و*A. alternata* 43 و25 و12% لمنتوج الشيبس المعقم.كما بينت نتائج الفحص بتقانة الاليزا مقدرة لبعض العزلات عن انتاج سم DON وAFB1 على وسط الرز وهما من السموم الخطرة على صحة الانسان والحيوان, وكان الفطر *Fusarium* Spp. منتجا لسم DON بتراكيز تراوحت بين 13.5 الى 134.5 مايكروغرام/كغم في حين كان الفطر *A. flavus* منتجا لسم AFB1 بتراكيز تراوحت بين 14.3الى 115 مايكروغرام/كغم.

الكلمات المفتاحية: سم DON، AFB1، *Aspergillus flavus*، *Fusarium* Spp.، الاندومي، الشيبس.

Isolate and diagnose Mycotoxins associated with some producers of Indomie and Chips that available in local markets

Halima Z. Hussein	Amna M. Ali	Marwa Saadi Mohammed	Mostapha J. Hamadi
College of Agriculture, University of Baghdad.	Collage of Basic Education, University of Al-Mustansaria.	College of Agriculture, University of Baghdad.	College of Agriculture, University of Baghdad.

Abstract

This study aimed to survey fungi associated with the product Indomie and Chips being the trades Iargely by a very important segment of society who are the children, beside consumed by adults, but less so, as the survey results to accompany some fungui samples sterile showed proportions presence included various fungi like. *Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Penicillium* Spp., *Fusarium graminearum, F.moniliforme, Alternaria alternate* and *Rhizopus* Spp., and other fungi sterile are not diagnosed. The results showed large dominion fungi *A. niger* by presence sterile samples of both producers, followed by infection in *Fusarium* Spp., *Penicillium* Spp., and *A. alternata* by infection percentage 55, 20 and 17% respectively for the product sterile Indomie, valuable when the infection *A. flavus, Penicillium* Spp., and *A. alternata* 43, 25 and 12% respectively for sterile product chips. As shown test results ELISA ability of some isolates to produce toxin DON and AFB1 at the rice medium, They are hazardous to human health and animal toxins was fungus *Fusarium* Spp. Product toxin DON concentrations ranged 13.2-134.5 µg/kg while the fungus *A. flavus* toxin producing aflatoxin B1 concentrations ranged 14.3-115 µg/kg.

Key words: *Aspergillus flavus, Fusarium* Spp., AFB1, DON, Indomie, Chips.

المقدمـة

يعد الاندومي احد منتجات الحنطة التي تمثل المحصول الأول في العالم من حيث أهميتها ومساحتها المزروعة وحجم إنتاجها العالمي, وعلى الرغم من ازدياد المعدل العالمي لإنتاج محاصيل الحبوب كالحنطة والشعير والرز والذرة الصفراء في وحدة المساحة إلى ما يقارب الضعف عما كان عليه في بداية القرن العشرين، إلا إن الفجوة بين الإنتاج العالمي والطلب ما زالت قائمة وفي ازدياد مستمر وفي نفس الوقت يحتل حاصل الذرة الصفراء أهمية كبيرة في العالم والوطن العربي وفي العراق فهي تعد المحصول الثالث من حيث الاهمية بعد الحنطة والرز (6)، ويمثل منتوج الاندومي المستورد حاليا مصدر مهم للغذاء بالنسبة للاطفال والبالغين, أذ ازداد معدل الاستهلاك البشري لهذا المنتج نظراً لسهولة التحضير ولرخص الثمن, كما يعد شبيس الذرة الصفراء *Zea mays* L. احد منتجات محصول الذرة الصفراء الذي يمثل موقعاً متميزاً بين المحاصيل الزراعية لاسيما في العراق, أذ يعد هذا المحصول من المحاصيل المهمة في السنوات الاخيرة (8).

يعد الشيبس والاندومي من الاوساط الملائمة لنمو الفطريات والتلوث بالسموم الفطرية، أذ ان الاصابة بالفطريات تكون اما عند عملية التصنيع أو ان الاصابة كانت موجودة بالحقل، وعند توافر الظروف الملائمة من درجة حرارة ورطوبة فأن ذلك يؤدي الى انتاجها للسموم الفطرية التي تسبب مشاكل صحية للانسان والحيوان (2؛ 16؛ 17)، ومن خلال الدراسات المنشورة من قبل (15)، يلاحظ ان الذرة المستعملة في صناعة النشا والزيت ومعظم المنتجات الاخرى خالية من سموم افلا، وان 80-90% من سموم الافلا تركزت في ماء النقيع والالياف والكلوتين المستعمل كعلائق (3؛ 10)، كما اشار (23) الى ان عملية الطحن الجاف والرطب للذرة الصفراء خفضت من محتوى سم افلا للمنتوج النهائي المستعمل للاستهلاك البشري فضلا عن عمليات الغليان والتحميص التي ادت الى خفض نسبة سم افلا وبشكل كبير.

تعود الفطريات الاكثر تلويثاً للذرة والاندومي هي للجنسين *Aspergillus* Spp. و*Penicillium* Spp. ويمتاز هذان النوعان من الفطريات بانتاجهما للسموم الفطرية، اذ يمتاز الجنس Aspergillus بأنواعه المختلفة بانها منتجة لمركبات سامة غاية في الخطورة، ولاحظ (24) بأنه ينتج سموم مسرطنة ومطفرة مثل سموم Aflatoxins وهي مصنفة إلى أنواع منها M1 وG2 وG1 وB2 وB1 وكذلك سموم Ochratoxins، في حين أن أنواع

الجنس Penicillium تنتج مركبات سامة أيضا مثل Patulin وCitrinin وOchratoxin هي مواد ايض ثانوية حظت باهتمام اكثر من بقية السموم نظرا لثباتها وتأثيراتها المسرطنة للانسان والحيوان (20؛ 21)، وكذلك الجنس *Fusarium* Spp. الذي يعد ايضا من الملوثات الرئيسة لمنتوج الاندومي (14)، ونظرا لقلة الابحاث المتعلقة بالسموم الفطرية على هذين المنتوجين خاصة في الدول النامية لذلك هدفت الدراسة الى التحديد الدقيق للفطريات المرافقة لهذين المنتوجين والكشف عن السموم المفروزه من هذة الفطريات وتحديدها بتقنية الااليزا.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات:

أخذت عينات من مناطق مختلفة من بغداد شملت المنصور وحي العامل وحي الجهاد وكذلك مخازن الشورجه بواقع 5 رزم لكل عينه من الاندومي وبمعدل عشرة مكررات للعينة الواحدة (المكرر يمثل كيس واحد) وكذلك الحال بالنسبة للشيبس، أذ اخذت عينات بواقع خمس اكياس للعينه الواحده ووضعت في اكياس نايلون حاوية على بطاقات سجل عليها تاريخ اخذ العينة ورقمها وموقع العينة ونقلت الى مختبر المبيدات والسموم الفطرية/ كلية الزراعة/ جامعة بغداد.

عزل الفطريات وتشخيصها:

أتبعت الطريقة الموصوفة من قبل (19) لعزل الفطريات من الحبوب, إذ أخذت من كل عينة من العينات الواحدة بصورة عشوائية وعقمت سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم لكل 20 مل قاصر 80 مل ماء مقطر وبعدها غسلت بالماء المعقم مرتين لأزالة أثار القاصر وجففت بورق ترشيح معقم وزرعت على وسط معقم من وسط مستخلص البطاطا والدكستروز الصلب Potato Dextrose Agar (PDA) المعقم في إطباق بتري زجاجية معقمة قطر 9 سم وقد أستعملت 5 حبات من الشيبس والاندومي في الطبق الواحد (10 طبق بتري للمكرر الواحد) وبواقع 4 مكررات للعينة الواحدة وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 25±2م لمدة 7 أيام بعدها عزلت وشخصت الفطريات المرافقة باتباع المفاتيح التصنيفية المعتمدة (13؛ 22)

اختبار قابلية عزلات الفطر *Fusarium* Spp. على إنتاج سم DON والفطر *Aspergillus flavus* على انتاج سم الافلا B1:

اختبرت قابلية ثلاث عشرة عزلة من عزلات الفطر *Fusarium* Spp. المعزولة من الذرة الصفراء على انتاج سم DON باستعمال وسط الرز وهو من اكفا الاوساط انتاجا لهذا السم (18) والذي تم تحضيره بنقع 50 غم من الرز المقشر في اطباق زجاجية كبيرة قطر20 سم لمدة 30 دقيقة بوساطة 35مل ماء واضيف له 0.5غم ببتون، وجرى تعقيمها بجهاز المؤصدة مرتين في يومين متعاقبين على درجة حرارة 121م وضغط15 باوند/انج^2 لمدة 20 دقيقة، ثم لقحت الاطباق بالعزلات الفطرية النقية بواقع طبقين لكل عزلة وكانت قطعة اللقاح بقطر 1سم من طرف العزلة النقية وبعمر اسبوع واحد باستعمال الثاقب الفليني، بعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة 25±2م لمدة اسبوعين مع الرج اليومي اليدوي لمدة اسبوع ثم خفضت درجة الحرارة الى 13±2م.

الكشف عن الافلا B1 بأستعمال تقنية ElISA:

جرى اتباع التعليمات المذكورة من قبل شركة Shenzhen Lvshiyuan Biotechnology على عدة الكشف Kit وكالاتي:

1. تركت العدة القياسية بدرجة حرارة المختبر لمدة 30 دقيقة مع تحريك الكواشف المستعملة تحريكاً يدوياً.
2. حضر المحلول المنظم المستعمل للغسل Washing buffer وذلك بأخذ جزء واحد من المحلول المنظم المركز Concentrated washing buffer وتم تخفيفه بـ 9 أجزاء من ماء خالٍ من الأيونات.
3. استعملت 6 تراكيز من سم الأفلا B1 القياسية 0 و1 و3 و9 و27 و81 جزء بالبليون ورقمت التراكيز القياسية والعينات وفقاً لطريقة ترتيبها في حفر عدة الكشف Micro-wells.
4. أضيف 1 مللتر من المذيب ميثانول: ماء بنسبة (7: 3) الى جميع المعاملات لإذابة مكوناتها باستعمال جهاز الرجاج Vortex لمدة 20 ثانية ثم أضيف 50 مايكرولتر من كل من المعاملات والمادة القياسية للسم أفلا B1 في حفر الطبق باستعمال ماصة دقيقة متعددة القنوات.

5. أضيف 50 مايكرولتر من المصل المضاد للسم أفلا B1 ثم أضيف 50 مايكرولتر من الإنزيم المرتبط بالسم أفلا B1 وخلطت المكونات جيدا باليد بحركة دورانية وغطي الطبق باستعمال شريط لاصق، ترك الطبق في الظلام بدرجة حرارة المختبر لمدة 30 دقيقة.
6. سكبت مكونات الطبق وغسلت الحفر باستعمال 300 مايكرولتر من المحلول المنظم المستعمل للغسل وكررت العملية 5 مرات ولمدة 30 ثانية في كل مرة ثم جففت حفر الطبق جيداً وذلك بطرائق الطبق على ورق نشاف للتخلص من المحلول المنظم الموجود في الحفر.
7. أضيف 50 مايكرولتر من مادة Substrate A و50 مايكرولتر من مادة Substrate B المحتوية على مولد اللون Chromogen لكل حفرة، ثم خلطت المكونات جيداً باليد وتركت في الظلام بدرجة حرارة المختبر لمدة 15-20 دقيقة ثم أضيف 50 مايكرولتر من محلول الإيقاف.
8. قدرت قيمة الامتصاص الضوئي باستعمال جهاز قارئ الاليزا نوع Biotick التابع لمختبر الفيروسات في كلية الزراعة/ جامعة بغداد على طول موجي 450 نانومتر ثم حسب التركيز للسم أفلا B1 برسم المنحنى باعتماد قيم الامتصاص الضوئي لتراكيز السم القياسية الستة للسم أفلا B1 كما جاء في (18).

النتائج والمناقشة

الفطريات المرافقة للاندومي والشيبس:

أظهرت نتائج الكشف عن الفطريات المرافقة لمنتجي الاندومي والشيبس (الجدول، 1) الى سيادة كبيرة للفطر *A. niger* بنسبة 55% في العينات غير المعقمة لكلا المنتجين، وهذا يدل على ان اصابة الفطر كانت سطحية، تلاها الاصابة بالفطر *Fusarium* Spp. و*Penicillium* Spp. و*A. alternata* بنسبة 55 و20 و17% على التوالي لمنتوج الاندومي المعقم, بينما كانت الاصابة بالفطر *A .flavus* و*Penicillium* Spp. و *A. alternata* بنسبة 43 و25 و12% لمنتوج الشيبس المعقم، وهذه النتائج تتفق مع نتائج (5؛ 11) في تلوث محصول الحنطة وهو المكون الرئيس للاندومي وبذور الذرة الصفراء وهي من المكونات الرئيسة لمحصول الشيبس، ومع (12) الذي اكد *A. flavus* تلوث منتوج الشيبس المحلي والمستورد بالفطريات وعلى وجه الخصوص الفطر *A. flavus*.

جدول (1): الفطريات المرافقة لمنتجي الاندومي والشيبس في بعض مخازن مدينة بغداد.

الفطريات	منتوج الاندومي				منتوج الشيبس			
	غير معقمه	النسبة الاصابة(%)	غير معقمة	نسبة الاصابة(%)	غير معقمة	نسبة الاصابة(%)	معقمة	نسبة الاصابة(%)
Aspergillus flavus	−		−		−		+++	43
Aspergillus niger	+++	55	−		++	55	+	
Penicillium Spp.	−		+	20	+		++	25
Fusarium Spp.	+		++++	55	+		+	
Mucor Spp.	−		+		−		+	
Rhizopus Spp.	−		+		−		+	
Alternaria alternata	+		++	17	+		+	12

Positive growth: يشير الى وجود الفطر.

Negative no growth: يشير الى عدم وجود الفطر.

++: نمو كثيف للفطر.

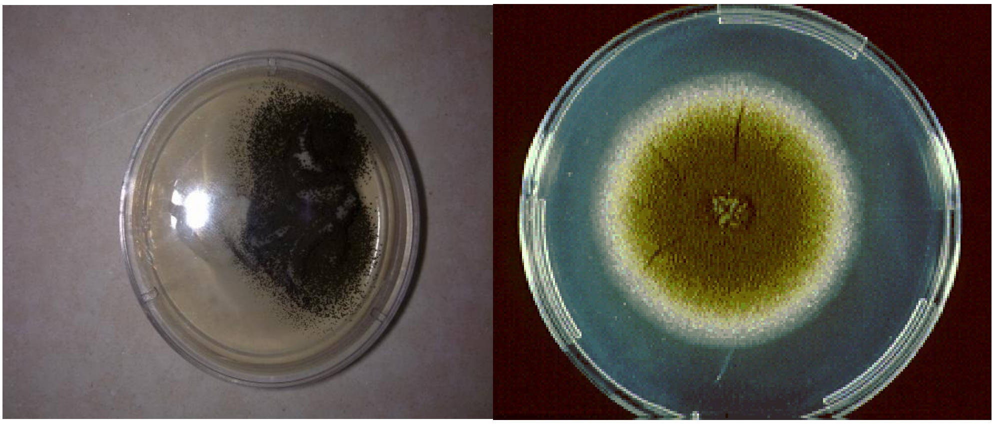
+++: نمو اكثر كثافة للفطر.

اما نتائج التحليل بتقانة الاليزا على مستخلصات مزارع ثمان عزلات من الفطر *Fusarium* Spp. وستة عزلات من الفطر *A. flavus* على وسط الرز كانت منتجة بتراكيز تراوحت من 135.5 الى 83.5 مايكروغرام/كغم من سم DON و14.3 الى 115 مايكروغرام/كغم من سم الافلا B1 للفطرين *Fusarium* Spp. و*A. flavus* لمنتوجي الاندومي والشيبس على التوالي.

جدول (2): تراكيز سم Doxynavinol (DON) وسم Aflatoxin B1 في وسط الرز.

اسم الفطر	رقم العزلة	تركيز DON مايكروغرام/كغم	تركيز AFB1 مايكروغرام/كغم
Fusarium Spp.	1	13.5	_
	2	92.1	_
	3	95.13	_
	4	110	_
	5	58.5	_
	6	84.9	_
	7	121.8	_
	8	134.5	_
A.fluvus	1	_	14.3
	2	_	115
	3	_	97.2
	4	_	81.9
	5	_	112.6
	6	_	96.4

ويدل وجود الفطريات في العينات المعقمة (الشكل , 1)على ان الاصابة داخلية.



Aspergillus niger ***Aspergillus flavus***

الشكل (1) : نمو الفطر *A. fluvus* و *A. niger* في العينات المعقمة.

تتفق هذه النتائج مع تلك التي وجدها (2) الذي أكد أن نسبة الإصابة بالفطر *Fusarium* بلغت 17.84% والفطر *Aspergillus* بلغت 75% والفطر *Penicillium* 4.8% و *Rhizopus* بنسبة 2%، كذلك تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليها(9؛ 4) ومع ما ذكرته دراسات سابقة، فقد أشارت (8) بأن أهم الفطريات المرافقة لحبوب الذرة الصفراء *Alternaria* و*Aspergillus* و*Fusarium* و*Mucor* و*Penicilium* و*Rhizopus* و*Trichoderma*، إذ بلغت نسبة الإصابة بالفطر *Aspergillus* 58% تليها الإصابة بالفطر *Fusarium* بنسبة 20.7% فضلاً عن الإصابة بالفطريات الأخرى، وقد يعود سبب ذلك إلى قابلية أنواع جنس *Aspergillus* على النمو في الأوساط الغذائية في مدى واسع من درجات الحرارة 12–48م وبمحتويات رطوبة منخفضة سواء كانت الرطوبة أثناء الحصاد أو عند الخزن (25) أو قابلية أنواع الجنس *Aspergillus* للنمو بمحتويات رطوبية تكون متوافرة عند حصاد المحاصيل أو في المخازن (1؛ 4)، بينما الفطر *Fusarium* فيحتل المرتبة الثانية بعد *Aspergillus* بنسب التكرار والذي يعود ذلك الى الظروف البيئية من درجة حرارة ورطوبة غير ملائمة لنمو الفطر *Fusarium* بالنمو في أوقات جمع العينات أو ما قبلها, كما بينت نتائج التحليل المناعي بتقانة الاليزا عزلات الفطر *Fusarium* Spp. المنتجة لسم DON التي تروحت بين 8.5 الى 134.5 مايكروغرام/ كغم، اما عزلات الفطر *Aspergillus flavus* المنتجة لسم AFB1 فقد تراوحت بين 14.3 الى 115 مايكروغرام/ كغم وهذه النتائج اتفقت مع ما توصل (5؛ 11).

يلاحظ ان تراكيز سموم DON وAFB1 في النتائج اعلاه قد تجاوزت الحد المسموح به في بعض العينات حسب ماتشير اليه ارقام التقييس والسيطرة النوعية في العراق لذا تعد منتجات الاندومي في هذة الحالة غير صالحه للأستهلاك البشري ناهيك عن البحوث التي تشير الى ان الملح الصيني المستعمل في اعداد الاندومي هو احد العناصر في هذا المنتوج الذي يؤدي الى حدوث امراض سرطانية حسب ما اشارت (7).

المصادر

1. الساعدي، هادي وشكير، علوان محمد. (2004). تقويم كيميائي واحيائي لفعالية اليوريا في معالجة كسبتي زهرة الشمس والقطن الملوثة بالافلاتوكسين B1. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة–جامعة بغداد.

2. الهيتي، اياد عبد الواحد. (1977). الفطريات التي تهاجم حاصل الذرة الصفراء في المخازن, تشخيصها، تاثيراتها، مقاومتها. رسالة ماجستير . كلية الزراعة. جامعة بغداد.

3. الهيتي، اياد عبد الواحد. (1992). السموم الفطرية المفهوم العام. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد.

4. الورشان، سالم حسن. (1999). استعمال بعض المدصات الكيميائية للحد من تلوث علائق الطيور الداجنة بالافلاتوكسين B1 . رسالة ماجستير. كلية الزراعة، جامعة بغداد.

5. الورشان، سالم حسن. (2006). مقارنة بعض المعززات الحياتية وممتزين في خفض الاثار السلبية للسم افلا B1 وتحسين الاداء الانتاجي لفروج اللحم. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة–جامعة بغداد.

6. اليونس، مؤيد احمد. (1993). انتاج وتحسين المحاصيل الحقلية. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

7. عبدالمجيد، امل. (2010). تأثير الملح الصيني المستخدم في انتاج الاندومي على الخلايا في الكائنات الحية ومدى قدرته على احداث السرطانات. جامعة الملك فيصل. المملكة العربية السعودية.

8. حسين، حليمة زغير. (2000). استعمال اليوريا في مقاومة فطريات ما بعد الجني وسمومها على الذرة الصفراء المخزونة. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

9. شهاب، احمد عباس. (1998). تلوث حاصل الذرة الصفراء بالسم فيومينيزين B1 المنتج من قبل الفطر *Fusarium moniliforme* رسالة ماجستير. كلية الزراعة، جامعة بغداد.

10. عبد الحميد، عبد الحميد محمد. (2000). الفطريات والسموم الفطرية. كلية الزراعة. جامعة المنصورة. مصر.

11. الحميري، ياسر ناصر حسين. (2007). التحري عن وجود السم (DON) Deoxynivalenol في حبوب الحنطة والذرة الصفراء وأمكانية اختزالة. رسالة ماجستير. كلية الزراعة، جامعة بغداد.

12. عبدالله، فتحي عبد. (2002). الكشف عن سموم الافلا B1, B2 وسم في الذرة الصفراء وبعض منتجاتها. رسالة ماجستير. كلية الزراعة، جامعة بغداد.

13. Booth, C. (1977). *Fusarium* Laboratory Guide to The Identification of The Meijer Species. Common Wealth Mycological Institute, Kew. Surgery, England.

14. Bullerman, L. B.; Schroeder, L. L.; Kun-young, P. (1984) Formation and control of mycotoxins in food. J. Food Prot. 47(8):637-645.

15. FAO. (1979). Prevention of Mycotoxins. No. 10

16. FAO. (1993). Sampling Plants for Aflatoxin Analysis in Peanuts and Corn.

17. FAO. (1999). Food, Nutrition and Agriculture. Prevention Mycotoxin Contamination. Minimizing Risks Posed by Mycotoxins Utilizing the HACCP Concept.

18. Ishii, K.; Sawano, M.; Ueno, Y. and Tsnnoda, H. (1974). Distribution of zearalenone producting *Fusarium* species in Japan. Appl. Microbial. 27: 625-628.

19. Lacey, j.; Bateman, G. L. and Mirocha, C. J. (1999). Effects of infection time and moisture on development of ear blight and deoxynivalenol production by *Fusarium spp*. In wheat. Ann. Appl. Biol. 134: 277-283.

20. Marth, E. H. (1967). Aflatoxins and other mycotoxins in agricultural products. J. Milk Food Technol. 30: 171-182.

21. Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). Occurrence of Mycotoxins and mycotoxin predicting fungi in Latin America. Food Addit. Contam. 13: 309-321.

22. Seifert, K. (1996). Fuskey (Fusarium Interactive Key) Agriculture and Agri-Food Canada. Cat No. A42-66/1996E-IN, ISBN 0-662-24111-8.

23. Scott, P. M. (1984). Industrial and Farm Detoxification Processes for Mycotoxins. International Symposium. Toulouse. France. 543-548.

24. Willians, J. H.; Phillips, T. D.; Jolly, P. E.; Styles, J. K.; Jolly, X. M.; and Aggurwall, D. (2004). Human Aflatoxicosis in developing Countries; review of Toxicology, exposure potential health. sequences and interventions. AM. J. Clin. Nut. 80: 1106-1122.

25. Maren, A. K. (2007). Environmental and development factors influencing aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* mycoscience. 48. 71-80.