نشریه آموزشی- پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی
شماره ۲۳، تابستان ۱۳۹۶
ص‌ص: ۳۵~۴۲

فعالیت ضد قارچی *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتیسی* سویه RS6 جداسازی شده از شیر شتر علیه *آسپرژیلوس فلاووس* مولد آفلاتوکسین

- **سمانه صدیقی‌خویدک** (نویسنده مسئول)
  دانشگاه اصفهان، گروه زیست شناسی
- **محمد ربانی‌خوراسگانی**
  دانشگاه اصفهان، گروه زیست شناسی
- **گیتی امتیازی**
  دانشگاه اصفهان، گروه زیست شناسی
- **محمد مظلوم‌اردکانی**
  دانشگاه یزد، دانشکده علوم، گروه شیمی
- **ایرج دلفانی**
  گروه زبان شناسی، دانشگاه پیام نور، یزد
- **ملیحه حاجی قاسمی**
  دانشگاه آزاد اسلامی واحد اشکذر، گروه زیست شناسی

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۳۵۸۴۸۱۵
Email: sedighi.samaneh@yahoo.com

چکیده:

در این مطالعه باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) از شیر شتر جداسازی شدند و فعالیت ضدقارچی آن‌ها در برابر قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* با روش‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، ٤ نمونه شیر شتر محلی جهت جداسازی باکتری‌های اسیدلاکتیک غربال‌گری شدند. اثرمهاری این جدایه‌ها با روش‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی اثر جدایه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک بر تولید زیست‌توده *آ.فلاووس* در محیط مایع MRS و تعیین فعالیت بازدارندگی آن‌ها علیه *آ.فلاووس* در محیط جامد PDA انجام گرفت. در نهایت جدایه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک که دارای فعالیت بازدارندگی خوبی در برابر رشد *آ.فلاووس* بودند با روش توالی‌یابی ١٦SrDNA شناسایی شدند. نتایج نشان دادند که یک جدایه باکتری‌های اسید لاکتیک دارای فعالیت بازدارندگی خوبی در برابر رشد *آ.فلاووس* مولد آفلاتوکسین بود. با روش توالی‌یابی ١٦SrDNA این سویه به‌عنوان *پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی سویه* RS6 شناسایی شد. نتایج نقش محافظتی شیر شتر را بیش از پیش نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: آسپرژیلوس فلاووس، باکتری‌های کومنسال (بی‌آزار)، بانک ژنی، پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی

Applied Animal Science Research Journal No 23 pp: 35-42

Antifungal Activity of Pediococcus Acidilactici Strain RS6 Iisolated from Camel Milk Against A-flatoxigenic Aspergillus flavus

By*:* Samaneh Sedighi-Khavidak[1], Mohammad Rabbani Khorasgani*,[1], Giti Emtiazi[1], Mohammad Mazloum-Ardakani[2], Iraj Delfani[3], Malihe Hajighasemi[4]
1: Department of Biology, University of Isfahan, P.O. Box:81746-73441, Isfahan, Iran
2: Department of Chemistry, Faculty of Science, Yazd University, Yazd 89195-741, Iran
3: Department of Literature and Foreign Languages of Payame Noor University (PNU), Yazd, Iran
4: Medical Biotechnology Research Center, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran.

In this study lactic acid bacteria (LAB) were isolated from the camel milk and their antifungal activity against *Aspergillus flavus* was investigated with several methods. For these purpose 4 samples of different camel milk were screened to isolate lactic acid bacteria. The inhibitory effect of these isolates was tested with several methods. The effect of the LAB isolates on biomass production of *A.flavus* in liquid MRS medium and determination of their inhibitory activity against *A.flavus* on solid PDA medium. Finally LAB isolates that have a good inhibitory activity against the growth of *A. flavus* were identified by 16s rDNA sequencing technique. The results indicated that one isolated LAB had good inhibitory activity against *A.flavus* growth. These strain of LAB were identified as *Pediococcus acidilactici* strain RS6 by 16s rDNA sequencing assay. The results indicate the bio-preservation role of the camel milk more than before.

Key words: Aspergillus flavus, Commensal bacteria (normal microflora), GenBank, Pediococcus acidilactici.

مقدمه

برخی از مهم‌ترین خواص درمانی شیر شتر شامل جلوگیری از دیابت، بهبود سیستم ایمنی بدن، تحریک گردش خون، درمان اوتیسم، کاهش واکنش‌های آلرژیک، رشد و نمو، محافظت در برابر بیماری‌های خود ایمنی خاص و افزایش سلامت قلب است(Mullaicharam, 2014). ویژگی‌های میکروبیوم شیر شتر نشان داده است که شیر شتر شامل طیف محدودی از باکتری‌های گرم مثبت است. در میان آن‌ها، باکتری‌های اسید لاکتیک[1] اغلب در این مایع زیستی شناسایی شده‌اند. باکتری‌اسیدلاکتیک به‌عنوان باکتری‌های امن[2]، علاوه بر اینکه جزء باکتری‌های کامنسال[3] هستند، دارای نقش مهمی در بسیاری از فعالیت‌های میزبان مانند محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا دارند (Barbosa, Borges and Teixeira, 2015; Fernández, *et al.*, 2013). اثر مهاری آن‌ها در برابر برخی از باکتری‌ها و قارچ‌ها از طریق مکانیسم‌هائی از جمله تولید اسیدهای آلی، پراکسیدهیدروژن، اسیدهای چرب، باکتریوسین‌ها، کاهش pH محیط و تحریک پاسخ ایمنی است (Inglin, *et al.*, 2015). باکتری‌های‌اسیدلاکتیک ها یک گروه گسترده از باکتری‌های میله‌ای گرم مثبت، کاتالاز منفی، معمولا غیرمتحرک و فاقد اسپور هستند که کربوهیدرات‌ها را تخمیر کرده و اسید لاکتیک را به‌عنوان محصول اصلی تخمیر تولید می‌کنند (Onilude, *et al.*, 2005). فساد قارچی مواد غذایی یکی از اصلی‌ترین عوامل مخاطرات مواد غذایی و ایجاد خسارات اقتصادی در همه جهان است (Cheong, *et al.*, 2014). قارچ‌های تولیدکننده سم مانند قارچ *آ.فلاووس*[4] از نگرانی‌های عمده ایمنی مواد غذایی هستند و نقش بسیار مهمی در فساد مواد غذایی و کاهش کیفیت مواد غذایی ارائه شده در بازار دارند (Divakara, *et al.*, 2015). *آ. فلاووس* یکی از مهم‌ترین قارچ‌های تولیدکننده سم آفلاتوکسین است (Reddy, *et al.*, 2010; Sardiñas, *et al.*, 2011). آفلاتوکسین تاکنون جزء

[1] Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB)

[2] **G**enerally recognized as safe (GRAS)
Commensal bacteria (normal microflora)

[3] باکتری‌ها کومنسال
(بی‌آزار) فلور طبیعی بدن

[4] *Aspergill flavus*

سمی‌ترین مواد شناخته شده است (Paniel, Radoi, and Marty, 2010). در بهداشت عمومی، آفلاتوکسین یک مشکل جدی در سراسر جهان است. آفلاتوکسین برای جانوران و انسان سمی است و باعث تغییرات ژنتیکی و سرطان‌زایی می‌شود و می‌تواند انواع تومورها و دیگر مشکلات جدی را برای سلامتی ایجاد کند (Aryantha and Lunggani, 2007; Onilude, *et al.*, 2005; Scherm, *et al.*, 2005). تحقیقات متعددی در مورد مهار قارچ ها توسط باکتری‌های اسید لاکتیک انجام شده است (Bianchini, 2015; Oliveira, Brosnan, Furey, *et al.*, 2015; Oliveira, Brosnan, *et al.*, 2015). اما این مطالعه به‌منظور بررسی قابلیت باکتری‌های اسید لاکتیک های جدا شده از شیر شتر در مهار رشد *آ. فلاووس* انجام شد.

مواد و روش‌ها:

جداسازی باکتری‌های‌اسیدلاکتیک (باکتری‌های اسیدلاکتیک) و شناسایی آن‌ها به‌وسیله آزمایش‌های بیوشیمیایی

در این مطالعه، باکتری‌های‌اسیدلاکتیک از ۴ نمونه شیر شتر بومی یزد جداسازی شدند. برای جداسازی باکتری‌های‌اسیدلاکتیک، نمونه‌های رقیق شده در محیط MRS براث[5] pH ۶/۵ در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. سپس باکتری‌های غنی شده بر روی محیط کشت MRS آگار کشت داده شدند. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی گرماگذاری شدند. برای جداسازی باکتری‌های‌اسیدلاکتیک دارای فعالیت ضدقارچی علیه *آ.فلاوس*، پلیت‌های کشت داده شده MRS آگار فوق، با محیط کشت نیمه‌جامد عصاره مالت (۰/۷ درصد) حاوی 10^5 × ۵ اسپور *آ. فلاووس* در هر میلی‌لیتر پوشانده شدند. پلیت‌های دارای آگار دو لایه مجدداً به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در شرایط هوازی گرماگذاری شدند. کلنی‌های باکتریایی که مانع رشد قارچ شده بودند و اطراف آن‌ها منطقه مهار رشد دیده شده بود، برای مطالعات بعدی انتخاب شدند (Kim, 2005; Onilude, *et al.*, 2005).

باکتری‌های اسید لاکتیک جداسازی شده به‌وسیله آزمایش‌های بیوشیمیائی شناسایی شدند. آزمون‌های انجام گرفته جهت شناسایی جدایه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک شامل رنگ‌آمیزی گرم، بررسی مورفولوژی کلنی‌ها و سلول‌ها، آزمون کاتالاز، رنگ‌آمیزی اسپور، آزمون حرکت، بررسی رشد در ۱۵°C و ۴۵°C بود (Onilude, *et al.*, 2005).

اثر جدایه‌های باکتری‌های‌اسیدلاکتیک بر روی تولید بیومس[6] قارچی در محیط مایع MRS

این روش به‌منظور بررسی اثر مهاری هرکدام از جدایه‌ها بر روی تولید بیومس *آ.فلاووس* انجام شد. بدین منظور، کشت تازه‌ای از هرکدام از جدایه‌ها در محیط مایع MRS تهیه شد تا این‌که میزان جذب نوری محیط‌های کشت به‌طول موج ۶۲۰ نانومتر به ۰/۸رسید (A_{620nm}=۰/۸). ۱۰۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هرکدام از جدایه‌ها با ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون حاوی 10^5 × ۵ اسپور *آ.فلاووس* در لوله‌های حاوی ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع MRS مخلوط شدند. این محیط‌های کشت به‌مدت ده روز در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. یک لوله حاوی ۱۵میلی‌لیتر محیط مایع MRS و ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور *آ.فلاووس* به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد. به‌منظور تعیین میزان بیومس قارچی تولید شده در حضور هرکدام از جدایه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک، ابتدا محیط‌های کشت هرکدام از لوله‌های آزمایش به‌وسیله کاغذ فیلتر (واتمن شماره ۱) فیلتر شدند. میسلیوم‌های قارچی جداسازی شده با محلول اتیل استات شستشو داده شدند و در آون در دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شدند. سپس وزن خشک هرکدام از بیومس‌های قارچی محاسبه شد (Kim, 2005).

تعیین فعالیت مهاری جدایه‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک بر روی *آ. فلاووس* در محیط جامد PDA[7]

برای انجام این روش، ۲۰۰ میکرولیتر از کشت تازه از هرکدام از جدایه‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک با ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA پورپلیت[8] شدند و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت گرماگذاری شدند. از طرف دیگر، بر روی پلیت محیط PDA حاوی کشت تازه از *آ.فلاووس* برش‌هایی به ابعاد

[5] De man, rogosa and sharpe agar (MRS), lactobacilli MRS broth

[6] زیست توده یا بیومس (Biomass)

[7] محیط کشت دکستروز پوتیتوآگار Potato Dextrose Agar (PDA) (Eur.pharm) یک محیط کشت عمومی برای رشد بیشتر قارچ هاست و اکثر قارچ ها می توانند بروی آن رشد کنند

[8] شمارش باکتری به روش غیرمستقیم یا **pour plate counte**

فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی

۰/۵×۰/۵سانتی‌متر ایجاد شد و در مرکز پلیت PDA حاوی جدایه‌های باکتری اسیدلاکتیک قرار داده شد. در نهایت تمامی پلیت‌ها به‌مدت یک هفته در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. در این مدت قطر کلنی *آ.فلاووس* اندازه‌گیری شد. تا این‌که میزان رشد خطی[9] کلنی *آ.فلاووس* در حضور جدایه‌های مختلف باکتری اسیدلاکتیک تخمین زده شود. یک پلیت از محیط PDA فاقد باکتری اسید لاکتیک به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد (Kim, 2005).

شناسایی جدایه‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک

برای شناسایی جدایه‌های باکتری اسیدلاکتیک از روش تعیین توالی قسمتی از ۱۶srDNA استفاده شد. به‌طور خلاصه، ابتدا تقریباً ۱۴۰۰bp از ۱۶s rDNA با روش PCR[10] تکثیر شد و سپس تکنیک تعیین توالی انجام شد (Cheong et al., 2014; Kim, 2005). برای استخراج DNA از جدایه‌های باکتری‌های‌اسیدلاکتیک از کیت استخراج DNA شرکت سیناژن[11] استفاده شد. توالی پرایمرهای مستقیم و معکوس به‌شرح زیر بود:

۲۷ F(5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′)

۱۴۹۲ R(5′- GGTTACCTTGTTACGACTT-3′)

در مرحله واسرشتگی اولیه DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با شرایط زیر در دستگاه ترموسایکلر[12] انجام گرفت، دمای ۹۵ درجه سلسیوس در مدت زمان ۵ دقیقه درنظر گرفته شد. طی مرحله واسرشتگی DNA ، در هر چرخه نیز دما ۹۴ درجه سلسیوس و زمان ۹۰ ثانیه انتخاب گردید. هم‌چنین در مرحله اتصال پرایمرها به DNA الگو، با توجه به نقطه ذوب پرایمرها دمای ۵۵ درجه سلسیوس و زمان ۶۰ ثانیه درنظر گرفته شد. در مرحله سنتز DNA دمای ۷۲ درجه سلسیوس و زمان ۹۰ ثانیه اعمال گردید و درنهایت برای مرحله تکمیل سنتز DNA دمای ۷۲ درجه به‌مدت ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد.

محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد با ولتاژ ۷۰ ولت الکتروفورز شد. برای مشاهده باندهای DNA، پس از رنگ‌آمیزی ژل با رنگ اتیدیوم بروماید[13]، ژل در داخل دستگاه ژل‌داک[14] قرار داده شد. در اثر برخورد نور UV به ژل، باندهای DNA مشاهده گردید.

نمونه‌های محصول PCR جهت تعیین توالی به شرکت st-base[15] کشور مالزی ارسال شد. پس از تعیین توالی نوکلئوتیدی ژن‌های ۱۶srDNA توسط شرکت مذکور، نتایج تعیین توالی توسط نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی (chromas,edit sequence, DNA man) ویرایش شد و طول این توالی که در حدود ۱۵۰۰bp بود به نرم‌افزار[16] Blast داده شد و بدین‌ترتیب درصد شباهت توالی مربوطه با توالی‌های ثبت شده در پایگاه داده مقایسه شد (BLAST, 2015) .

▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪

[9] linear growth

[10] Polymerase chain reaction (PCR)

[11] http://betagen.ir/index.php/mataleb/252-cinnagenkit. مشهد خیابان دانشگاه ۲۳، کدپستی: ۹۱۳۸۸۱۳۶۵۴

[12] دستگاه pcr (دستگاه ترمال سایکلر TPN-25 یا **سیستم چرخه دمایی**) **- شرکت دانشبنیان پدیده نوژن پارس** http://pnojen.paramed.ir

[13] Ethidium bromide

[14] دستگاه ژل داک Gel documentation system (Gel doc or Gel Imager) مدل Compact Pro ساخت ATP /http://paramed.ir

[15] First BASE Laboratories Sdn Bhd. 7-3, Jalan SP 2/7, Taman Serdang Perdana, 43300 Seri Kembangan, Selangor, Malaysia. *www.base-asia.com*

[16] Basic local alignment search tool (*BLAST*) .http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST

فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی

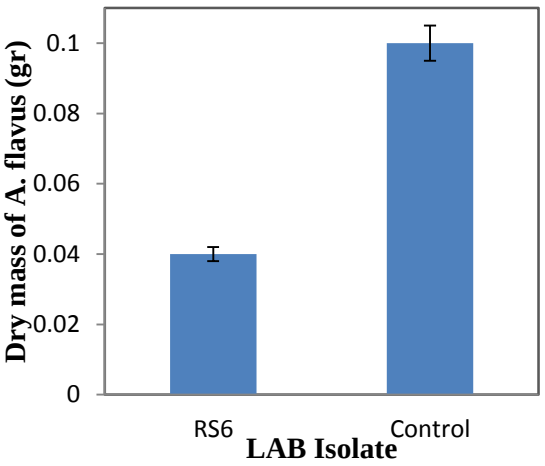
نتایج

چهار جدایه باکتری اسیدلاکتیک از شیر شتر جداسازی شدند. در بین آن‌ها، یک جدایه دارای فعالیت ضدقارچی خوبی علیه *آ.فلاووس* بود و برای این مطالعه انتخاب شد. این جدایه RS6 نام‌گذاری شد. نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی برای این جدایه‌ها در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- ویژگی‌های جدایه‌های باکتری اسیدلاکتیک دارای فعالیت ضدقارچی

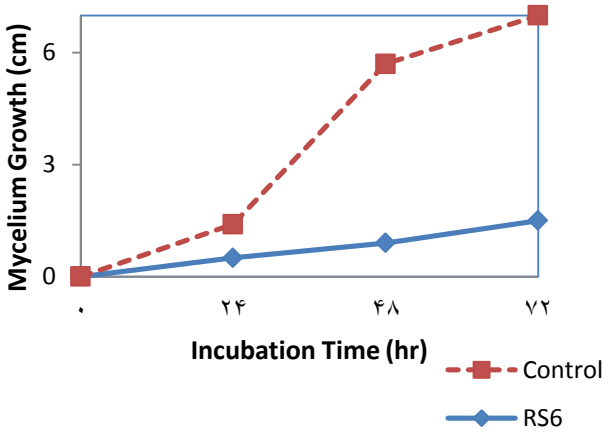
رشد در C ۴۵°	رشد در C ۱۵°	حرکت	تشکیل اسپور	کاتالاز	واکنش گرم	شکل	سویه
+	+	–	–	–	+	Cocci	RS6

وزن خشک *آ.فلاووس* در محیط کشت مایع MRS حاوی جدایه RS6 در نمودار ۱ نشان داده شده است. در این آزمایش از محیط کشت *آ.فلاووس* در محیط کشت مایع MRS بدون حضور جدایه‌های باکتری اسید لاکتیک به‌عنوان کنترل استفاده شد. افزایش بیومس قارچی در محیط کشت حاوی RS6 بعد از ۷۲ ساعت بسیار کمتر از نمونه کنترل بود. ۶۰ درصد کاهش بیومس قارچی در حضور جدایه RS6 مشاهده شد.



نمودار ۱- اثر جدایه RS6 بر روی تولید بیومس *آ.فلاووس* در محیط مایع MRS

جدایه انتخابی باکتری‌های اسید لاکتیک در محیط کشت مشترک PDA ، قادر به مهار رشد *آ.فلاووس* بود. نتایج در نمودار ۲ نشان داده شده است. جدایه RS6 در محیط کشت PDA، منجر به کاهش درصد رشد میسلیوم های قارچی به میزان ۵۹ درصد بعد از ۲۴ ساعت، ۸۳ درصد بعد از ۴۸ ساعت و ۸۵ درصد بعد از ۷۲ ساعت شد.



نمودار ۲- رشد میسلیوم قارچی در محیط کشت PDA در حضور جدایه‌های باکتری اسیدلاکتیک

تشخیص مولکولی سویه‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک و ثبت سویه در بانک ژنی

قسمتی از ژن ۱۶s rDNA جدایه RS6 توالی‌یابی شد. سپس در پایگاه‌های داده برای تشخیص گونه این جدایه جستجو انجام شد. توالی ۱۶ s rDNA جدایه RS6 با توالی باکتری اسید لاکتیک

Pediococcus acidilactici ۹۷ درصد شباهت داشت.

توالی‌های ژن ۱۶s rDNA این جدایه در بانک ژنی (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/WebSub/?tool=genbank) با استفاده از نرم‌افزار آن لاین ثبت سویه (GenBank: BankIt) با نام علمی Pediococcus acidilactici strain RS6 ثبت شد. شماره ثبت این سویه در بانک ژنی KX611574 است.

بحث و نتیجه‌گیری

قارچ *آ.فلاووس* یکی از علل عمده فساد قارچی مواد غذایی با خطرات مهم برای سلامت انسان و حیوان است. بنابراین، پیشگیری و کنترل رشد آن در حفاظت زیستی مواد غذایی اهمیت دارد (Dalié, Deschamps and Richard-forget, 2010). در این مطالعه اثر حفاظت زیستی باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از شیر شتر در برابر *آ.فلاووس* سمی بررسی شد. سویه RS6 در محیط کشت دوتایی، توانایی بازدارنده در مقابل رشد میسلیوم قارچ در محیط کشت PDA جامد و MRS مایع از خود نشان داد.

نتایج شناسایی مشخص کرد که این سویه جدا شده متعلق به خانواده *لاکتوباسیلاسه* است. *پ.اسیدی لاکتیسی*[17] از کوکسی‌های گرم مثبت است که معمولاً به صورت جفت یا تتراد[18] شناسایی شده است. این باکتری جور تخمیر است و می‌تواند در یک طیف گسترده از شرایط فیزیولوژیکی مختلف رشد کند و قادر به کلونیزه شدن در دستگاه گوارش است (Klaenhammer, 1993). *پ. اسیدی لاکتیسی* توسط سازمان ایمنی مواد غذایی اروپا[19] به‌عنوان باکتری امن و واجد شرایط ایمنی[20] در نظر گرفته شده است (EFSA Panel, 2012). این باکتری موجب بهبود تغذیه و رشد میزبان می‌شود. *پ.اسیدی لاکتیسی* با ترشح اسیدهای آلی و کاهش سطح pH مانع از رشد برخی از عوامل بیماری‌زا می‌شود (Mandal, Kumar Sen and Mandal, 2013).

مندال و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که *P.acidilactici* LAB 5 را جداسازی کرده‌اند که قادر به تولید طیف گسترده‌ای از مواد ضدقارچی خاص است. ترکیبات فعال مسئول فعالیت ضدقارچی این باکتری، اسید لاکتیک و یک ماده ناشناخته با جرم مولکولی ۸۳ بود. از این ترکیبات می‌توان در غذای انسان و حیوانات به‌منظور مقابله با برخی از پاتوژن‌های قارچی استفاده کرد (Mandal, Kumar Sen and Mandal, 2013). خدید و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که *پ.اسیدی لاکتیسی* را از شیر شتر در مراکش جداسازی کردند (Khedid, *et al.*, 2009). *پ.اسیدی لاکتیسی* برای میزبان خود اثر مفید دارد و موجب تحریک سیستم ایمنی بدن می‌شود. پروبیوتیک *پ.اسیدی لاکتیسی* نشان داده شده است که با رقابت برای مکان‌های اتصال و تولید مقدار زیادی از باکتریوسین‌ها، اثر هم‌افزایی و یا متضاد با بقیه میکروارگانیسم‌ها دارد (Anderson, 2013).

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان و مرکز تحقیقات زیست‌فناوری پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اشکذر که در انجام این تحقیق ما را یاری دادند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

---

[17] *P.acidilactici*

[18] جفت کروموزوم‌های هم‌ساخت را بی‌والانت یا تتراد (tetrade) می‌گویند.

[19] European Food Safety Authority(EFSA)

[20] Qualified presumption of safety(QPS)

منابع

Anderson, A. (2013). The effect of the probiotic *pediococcus acidilactici* on the gut microbiota ecology of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum) analysed using DGGE. The Plymouth Student Scientist, 6(1): 86–103.

Aryantha, N. P. and Lunggani, A. T. (2007). Suppression on the aflatoxin - B production and the growth of *aspergillus flavus* by lactic acid bacteria. Biotechnology, 6, 257–262.

Barbosa, J., Borges, S. and Teixeira, P. (2015). Pediococcus acidilactici as a potential probiotic to be used in food industry. International Journal of Food Science and Technology, 50, 1151–1157.

Bianchini, A. (2015). Lactic acid bacteria as antifungal agents. In advances in fermented foods and beverages. Elsevier Ltd. http://doi.org/10.1016/B978-1-78242-015-6.00014-1. (pp. 333–353).

Basic local alignment search tool (BLAST). 2015. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST.

Cheong, E. Y. L., Sandhu, A., Jayabalan, J., Thi, T., Le, K. and Turner, M. S. (2014). Isolation of lactic acid bacteria with antifungal activity against the common cheese spoilage mould Penicillium commune and their potential as biopreservatives in cheese. Food Control, 46: 91–97.

Dalié, D. K. D., Deschamps, A. M. and Richard-forget, F. (2010). Lactic acid bacteria – potential for control of mould growth and mycotoxins : a review. Food Control, 21(4): 370–380.

Divakara, S. T., Aiyaz, M., Moore, G. G., Venkataramana, M., Hariprasad, P., Nayaka, S. C. and Niranjana, S. R. (2015). Analysis of genetic and aflatoxin diversity among Aspergillus flavus isolates collected from sorghum seeds. Journal of Basic Microbiology, 55(11):1255–1264.

EFSA Panel. (2012). Scientific opinion on the safety and efficacy of Pediococcus acidilactici (CNCM I-3237, CNCM MA 18 / 5M — DSM 11673) and Pediococcus pentosaceus (DSM 23376, NCIMB 12455 , NCIMB 30237 and NCIMB 30168) as silage additives for all species. European Food Safety Authority (EFSA) Journal, 10(6).

Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R., and Rodríguez, J. M. (2013). The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. Pharmacological Research, 69(1): 1–10.

Inglin, R. C., Stevens, M. J. A., Meile, L., Lacroix, C., and Meile, L. (2015). High-throughput screening assays for antibacterial and antifungal activities of Lactobacillus species. Journal of Microbiological Methods, 114: 26–29.

Khedid, K., Faid, M., Mokhtari, A., Soulaymani, A., and Zinedine, A. (2009). Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. Microbiological Research, 164: 81–89.

Kim, J. (2005). Antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from kimchi against Aspergillus fumigatus. Mycobiology, 33(4):210–214.

Klaenhammer, T. R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Microbiology Reviews, 12(1–3): 39–85.

Mandal, V., Kumar Sen, S., and Mandal, N. (2013). Production and partial characterisation of an inducer-dependent novel antifungal compound (s) by *pediococcus acidilactici* LAB 5 Vivekananda Mandal , a Sukanta Kumar Sen b. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(10):2445–2453.

Mullaicharam, A. R. (2014). A review on medicinal properties of camel milk. World Journal of Pharmaceutical Sciences, 2(3):237–242.

Oliveira, P., Brosnan, B., Furey, A., Coffey, A., Zannini, E., and Arendt, E. K. (2015). Lactic acid bacteria bioprotection applied to the malting process . Part I : strain characterization and identification of antifungal compounds. Food Control, 51:433–443.

Oliveira, P., Brosnan, B., Jacob, F., Furey, A., Coffey, A., Zannini, E., and Arendt, E. K. (2015). Lactic acid bacteria bioprotection applied to the malting process . Part II : substrate impact and mycotoxin reduction. Food Control, 51: 444–452.

Onilude, A. A., Fagade, O. E., Bello, M. M., and Fadahunsi, I. F. (2005). Inhibition of aflatoxin-producing aspergilli by lactic acid bacteria isolates from indigenously fermented cereal gruels. African Journal of Biotechnology, 4(12):1404–1408.

Paniel, N., Radoi, A., and Marty, J. (2010). Development of an electrochemical biosensor for the detection of Aflatoxin M1 in Milk. Sensors, 10: 9439–9448.

Reddy, K. R. N., Farhana, N. I., Salleh, B., and Oliveira, C. A. F. (2010). Microbiological control of mycotoxins: present status and future concerns. In A. Mendez-Vilas (Ed.), Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology Badajoz, Spain: Formatex Research Center. (pp. 1078–1086).

Sardiñas, N., Vázquez, C., Gil-Serna, J., González-Jaén, M. T., and Patiño, B. (2011). Specific detection and quantification of Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus in wheat flour by SYBR® green quantitative PCR. International Journal of Food Microbiology, 145(1): 121–125.

Scherm, B., Palomba, M., Serra, D., Marcello, A., and Migheli, Q. (2005). Detection of transcripts of the aflatoxin genes aflD, aflO, and aflP by reverse transcription-polymerase chain reaction allows differentiation of aflatoxin-producing and non-producing isolates of Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus. International Journal of Food Microbiology, 98(2): 201–210.