

## تعیین میزان آلودگی قارچی خوراک طیور و اجزاء آن در مرغداری‌های گوشتی تربت حیدریه، استان خراسان رضوی، ایران

زهرا صالحان<sup>۱</sup>، سمانه عیدی<sup>۲\*</sup>، محمد محسن زاده<sup>۲</sup>، محمد عزیز زاده<sup>۲</sup>

۱) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران  
۲) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران  
۳) گروه بهداشت مواد غذایی و آیزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران  
۴) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(دریافت مقاله: ۲۹ خرداد ماه ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۸ شهریور ماه ۱۳۹۶)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** خوراک آلوده طیور می‌تواند منجر به از دست رفتن مواد مغذی و اثرات مضر بروی تولیدات طیور و سلامت عمومی گردد. **هدف:** این تحقیق آلودگی قارچی موجود در خوراک طیور و اجزای آن را در مرغداری‌های گوشتی شهرستان تربت حیدریه مورد بررسی قرار داد. **روش کار:** از سه نوع خوراک مختلف، تعداد ۲۴۰ نمونه جمع آوری شد. بعد از آماده سازی نمونه‌ها رقت‌های متوالی تهیه گردید و مقدار ml ۰/۱ از هر رقت در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل کشت داده شد و در دمای ۲۷°C به مدت یک هفته انکوبه شدند. پرگنه‌های قارچی موجود در هر محیط کشت شمارش گردیدند. تشخیص قارچ‌ها بر مبنای خصوصیات مورفولوژیک ماکروسکوپی و میکروسکوپی انجام گرفت. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. **نتایج:** از ۲۴۰ نمونه جمع آوری شده ۲۰۵ نمونه (۸۵/۱۴٪) آلوده به قارچ بودند که بیشترین میزان آلودگی قارچی در نمونه‌های ذرت (۳۲/۵٪) و پس از آن در سویا (۲۹/۱۶٪) و خوراک کامل (۲۳/۷۵٪) مشاهده گردید. فوزاریوم (۴۱/۳٪)، پنی سیلیوم (۳۷/۹٪)، کلادوسپوریوم (۲۱/۳٪)، پسیلومایسس (۱۷/۱٪)، اسپریژیلوس فومیگاتوس (۱۳/۳٪)، اسپریژیلوس نیجر (۱۲/۹٪) و مخمرها (۱۲/۹٪) به ترتیب فراوان ترین قارچ‌های جدا شده از نمونه‌ها بودند. فراوانی قارچ‌های با توان بالقوه توکسین زایی نسبت به قارچ‌های غیر توکسین زا اختلاف معنی‌داری داشت (p > ۰/۰۰۱). میانگین شمارش کلی قارچ‌ها CFU/g  $10^5 \times 2/9$  بود. نتیجه‌گیری نهایی: یافته‌های این پژوهش، شیوع بالای آلودگی قارچی و همینطور فراوانی زیاد قارچ‌های توکسین زا را در خوراک طیور نشان داد. بنابراین مواد خام خوراک عامل مهمی برای ورود آلودگی قارچی بوده و رشد قارچ‌ها باعث کاهش ارزش غذایی خوراک مصرفی می‌شوند لذا برنامه ریزی جهت کنترل و حذف آن‌ها از جیره توصیه می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** خوراک طیور، آلودگی قارچی، فوزاریوم، اسپریژیلوس، پنی سیلیوم

### مقدمه

برخی از قارچ‌ها بر روی جیره‌های غذایی طبیعی بوده و در صورت عدم رشد بی‌رویه، خطرات بهداشتی به دنبال ندارند ولی برخی از قارچ‌ها که موسوم به قارچ‌های توکسین زا می‌باشند از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (۱۹).

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها با وزن مولکولی کم هستند که اثرات بیولوژیک و توکسیکولوژیک متنوعی در سلول‌های بدن دام و انسان دارند که شامل عوارض حاد و مزمن اولیه و ثانویه، سرطان زایی، جهش زایی، ناقص الخلقه زایی، مسمومیت کبدی، مسمومیت کلیوی، مسمومیت عصبی، مسمومیت پوستی و مهار سیستم ایمنی می‌باشند (۱۳، ۳۳). در بین حیوانات مزرعه، طیور حساس‌ترین گونه حیوانی به اثرات سمی ناشی از حتی مقادیر کم مایکوتوکسین می‌باشند. گرچه به علت طول عمر کوتاه طیور ابتلاء به سرطان در آن‌ها دیده نمی‌شود ولی اختلالات مرتبط با مایکوتوکسین‌ها بر سلامت آن‌ها تأثیر می‌گذارد. بسته به مقدار و زمان مواجهه با مایکوتوکسین، علائمی همچون بی‌اشتهایی و رشد ضعیف پرنده، کاهش مصرف غذا، کاهش تولید تخم مرغ و افزایش مرگ و میر مشاهده می‌شود (۱۷). مایکوتوکسین‌ها به طور طبیعی در شرایط فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی مناسب و به طور کلی توسط قارچ‌های

یکی از اصول مهم در کنترل بیماری‌ها، بهداشت و کنترل آلودگی‌های خوراک دام و طیور می‌باشد که بیش از ۸۰٪ هزینه‌های واحد پرورش را تشکیل می‌دهد. خوراک یا به صورت مستقیم در حیوان ایجاد بیماری می‌کند و یا اینکه زمینه مناسب برای بروز سایر بیماری‌ها در حیوان می‌شود. همچنین خوراک می‌تواند با ایجاد آلودگی در چرخه تولید غذای انسان، باعث ایجاد بیماری در انسان گردند. لذا به منظور تولید غذای سالم برای انسان، باید عوامل بیماری‌زا از ابتدای چرخه تولید غذا کنترل گردد (۱۱).

کیفیت خوراک دام و طیور برای نگهداری عملکرد فیزیولوژیکی و سیستم دفاعی حیوان علیه بیماری‌ها ضروری می‌باشد. کیفیت خوراک بر اساس ارزش غذایی هر جزء تشکیل دهنده آن مشخص می‌شود (۲۶). مواد اولیه‌ای که جهت تأمین جیره غذایی دام و طیور از مکان‌های مختلف تهیه می‌گردد امکان انتقال آلودگی و مشکلات مختلف را برای دامداری به همراه خود دارد. یکی از این مشکلات قارچ‌ها و مایکوتوکسین‌های تولیدی توسط آن‌ها می‌باشد. مطالعات گسترده‌ای بر روی حضور عوامل قارچی موجود در جیره‌های غذایی مختلف صورت گرفته است؛ به طوریکه حضور



مشخصات آن‌ها ثبت گردید و با توجه به خصوصیات مورفولوژیک ریزینی بویژه دستگاه زایشی، مورد شناسایی قرار گرفتند. همچنین در برخی موارد برای تشخیص قطعی قارچ‌ها از روش اسلاید کالچر استفاده شد.

**آنالیز آماری:** کلیه نتایج بدست آمده با نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ آنالیز گردید. درصد (نسبت) آلودگی به انواع قارچ‌ها در نمونه‌های غذایی مختلف و به تفکیک فصول مختلف گزارش شد. جهت بررسی اثر فصل و نوع ماده غذایی بر شانس آلودگی به هر یک از قارچ‌های مورد بررسی از روش رگرسیون لجستیک استفاده شد. در تمام مدل‌ها علاوه بر فصل و نوع ماده غذایی گله نیز به عنوان متغیر تصادفی وارد شد.

برای مقایسه آلودگی خوراک‌های مختلف به قارچ‌های توکسین زا و غیر توکسین زا از تست Chi-Square استفاده شد. مقادیر  $p < 0.05$  معنی دار می‌باشد.

## نتایج

نتایج حاصل از بررسی میزان آلودگی سه نوع خوراک به قارچ‌ها در ده مرغداری گوشتی واقع در شهرستان تربت حیدریه نشان داد که از ۲۴۰ نمونه مورد بررسی ۲۰۵ نمونه (۸۵/۴۱٪) آلودگی قارچی (آلودگی به حداقل یک گونه قارچ) داشتند (جدول ۱).

فراوان ترین قارچ هایی که از نمونه‌های خوراک جدا گردید به ترتیب شامل فوزاریوم (۴۱/۳٪)، پنی سیلیوم (۳۷/۹٪)، کلادوسپوریوم (۲۱/۳٪)، پسیلومایسس (۱۷/۱٪)، اسپریژیلوس فومیگاتوس (۱۳/۳٪)، اسپریژیلوس نیجر (۱۲/۹٪) و مخمرها (۱۲/۹٪) بودند.

نتایج بدست آمده از جدول یک نشان می‌دهد که از ۸۰ نمونه جمع آوری شده برای هر خوراک، ۷۸ نمونه ذرت (۹۷/۵٪)، ۷۰ نمونه سویا (۸۷/۵٪) و ۵۷ نمونه دان آماده (۷۱/۲۵٪) آلودگی قارچی داشتند. فراوان ترین قارچ‌های جدا شده از نمونه‌های ذرت به ترتیب شامل پنی سیلیوم (۶۸/۸٪)، فوزاریوم (۶۱/۳٪)، پسیلومایسس (۳۳/۸٪)، کلادوسپوریوم (۲۵٪) و اسپریژیلوس فومیگاتوس (۲۰٪) بود. همچنین بیشترین قارچ‌های جدا شده از نمونه‌های سویا شامل فوزاریوم (۳۵٪)، کلادوسپوریوم (۲۸/۸٪)، اسپریژیلوس نیجر (۲۱/۳٪) و پنی سیلیوم (۱۶/۳٪) بود؛ در حالیکه پنی سیلیوم (۲۸/۳٪)، فوزاریوم (۲۷/۵٪)، اسپریژیلوس فومیگاتوس (۱۳/۸٪) و مخمرها (۱۲/۵٪) به ترتیب فراوان ترین قارچ‌های جدا شده از نمونه‌های دان آماده بودند (تصویر ۱).

نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر در ارتباط با آلودگی خوراک در فصول مختلف نشان داد که از ۶۰ نمونه جمع آوری شده در هر فصل، ۱۰۰٪ نمونه‌های فصل بهار (تمام ۶۰ نمونه) آلوده به قارچ بودند؛ در حالیکه ۹۵٪ نمونه‌های فصل زمستان (۵۷ نمونه)، ۸۳/۳۳٪ نمونه‌های فصل پاییز (۵۰ نمونه) و ۶۳/۳۳٪ نمونه‌های فصل تابستان (۳۸ نمونه) آلودگی قارچی داشتند (جدول ۱).

متعلق به سه جنس اسپریژیلوس، پنی سیلیوم و فوزاریوم در غلات و علوفه قبل، حین و بعد از برداشت طی خشک کردن و ذخیره سازی در شرایط مساعد محیطی تولید می‌شوند (۲۳)

سالانه یک چهارم محصولات تولید شده، تحت تأثیر سموم قارچی قرار می‌گیرند که بهداشت عمومی، امنیت غذایی و اقتصاد ملی بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۳). ضررهای ناشی از این سموم تنها به کاهش در تولید محصولات دامی و کشاورزی خلاصه نمی‌شود بلکه با توجه به هزینه اجرای برنامه‌های کنترلی مربوط به سموم قارچی، هزینه‌های عمومی کلانی را بر جامعه تحمیل می‌کنند با توجه به اینکه در حال حاضر پیشگیری و خنثی کردن این سموم در خوراک حیوان و انسان از مسائل مهم مورد توجه اکثر صنایع غذایی دنیا می‌باشد لذا بررسی خوراک دام و طیور از لحاظ آلودگی به انواع قارچ‌ها حائز اهمیت می‌باشد. بدین منظور، مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان آلودگی قارچی خوراک آماده و اجزاء آن در تعدادی از مرغداری‌های گوشتی در شهرستان تربت حیدریه انجام گرفت.

## مواد و روش کار

**روش نمونه برداری:** در این پژوهش ۲۴۰ نمونه از سه نوع خوراک مختلف (شامل خوراک آماده طیور، ذرت و سویا) در چهار فصل و هر فصل دوبار از ۱۰ مرغداری گوشتی شهرستان تربت حیدریه مطابق استاندارد ملی شماره ۷۵۷۰ جمع آوری گردید (۱۴). کلیه نمونه‌های جمع آوری شده تحت شرایط استریل و کنار یخ ( $4^{\circ}\text{C}$ ) به آزمایشگاه منتقل گردیدند. نمونه‌ها با آسیاب کاملاً خرد شده و در کیسه‌های پلاستیکی استریل تا زمان آزمایش در  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند.

**روش کشت:** ۱۰ گ از هر نمونه را با ۹۰ ml محلول رینگر در بگ میکسر ۴۰۰ (شرکت Interscience، فرانسه) به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۷ کاملاً هموزن گردید و بعد از آن به مدت یک ساعت در دمای محیط به صورت ساکن گذاشته شدند. سپس رقت‌های متوالی از ۱۰-۱ تا ۱-۰ تهیه گردید و از هر کدام مقدار ۰/۱ ml روی محیط کشت استریل سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) حاوی کلرامفنیکل با میله شیشه‌ای استریل L پخش نموده و بعد از خشک شدن سطح محیط در  $27^{\circ}\text{C}$  به مدت حداقل یک هفته در انکوباتور نگهداری و روزانه از لحاظ رشد قارچی کنترل گردیدند. تعداد کلنی‌های مختلف قارچی موجود در هر محیط کشت شمارش و نتایج بر اساس CFU/g گزارش شدند.

**روش‌های تشخیص قارچ‌ها:** با توجه به مورفولوژی کلنی‌های قارچ‌های مختلف، تشخیص اولیه احتمالی برخی از آن‌ها داده شد. سپس با استفاده از روش میکروسکوپی جزئیات ریزینی آن‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور ابتدا با استفاده از محلول لاکتوفنل کاتن بلو و یک قطعه کلنی قارچی و با استفاده از بزرگنمایی ۱۰ و ۴۰ زیر میکروسکوپ نوری



جدول ۱. فراوانی آلودگی قارچی نمونه‌ها بر حسب نوع خوراک و فصل.

نوع خوراک	تعداد	فراوانی آلودگی به قارچ‌ها (N, %)			
		بهار	تابستان	پاییز	زمستان
دان آماده	۸۰	۲۰(۱۰۰)	۸ (۴۰)	۱۲ (۶۰)	۱۷ (۸۵)
ذرت	۸۰	۲۰(۱۰۰)	۲۰(۱۰۰)	۱۸ (۹۰)	۲۰(۱۰۰)
سویا	۸۰	۲۰(۱۰۰)	۱۰(۵۰)	۲۰(۱۰۰)	۲۰(۱۰۰)
کل	۲۴۰	۶۰ (۱۰۰)	۳۸ (۳۳/۶۳)	۵۰ (۳۳/۸۳)	۵۷ (۹۵)

جدول ۲. توزیع انواع قارچ‌های جدا شده از نمونه‌های خوراک در فصول مختلف.

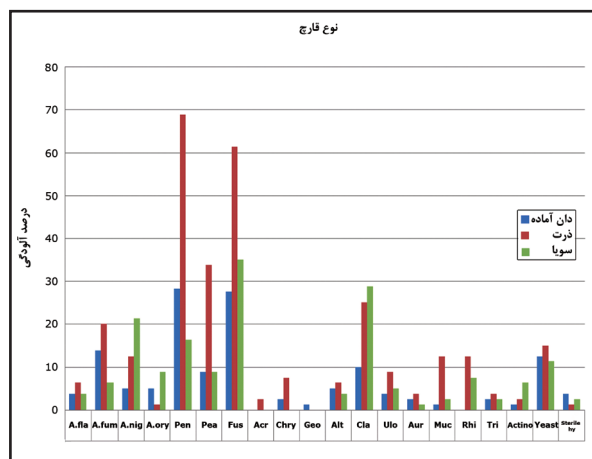
A. fla: *Aspergillus flavus*; A. fum: *Aspergillus fumigatus*; A. nig: *Aspergillus niger*; A. ory: *Aspergillus oryzae*; Pen: *Penicillium*; Pea: *Peecilomyces*; Fus: *Fusarium*; Acr: *Acremonium*; Chry: *Chrysosporium*; Geo: *Geotrichum*; Alt: *Alternaria*; Cla: *Cladosporium*; Ulo: *Ulocladium*; Aur: *Aureobasidium*; Muc: *Mucor*; Rhi: *Rhizopus*; Tri: *Trichosporon*; Actino: *Actinomyces*; Sterile hy: *Sterile hyphae*.

نوع قارچ	بهار دان آماده n (%)	بهار ذرت n(%)	بهار سویا n(%)	تابستان دان آماده n(%)	تابستان ذرت n(%)	تابستان سویا n(%)	پاییز دان آماده n(%)	پاییز ذرت n(%)	پاییز سویا n(%)	زمستان دان آماده n(%)	زمستان ذرت n(%)	زمستان سویا n(%)
A. fum	۲(۱۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۴(۲۰)	۹(۴۵)	۳(۱۵)	۵(۲۵)	۷(۳۵)	۲(۱۰)
A. nig	۳(۱۵)	۹(۴۵)	۱۴(۷۰)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۵)	۲(۱۰)
A. ory	۰(۰)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۳(۱۵)	۲(۲۰)	۰(۰)	۴(۲۰)
Pen	۵(۲۵)	۱۱(۵۵)	۷(۳۵)	۳(۱۵)	۱۲(۶۰)	۲(۱۰)	۶(۳۰)	۱۳(۶۵)	۳(۱۵)	۹(۴۵)	۱۹(۹۵)	۱(۵)
Pea	۲(۱۰)	۲(۳۵)	۱(۵)	۰(۰)	۵(۲۵)	۱(۵)	۳(۱۵)	۸(۴۰)	۲(۲۰)	۲(۱۰)	۷(۳۵)	۱(۵)
Fus	۲۰(۱۰۰)	۱۵(۷۵)	۱۲(۶۰)	۰(۰)	۱۶(۸۰)	۰(۰)	۱(۵)	۳(۱۵)	۲(۲۰)	۱(۵)	۱۵(۷۵)	۱۲(۶۰)
Acr	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۲(۱۰)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۰)	۰(۰)
Chry	۱(۵)	۱(۵)	۰(۰)	۱(۵)	۳(۱۵)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۵)	۰(۰)
Geo	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)
Alt	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۴(۲۰)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۵)	۲(۱۰)	۲(۱۰)	۰(۰)	۱(۵)
Cla	۵(۲۵)	۱(۵)	۲(۱۰)	۰(۰)	۵(۲۵)	۲(۱۰)	۱(۵)	۳(۱۵)	۱(۵)	۲(۱۰)	۱۱(۵۵)	۹(۴۵)
Ulo	۱(۵)	۲(۱۰)	۱(۵)	۰(۰)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۲(۱۰)	۳(۱۵)	۲(۱۰)	۲(۱۰)	۰(۰)
Aur	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۲(۱۰)	۰(۰)	۱(۵)	۲(۱۰)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)
Muc	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۲(۱۰)	۰(۰)	۴(۲۰)	۰(۰)	۱(۵)	۱(۵)	۰(۰)
Rhi	۰(۰)	۰(۰)	۵(۲۵)	۰(۰)	۳(۱۵)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۵)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)
Tri	۲(۱۰)	۱(۵)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۵)	۰(۰)	۱(۵)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)
Actino	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۲(۱۰)	۱(۵)	۰(۰)	۰(۰)	۴(۲۰)
Yeast	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۵(۲۵)	۴(۲۰)	۲(۱۰)	۳(۱۵)	۴(۲۰)	۲(۱۰)	۵(۲۵)	۴(۲۰)	۲(۱۰)
Sterile hy.	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۲(۱۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۲(۱۰)	۱(۵)	۱(۵)	۰(۰)

نتایج حاصل از میزان آلودگی هر خوراک بر حسب فصل نشان می‌دهد که از ۲۰ نمونه دان آماده جمع‌آوری شده در هر فصل، بیشترین میزان آلودگی در فصل بهار (۱۰۰٪ نمونه‌ها) و کمترین میزان در فصل تابستان با ۴۰٪ آلودگی (۸ نمونه از ۲۰ نمونه) گزارش شد (جدول ۱). همچنین با توجه به نتایج بدست آمده در جدول دو، فراوانترین قارچ‌های جدا سازی شده از دان آماده در فصل بهار شامل فوزاریوم (۱۰۰٪)، پنی سیلیوم (۲۵٪) و کلاوسپوریوم (۲۵٪) بودند. تمام نمونه‌های ذرت جمع‌آوری شده در فصل‌های بهار، تابستان و زمستان آلوده به قارچ بودند که بیشترین قارچ‌های جداسازی شده شامل فوزاریوم، پنی سیلیوم، کلاوسپوریوم و آسپرژیلوس نیجر بود؛ در حالیکه کمترین میزان آلودگی نمونه‌های ذرت در فصل پاییز

فراوانی قارچ‌های جدا سازی شده در فصول مختلف در تصویر ۲ نشان داده شده است. مطابق با نمودار فوق، فراوانترین قارچ‌های جداسازی شده در فصل بهار به ترتیب شامل فوزاریوم (۷۸/۳٪)، آسپرژیلوس نیجر (۴۳/۳٪) و پنی سیلیوم (۳۸/۳٪) بود. همچنین بیشترین فراوانی قارچی در فصل زمستان مربوط به پنی سیلیوم (۴۸/۳٪)، فوزاریوم (۴۶/۷٪)، کلاوسپوریوم (۳۶/۷٪) و آسپرژیلوس فومیگاتوس (۲۳/۳٪)، در فصل پاییز مربوط به قارچ‌های پنی سیلیوم (۳۶/۷٪)، آسپرژیلوس فومیگاتوس (۲۶/۷٪)، پسیلوماسیس (۲۵٪) و کلاوسپوریوم (۲۳/۳٪) و در فصل تابستان مربوط به قارچ‌های پنی سیلیوم (۲۸/۳٪)، فوزاریوم (۲۶/۷٪) و مخمرها (۱۸/۳٪) بود.





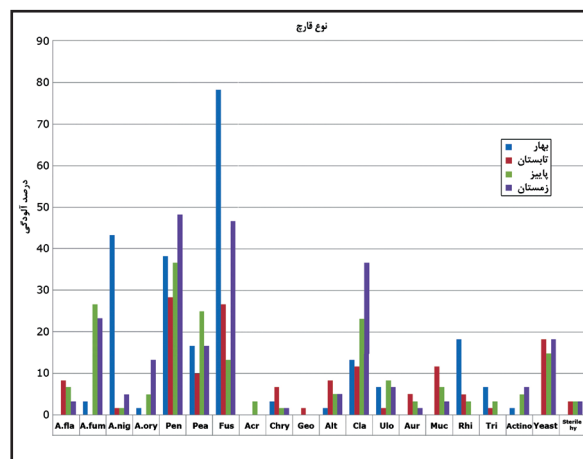
تصویر ۱. فراوانی قارچ‌های جدا شده بر حسب نوع خوراک.

*A. fla*: *Aspergillus flavus*; *A. fum*: *Aspergillus fumigatus*; *A. nig*: *Aspergillus niger*; *A. ory*: *Aspergillus oryzae*; *Pen*: *Penicillium*; *Pea*: *Paecilomyces*; *Fus*: *Fusarium*; *Acr*: *Acremonium*; *Chry*: *Chrysosporium*; *Geo*: *Geotrichum*; *Alt*: *Alternaria*; *Cl*: *Cladosporium*; *Ulo*: *Ulocladium*; *Aur*: *Aureobasidium*; *Muc*: *Mucor*; *Rhi*: *Rhizopus*; *Tri*: *Trichosporon*; *Actino*: *Actinomycete*; *Sterile hy*: *Sterile hyphae*.

مدل رگرسیون لوجستیک رابطه فصل، نوع ماده غذایی یا هر دوی آن‌ها را با شناس آلودگی به قارچ‌های آسپرژیلوس نیجر، پنی سیلیوم، پسیلومایسس، فوزاریوم، کلادوسپوریوم، موکور و رایزوپوس نشان داد.

## بحث

قارچ‌ها در همه جا حضور داشته و نسبت به عوامل میکروبی دیگر در طبیعت فراوان ترند. در هر جا که غذا وجود داشته باشد قارچ‌ها به راحتی بر روی آن کلونیزه شده و از مواد آلی موجود در آن ماده استفاده می‌کنند. حضور و رشد قارچ‌ها از چند جهت حائز اهمیت می‌باشد. اولاً برخی قارچ‌ها تولید آنزیم‌ها و مواد مفیدی می‌نمایند که می‌توانند ارزش جیره غذایی را افزایش دهند. ثانیاً ممکن است متابولیت‌های غیر توکسیکی آزاد نمایند که موجب فساد آن ماده غذایی گردند. ثالثاً برخی قارچ‌ها مایکوتوکسین تولید می‌کنند که در صورت استفاده از آن جیره، سلامتی انسان و حیوان را به مخاطره می‌اندازد (۱۹، ۲۸). آلودگی قارچی و به ویژه مایکوتوکسین‌ها یک مشکل جهانی محسوب می‌شود و مطابق با آمار سازمان کشاورزی و غذای سازمان ملل متحد تقریباً ۲۵٪ دانه‌های زراعی جهان دارای آلودگی قارچی هستند و طبق گزارش WHO مایکوتوکسین‌ها به ویژه آفلاتوکسین‌ها یکی از عوامل مؤثر در بروز بیماری‌های ناشی از غذا گزارش شده‌اند (۳۲). بنابراین پیشگیری و خنثی کردن این سموم در خوراک حیوان و انسان از مسائل مهمی است که صنایع غذایی دنیا با آن روبرو است. از این رو بررسی خوراک از لحاظ آلودگی به قارچ‌های مختلف حائز اهمیت بوده تا از این طریق بتوان به قارچ‌های مولد سم و همینطور سموم تولید شده توسط آن‌ها دست یافت. در این مطالعه از ۲۴۰ نمونه جمع آوری شده، ۲۰۵ نمونه (۸۵/۴۱٪) آلودگی قارچی داشتند. میانگین شمارش کلی قارچ‌ها نیز  $10^5 \times$



تصویر ۱. فراوانی قارچ‌های جدا شده بر حسب فصل.

*A. fla*: *Aspergillus flavus*; *A. fum*: *Aspergillus fumigatus*; *A. nig*: *Aspergillus niger*; *A. ory*: *Aspergillus oryzae*; *Pen*: *Penicillium*; *Pea*: *Paecilomyces*; *Fus*: *Fusarium*; *Acr*: *Acremonium*; *Chry*: *Chrysosporium*; *Geo*: *Geotrichum*; *Alt*: *Alternaria*; *Cl*: *Cladosporium*; *Ulo*: *Ulocladium*; *Aur*: *Aureobasidium*; *Muc*: *Mucor*; *Rhi*: *Rhizopus*; *Tri*: *Trichosporon*; *Actino*: *Actinomycete*; *Sterile hy*: *Sterile hyphae*.

تخمین زده شد. همچنین تمام نمونه‌های سویا در فصل‌های بهار، پاییز و زمستان آلوده به قارچ بودند که آسپرژیلوس نیجر، فوزاریوم، کلادوسپوریوم و پنی سیلیوم بیشترین قارچ‌های جدا شده را شامل می‌شدند؛ در حالیکه کمترین میزان آلودگی نمونه‌های سویا در فصل تابستان مشاهده شد.

مطالعه حاضر نشان داد که ۷۴/۶۱٪ (۱۷۸ نمونه از ۲۴۰ نمونه) نمونه‌های تحت آزمایش حاوی قارچ‌های توکسین‌زای احتمالی: (آسپرژیلوس، فوزاریوم، پنی سیلیوم و آلترناریا) بودند و اختلاف فراوانی آن‌ها با قارچ‌های غیر توکسین‌زا معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ). همچنین حضور قارچ‌های توکسین‌زای احتمالی در هر یک از نمونه‌های خوراک به ترتیب شامل ۹۱/۲۵٪ (۷۳ نمونه از ۸۰ نمونه) در نمونه‌های ذرت، ۶۷/۵٪ (۵۴ نمونه از ۸۰ نمونه) در نمونه‌های سویا و ۶۳/۷۵٪ (۵۱ نمونه از ۸۰ نمونه) در نمونه‌های دان آماده ارزیابی گردید. آنالیز آماری نشان داد که اختلاف فراوانی قارچ‌های با توان بالقوه توکسین‌زا نسبت به قارچ‌های غیر توکسین‌زا در نمونه‌های دان آماده و ذرت معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ )؛ در حالیکه این اختلاف فراوانی در نمونه‌های سویای تحت مطالعه معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ).

میانگین لگاریتم شمارش کلی قارچ‌ها  $5/47$  CFU/g و میانگین لگاریتم شمارش کلی قارچ‌ها در خوراک‌های مورد بررسی به ترتیب شامل  $5/617$  CFU/g در نمونه‌های ذرت،  $5/505$  CFU/g در نمونه‌های سویا و  $5/005$  CFU/g در نمونه‌های دان آماده تخمین زده شد.

میانگین لگاریتم شمارش کلی قارچ‌ها بر حسب فصول مختلف به صورت  $5/07$  CFU/g در فصل بهار،  $5/97$  CFU/g در فصل تابستان،  $5/45$  CFU/g در فصل پاییز و  $4/85$  CFU/g در فصل زمستان تخمین زده شد.



۲/۹ واحد تشکیل دهنده کلونی/گرم تعیین شد.

با توجه به فراوانی بالای قارچ‌های توکسین‌زایی همچون آسپرژیلوس ها، فوزاریوم و پنی‌سیلیوم و همینطور جداسازی سایر قارچ‌های مولد سم شامل آلترناریا در نمونه‌ها نشان می‌دهد که در بسیاری از مرغداری‌ها، روش‌های نگهداری خوراک طیور مناسب نیست، در نتیجه دما و رطوبت مناسب جهت رشد قارچ‌ها و تولید توکسین توسط آن‌ها فراهم می‌شود. همچنین حضور قارچ‌های غیر توکسین‌زا مثل پسیلومایسس، کلادوسپوریوم، اولوکلادیوم، موکور، رایزوپوس، ژئوتریکوم و سایر قارچ‌ها در نمونه‌های مورد مطالعه از لحاظ آلرژی‌زایی حائز اهمیت هستند؛ بطوریکه تماس با جیره‌های آلوده به این قارچ‌ها ممکن است منجر به ایجاد پنومونی از دیاد حساسیتی در انسان و حیوان شود (۱۹).

در ارتباط با آلودگی قارچی و همینطور حضور قارچ‌های توکسین‌زا در خوراک طیور گزارشات متعددی وجود دارد. Parviz و همکاران در سال ۲۰۱۴ در استان مرکزی، میزان آلودگی قارچی و متوسط سطح آلودگی به قارچ‌ها را در خوراک طیور به ترتیب ۳۱/۳٪ و  $10^5 \times 1/12 + 10^4 \times 6/4$  واحد تشکیل دهنده کلنی/گرم گزارش کردند (۲۷). در مطالعه دیگری که توسط Greco و همکاران در سال ۲۰۱۴ در آرژانتین برای تعیین فلور قارچی و میکوتوکسین‌ها در خوراک طیور انجام شد، همانند مطالعه ما فوزاریوم با میزان آلودگی بالایی جداسازی گردید بطوریکه درصد آلودگی نمونه‌ها به قارچ‌های مختلف شامل مخمر ۷۸/۳٪، فوزاریوم ۶۹/۶٪، پنی‌سیلیوم ۴۵/۶٪، یوروتیوم ۵۲/۲٪، کلادوسپوریوم ۴۷/۸٪، آسپرژیلوس ۴۳/۵٪، موکور ۳۹/۱٪، اسکوپولاریوپسیس ۴/۳٪، پسیلومایسس ۲/۲٪، و سایر قارچ‌ها ۳۴/۸٪ بود (۱۲). Kehinde و همکاران در سال ۲۰۱۴ در نیجریه به منظور تشخیص قارچ‌های مولد آفات توکسین در خوراک طیور نشان دادند که قارچ‌های درگیر شامل: آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس اوریزا، رایزوپوس اوریزا و پنی‌سیلیوم نوتاتوم بودند؛ که گونه غالب متعلق به آسپرژیلوس فلاووس بود (۱۸). در مطالعه دیگری که در نیجریه توسط Ogunlade و David در سال ۲۰۱۳ بر روی میزان آلودگی قارچی در ۱۰ نوع خوراک طیور انجام شد، ۵ جنس قارچی آسپرژیلوس، فوزاریوم، پنی‌سیلیوم، رایزوپوس و آسیدیا از نمونه‌ها جداسازی گردید (۸). Salemi و همکاران در سال ۲۰۱۰، ۱۱۹ نمونه خوراک طیور را از لحاظ فلور قارچی در پاکستان مورد مطالعه قرار دادند. میزان آلودگی قارچی در کل خوراک ۷۳/۱۰٪، در خوراک آماده تجاری ۶۹/۶۶٪ و در خوراک مخلوط مرغداری ۸۳/۳۳٪ گزارش شد (۲۹). Krnjaja و همکاران در سال ۲۰۰۸، ۲۳۰ نمونه خوراک طیور را جهت تعیین میزان آلودگی قارچی مورد بررسی قرار دادند. ۳۸/۲۶٪ نمونه‌ها آلودگی قارچی داشته و شایع‌ترین قارچ‌های جدا شده نیز به ترتیب شامل فوزاریوم با ۵۶/۰۹٪ آلودگی، آسپرژیلوس ۵۴/۳۵٪، رایزوپوس ۴۰٪، پنی‌سیلیوم ۳۰/۸۷٪، موکور ۳۰/۰۴٪ و آلترناریا ۳/۴۸٪ بودند (۲۰). Tancinova و Labuda در سال ۲۰۰۶، ۱۰۸ نمونه خوراک

طیور را از نظر آلودگی قارچی بررسی کردند که شایع‌ترین قارچ‌های جدا شده شامل پنی‌سیلیوم (۸۹٪)، آسپرژیلوس (۶۹٪) و موکور (۵۰٪) و ترتیب فراوانی سایر قارچ‌های جداسازی شده شامل رایزوپوس (۴۴٪)، فوزاریوم و یوروتیوم (هر کدام ۴۲٪)، کلادوسپوریوم (۳۱٪)، آلترناریا (۲۲٪)، آسیدیا (۱۶٪)، آکرومونوم (۱۲٪)، اسکوپولاریوپسیس (۱۰٪)، پسیلومایسس (۴٪) و اولوکلادیوم (۳٪) بودند. همچنین این محققین میزان آلودگی قارچی را در نمونه‌های خوراک رنجی از  $10^2 \times 1$  تا  $10^5 \times 200$  واحد تشکیل دهنده کلونی/گرم تخمین زدند (۲۱). Shahidul Alam و همکاران در سال ۲۰۰۱ در بنگلادش، آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم، رایزوپوس، فوزاریوم، پسیلومایسس، اسکوپولاریوپسیس، آلترناریا و کاندیدا را به عنوان فراوان‌ترین قارچ‌های موجود در خوراک طیور گزارش کردند (۳۰).

همانند تحقیق حاضر، Ezekiel و همکاران در سال ۲۰۱۲، فوزاریوم را به عنوان شایع‌ترین قارچ از خوراک تجاری طیور در نیجریه شناسایی کردند (۹). در مطالعه Krnjaja و همکاران در سال ۲۰۰۸ نیز شیوع قارچ‌های توکسین‌زا به صورت فوزاریوم با ۵۶/۰۹٪ آلودگی، آسپرژیلوس ۵۴/۳۵٪، پنی‌سیلیوم ۳۰/۸۷٪، و آلترناریا ۳/۴۸٪ بود (۲۰). همچنین نتایج مشابه نتایج بررسی ما در مطالعه Ogbulie و Uwaezuoke و همکاران در سال ۲۰۰۸ در نیجریه که بر روی خوراک طیور انجام شد مشاهده گردید که ۶۲/۵٪ نمونه‌ها آلوده به پنی‌سیلیوم، ۵۸/۳٪ به فوزاریوم و ۵۶/۳٪ به آسپرژیلوس آلوده بودند (۳۱).

در مطالعه‌ای که در کرمانشاه توسط Azarakhsh و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی خوراک جوجه‌های گوشتی انجام شد، نشان دادند که نمونه‌ها آلوده به قارچ‌های توکسین‌زای شایع شامل آسپرژیلوس، فوزاریوم و پنی‌سیلیوم بودند؛ بطوریکه آسپرژیلوس‌ها بیشترین شیوع را داشتند (۲). در بررسی Dalcerio و همکاران در سال ۱۹۹۸ فراوانی قارچ‌های جدا شده از خوراک طیور به ترتیب شامل آسپرژیلوس (۸۵٪)، فوزاریوم (۷۰٪) و پنی‌سیلیوم (۴۸٪) بودند (۷). بر اساس مطالعه Magnoli و همکاران در سال ۱۹۹۸ بیشترین آلودگی خوراک طیور مربوط به آسپرژیلوس‌ها و سپس پنی‌سیلیوم‌ها بود. متوسط شمارش فلور قارچی برای آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم نیز به ترتیب شامل  $10^4 \times 9/5$  تا  $10^3 \times 1$  و  $10^5 \times 2/5$  تا  $10^3 \times 1/2$  واحد تشکیل دهنده کلونی/گرم بود (۲۲).

Fakruddin و همکاران در سال ۲۰۱۵ میزان آلودگی به آسپرژیلوس فلاووس را در نمونه‌های خوراک رنجی از  $10 \times 2/1$  تا  $10 \times 5/6$  پروپاگول در هر گرم و در نمونه‌های دان رنجی از  $10 \times 2/8$  تا  $10 \times 3/8$  پروپاگول در هر گرم تخمین زدند (۱۰).

Nemati و همکاران در سال ۲۰۱۴ در تبریز جهت تعیین میزان وقوع آفات توکسین B1 در خوراک طیور، یافتند که شیوع بالایی از آفات توکسین و آلودگی قارچی در خوراک و اجزای آن وجود دارد؛ به طوری که بیشترین میزان آلودگی را در بین خوراک‌ها به ترتیب در پس دان ( $20/72 \mu\text{g/kg}$ )،



(۳۳/۸٪)، کلادوسپوریوم (۲۵٪) و اسپرژیلوس فومیگاتوس (۲۰٪) و بیشترین قارچ‌های جداسازی شده از نمونه‌های سویا شامل فوزاریوم (۳۵٪)، کلادوسپوریوم (۲۸/۸٪)، اسپرژیلوس نیجر (۲۱/۳٪) و پنی سیلیوم (۱۶/۳٪) بودند. همچنین در ارتباط با آلودگی خوراک در فصول مختلف نیز مشخص شد که ۱۰۰٪ نمونه‌های فصل بهار، ۹۵٪ نمونه‌های فصل زمستان، ۸۳/۳۳٪ نمونه‌های فصل پاییز و ۶۳/۳۳٪ نمونه‌های فصل تابستان آلوده به قارچ بودند. مدل رگرسیون لجستیک رابطه فصل، نوع ماده غذایی یا هر دوی آن‌ها را با شانس آلودگی به قارچ‌های اسپرژیلوس نیجر، پنی سیلیوم، پسیلومایسس، فوزاریوم، کلادوسپوریوم، موکور و رایزوپوس نشان داد. بدین ترتیب که احتمال آلودگی به اسپرژیلوس نیجر در فصل بهار بیشتر از فصل تابستان ( $OR=۸۵/۲۲$ ;  $p>۰/۰۰۱$ ) و در سویا به صورت معنی‌داری بیشتر از دان آماده بود ( $OR=۱۳/۱۱$ ;  $p=۰/۰۰۱$ ). همچنین احتمال آلودگی به پنی سیلیوم به طور معنی‌داری در فصل زمستان بیشتر از فصل تابستان ( $OR=۳/۸$ ;  $p=۰/۰۱۲$ ) و در ذرت بیشتر از دان آماده بود ( $OR=۵/۸۱$ ;  $p=۰/۰۰۱$ ). در ارتباط با پسیلومایسس نیز احتمال آلودگی آن در فصل پاییز بیشتر از فصل تابستان ( $OR=۳/۵۵$ ;  $p=۰/۰۲۴$ ) و در ذرت بیشتر از دان آماده بود ( $OR=۵/۸۳$ ;  $p>۰/۰۰۱$ ). احتمال آلودگی به فوزاریوم در فصل زمستان ( $OR=۲/۸۸$ ;  $p=۰/۰۱۳$ ) و فصل بهار ( $OR=۱۶/۴۷$ ;  $p>۰/۰۰۱$ ) بیشتر از فصل تابستان و در ذرت بیشتر از دان آماده بود ( $OR=۸/۲۴$ ;  $p>۰/۰۰۱$ ). شانس آلودگی به کلادوسپوریوم در فصل زمستان بیشتر از فصل تابستان ( $OR=۵/۱۳$ ;  $p=۰/۰۰۱$ ) و در ذرت ( $OR=۳/۲۸$ ;  $p=۰/۰۱۱$ ) و سویا ( $OR=۴/۲۱$ ;  $p=۰/۰۰۲$ ) بیشتر از دان آماده بود. همچنین مدل رگرسیون لجستیک نشان داد که احتمال آلودگی به موکور در ذرت بیشتر از دان آماده ( $OR=۱۳/۱۷$ ;  $p=۰/۰۱۷$ ) و احتمال آلودگی به رایزوپوس در فصل بهار بیشتر از فصل تابستان بود ( $p=۰/۰۲۱$ ;  $OR=۵/۴$ ).

در بررسی که Monge و همکاران در سال ۲۰۱۲ در ارتباط با آلودگی مواد خام و خوراک نهایی طیور به اسپرژیلوس و فوزاریوم و مایکوتوکسین‌هایشان انجام دادند نشان دادند که ۱۹٪ از نمونه‌های مواد خام و ۷۹٪ از نمونه‌های خوراک نهایی طیور بیش از حد مجاز آلودگی قارچی داشتند ( $1 \times 10^4$  واحد تشکیل دهنده کلونی/گرم). اسپرژیلوس فلاووس از نمونه‌های مذکور جداسازی گردید اما گونه شایع فوزاریوم ورتیسیلیوتیدس بود. همچنین آنالیز نتایج نشان داد که عمده آلودگی ناشی از فوزاریوم‌ها از دانه‌های ذرت بدست آمد (۲۴).

Bauduret در سال ۱۹۹۰ در فرانسه مطالعه‌ای بر روی خوراک طیور از نظر آلودگی قارچی انجام داد. برای این منظور ۱۵۰ نمونه خوراک را از ۵ فارم در یک دوره ۳ ماهه فصل بارانی (ژانویه، فوریه و مارس) جمع آوری کرد. بیشترین قارچ‌های جداسازی شده شامل اسپرژیلوس فلاووس، اسپرژیلوس گلاکوس، اسپرژیلوس نیجر، فوزاریوم، موکور، رایزوپوس،

میان دان ( $11/09 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) و بیش دان ( $5/65 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) و در بین اجزای خوراک بیشترین آلودگی را به ترتیب در کنجاله سویا ( $6/01 \mu\text{g}/\text{kg}$ )، سیوس گندم ( $3/05$  میکروگرم/کیلوگرم)، ذرت ( $2/35 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) و دانه گندم ( $1/54 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) گزارش کردند (۲۵).

Kajuna و همکاران در سال ۲۰۱۳ در تانزانیا نشان دادند که ۶۸٪ نمونه‌های خوراک طیور آلوده به آفلاتوکسین B هستند. همچنین حداقل میزان آلودگی به توکسین فوق را در سیوس ذرت (۵۰٪) با غلظتی برابر با  $9/4 \mu\text{g}/\text{kg}$  و بیشترین آلودگی را در خوراک طیور گوشتی (۹۱٪) با غلظتی برابر با  $35/8 \mu\text{g}/\text{kg}$  گزارش کردند (۱۵).

آلودگی خوراک طیور به آفلاتوکسین‌ها در کامرون توسط Kana و همکاران در سال ۲۰۱۳ مورد ارزیابی قرار گرفت. در مجموع ۲۰۱ نمونه ذرت، کنجاله بادام زمینی، خوراک طیور گوشتی و تخم گذار جمع آوری شد. نتایج نشان داد که تقریباً ۹٪ نمونه‌های ذرت به آفلاتوکسین با غلظتی از کمتر از  $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  تا ۴۲، ۱۰۰٪ نمونه‌های کنجاله بادام زمینی با غلظتی از  $39 \mu\text{g}/\text{kg}$  تا ۹۵۰، ۹۳/۳٪ نمونه‌های خوراک طیور گوشتی با غلظتی از  $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  تا ۵۲ تا ۸۳٪ نمونه‌های خوراک طیور تخم گذار با غلظتی از ۲ تا  $23 \mu\text{g}/\text{kg}$  آلوده بودند (۱۶).

در مطالعه Cegielska-Radziejewska و همکاران در سال ۲۰۱۳ میانگین تعداد کلونی‌های قارچی در خوراک پیش دان  $1/8 \times 10^2$  واحد تشکیل دهنده کلونی/گرم، در میان دان  $3/2 \times 10^2$  واحد تشکیل دهنده کلونی/گرم و در پس دان  $1/6 \times 10^2$  واحد تشکیل دهنده کلونی/گرم تخمین زده شد (۵).

در پژوهش حاضر بیشترین قارچ‌های جدا شده از نمونه‌های دان آماده شامل پنی سیلیوم (۲۸/۳٪)، فوزاریوم (۲۷/۵٪)، اسپرژیلوس فومیگاتوس (۱۳/۸٪) و مخمرها (۱۲/۵٪) بود.

Fakruddin و همکاران در سال ۲۰۱۵ در بنگلادش با بررسی بر روی ۳۰ نمونه دان و خوراک کامل طیور، نشان دادند که ۱۵ نمونه شامل ۶ نمونه خوراک و ۹ نمونه دان، آلوده به اسپرژیلوس فلاووس، یکی از مولدین عمده آفلاتوکسین، بودند (۱۰).

همچنین در مطالعه Saleemi و همکاران در سال ۲۰۱۰ که بر روی خوراک آماده تجاری طیور و خوراک مخلوط طیور انجام دادند، شایع‌ترین قارچ‌های جدا شده از خوراک آماده تجاری شامل اسپرژیلوس ( $43/82$ ٪)، پنی سیلیوم ( $22/47$ ٪)، فوزاریوم ( $5/61$ ٪) و آلترناریا ( $1/12$ ٪) و از خوراک مخلوط طیور شامل اسپرژیلوس ( $46/66$ ٪)، پنی سیلیوم ( $23/33$ ٪)، فوزاریوم ( $10$ ٪) و آلترناریا ( $10$ ٪) بودند. از بین گونه‌های اسپرژیلوس، بیشترین فراوانی مربوط به گونه‌های اسپرژیلوس نیجر و اسپرژیلوس فلاووس بود (۲۹).

در بررسی حاضر فراوان‌ترین قارچ‌هایی که از نمونه‌های ذرت جدا شد شامل پنی سیلیوم ( $68/8$ ٪)، فوزاریوم ( $61/3$ ٪)، پسیلومایسس



جهت شناسایی قارچ‌ها و تعیین هویت گونه‌های توکسین‌زا، کنترل و حذف آن‌ها در جیره‌های مختلف طیور و همینطور آموزش صحیح مرغداران جهت نگهداری و انبار مناسب خوراک پرنده توصیه می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

به این وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد و دانشکده دامپزشکی به خاطر تأمین اعتبار طرح تحقیقاتی شماره ۳/۳۲۱۶۵ تشکر و قدردانی می‌گردد.

### References

1. Ariyo, A.L., Anthony, M.H., Lami, M.H. (2013) Survey of mycotoxigenic fungi in concentrated poultry feed in Niger State, Nigeria. *J Food Res.* 2: 128-135.
2. Azarakhsh, Y., Sabokbar, A., Bayat, M. (2011) The frequency of the most potentially toxigenic fungi in broiler feeds in Kermanshah Province, West of Iran. *Am-Euras. J Toxicol Sci.* 3: 11-16.
3. Bauduret, P. (1990) Mycological and bacteriological survey on feed ingredients and mixed poultry feeds in Reunion Island. *Mycopathologia.* 109: 157-164.
4. Castella, G., Bragulat, M.R., Cabafies, F.J. (1996) Mycoflora and fumonisin-producing strains of *Fusarium moniliforme* in mixed poultry feeds and component raw material. *Mycopathologia.* 133: 181-184.
5. Cegielska-Radziejewska, R., Stuper, K., Szablewski, T. (2013) Microflora and mycotoxin contamination in poultry feed mixtures from western Poland. *Ann Agric Environ Med.* 1: 30-35.
6. Dalcero, A., Magnoli, C., Chiacchiera, S., Palacios, G., Reynoso, M. (1997) Mycoflora and incidence of aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol in poultry feeds in Argentina. *Mycopathologia.* 137: 179-184.
7. Dalcero, A., Magnoli, C., Luna, M., Ancasi, G., Reynoso, M.M., Chiacchiera, S., Miazzo, R., Palacio, G. (1998) Mycoflora and naturally occurring mycotoxins in poultry feeds in Argentina.

اسکوپولاریوپسیس و کلادوسپوریوم بودند (۳).  
 Cegielska-Radziejewska و همکاران در سال ۲۰۱۳ تعداد ۴۵ نمونه خوراک طیور را در ماه‌های سپتامبر و اکتبر از نظر آلودگی قارچی مورد مطالعه قرار دادند؛ شایع‌ترین قارچ‌های جدا شده شامل آسپرژیلوس، رایزوپوس، موکور، پنی سیلیوم و فوزاریوم بود (۵). در مطالعه‌ای که Ariyo و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بررسی خوراک تجاری و غیر تجاری طیور بین ماه‌های فوریه و مارس در مرغداری‌های مختلف در نیجریه، در مجموع ۸۷۴ گونه قارچی را شناسایی کردند که قارچ‌های توکسیژنیک جداسازی شده از نمونه‌ها شامل آسپرژیلوس، پنی سیلیوم، فوزاریوم و آلترناریا بودند. در هر دو نوع خوراک بیشترین جدایه قارچی مربوط به گونه‌های آسپرژیلوس با ۴۰٪ آلودگی بود؛ که از این میان آسپرژیلوس فلاووس بالاترین میزان آلودگی را داشت. همچنین این محققین میزان آلودگی نمونه‌ها به پنی سیلیوم را در خوراک غیر تجاری ۲۰٪ و در خوراک تجاری ۱۳٪ گزارش کردند (۱). Okoli و همکاران در سال ۲۰۰۷ با نمونه برداری از ۵۴ نمونه از ۶ ماده خام خوراک طیور طی فصل بارانی در ماه‌های ژوئن، جولای و آگوست دریافتند که میکروارگانیسم‌های شایع شامل موکور، آسپرژیلوس، مخمر، باکتری‌ها و رایزوپوس بودند. بیشتر ارگانیسم‌های قارچی در ماه جولای جداسازی شدند (۲۶).

در مطالعه‌ای که Dalcero و همکاران در سال ۱۹۹۷ بر روی خوراک طیور در آرژانتین انجام دادند، نمونه‌ها را از ماه مه ۱۹۹۵ تا ماه مه ۱۹۹۶ جمع‌آوری کردند. میانگین شمارش کلی قارچ‌ها ۱۰<sup>۴</sup> تا ۱۰<sup>۶</sup> واحد تشکیل دهنده کلونی/گرم بود و کمترین تعداد قارچ‌ها در ماه‌های اول نمونه‌گیری (ماه مه تا ماه سپتامبر ۱۹۹۵) و بیشترین تعداد در ماه‌های آخر نمونه‌گیری (ماه اکتبر ۱۹۹۵ تا ماه آوریل ۱۹۹۶) بود. همچنین نتایج این محققین نشان داد که ۹۸٪ نمونه‌ها به پنی سیلیوم، ۸۷٪ به فوزاریوم و ۵۲٪ به آسپرژیلوس آلوده بودند (۶). در مطالعه انجام شده توسط Castella و همکاران در سال ۱۹۹۶ بر روی ۶۶ نمونه خوراک طیور اخذ شده در ماه سپتامبر ۱۹۹۱ تا ماه مه ۱۹۹۲ از مرغداری‌های بارسلونای اسپانیا جهت تعیین فلور قارچی و آلودگی به قارچ فوزاریوم مشخص گردید که شمارش کلونی قارچ‌ها رنجی از کمتر از ۳۱۰ تا ۱۰<sup>۶</sup> × ۱/۳ واحد تشکیل دهنده کلونی/گرم بوده و ۵۹/۱٪ نمونه‌ها آلوده به فوزاریوم بودند (۴).

تنوعی که در نتایج حاصل از مطالعه حاضر و همینطور نتایج بدست آمده توسط محققین مختلف در قسمت‌های مختلف دنیا دیده می‌شود ناشی از منابع مختلف تهیه خوراک، شرایط حمل و نقل و همینطور شرایط بهداشتی موجود در نگهداری خوراک در محیط‌های مرغداری‌ها می‌باشد. با این حال، مطالعه حاضر شیوع بالای آلودگی قارچی و همینطور فراوانی زیاد قارچ‌های توکسین‌زای مهم را در خوراک طیور مرغداری‌های تحت بررسی به اثبات رساند. با توجه به تنوع وضعیت آب و هوایی کشور و روش‌های مختلف نگهداری جیره‌های غذایی طیور و تنوع مرغداری‌ها، برنامه ریزی



- Mycopathologia. 141: 37-43.
8. David, O.M., Ogunlade, J.T. (2013) Qualities of poultry feeds produced by local small-scale feed mills in Ekiti State, Nigeria: A public health and feed safety study. *Res Opin Anim Vet Sci.* 3: 297-302.
  9. Ezekiel, C.N., Bandyopadhyay, R., Sulyok, M., Warth, B., Krska, R. (2012) Fungal and bacterial metabolites in commercial poultry feed from Nigeria. *Food Addit. Contam- Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 29: 1288-1299.
  10. Fakruddin, M., Chowdhury, A., Hossain, M.N., Ahmed, M.M. (2015) Characterization of aflatoxin producing *Aspergillus flavus* from food and feed samples. *Springerplus.* 4: 159.
  11. Ghaemmaghami, S.S., Modirsaneii, M., Ali Reza Khosravi, A.R., Razzaghi-Abyaneh, M. (2016) Study on mycoflora of poultry feed ingredients and finished feed in Iran. *Iran J Microbiol.* 8: 47-54.
  12. Greco, M.V., Franchi, M.L., Golba, S.L.R., Pardo, A.G., Pose, G.N. (2014) Mycotoxins and mycotoxigenic fungi in poultry feed for food-producing animals. *Sci World J.* 2014: 1-9.
  13. Iheshiolor, O.O.M., Esonu, B.O., Chuwuka, O.K., Omede, A.A., Okoli, I.C., Ogbuewu, I.P. (2011) Effects of mycotoxins in animal nutrition: A review. *Asian J Anim Sci.* 5: 19-33.
  14. ISIRI (2004). Livestock, poultry and aquatic feeding stuffs- Sampling. ISIRI No. 7570. (1<sup>st</sup> ed.) Tehran, Iran.
  15. Kajuna, F.F., Temba, B.A., Mosha, R.D. (2013) Surveillance of aflatoxin B1 contamination in chicken commercial feeds in Morogoro, Tanzania. *Livest Res Rural Dev.* 25: 1-8.
  16. Kana, J.R., Gnonlonfin, B.G.J., Harvey, J., Wainaina, J., Wanjuki, I., Skilton, R.A., Tegua, A. (2013) Assessment of aflatoxin contamination of maize, peanut meal and poultry feed mixtures from different agroecological Zones in Cameroon. *Toxins.* 5: 884-894.
  17. Kana, J.R., Gnonlonfin, B.G.J., Harvey, J., Wainaina, J., Wanjuki, I., Skilton, R.A., Tegua, A. (2013) Mycobiota and toxigenicity profile of *Aspergillus flavus* recovered from food and poultry feed mixtures in Cameroon. *J Anim Poultry Sci.* 2: 98-107.
  18. Kehinde, M.T., Oluwafemi, F., Itoandon, E.E., Orji, F.A., Ajayi, O.I. (2014) Fungal profile and aflatoxin contamination in poultry feeds sold in Abeokuta, Ogun State, Nigeria. *Nigerian Food J.* 32: 73-79.
  19. Khosravi, A.R., Shokri, H., Yahyaraeyat, R., Soltani, M. (2004) Isolation of toxigenic and nontoxigenic fungi from feedstuffs referred to the center of mycology. *J Vet Res.* 59: 221-226.
  20. Krnjaja, V., Stojanovic, L.J., Cmiljanic, R., Trenkovski, S., Tomasevic, D. (2008) The presence of potentially toxigenic fungi in poultry feed. *Biotechnol Anim Husb.* 24: 87-93.
  21. Labuda, R., Tancinova, D. (2006) Fungi recovered from Slovakian poultry feed mixtures and their toxinogenicity. *Ann Agric Environ.* 13: 193-200.
  22. Magnoli, C., Dalcero, A.M., Chiacchiera, S.M., Miazzo, R., Saenz, M.A. (1998) Enumeration and identification of *Aspergillus* group and *Penicillium* species in poultry feeds from Argentina. *Mycopathologia.* 142: 27-32.
  23. Mehraban sangatash, M., Mohsenzadeh, M., Tajalli, F., Reza Karajian, R., Safari, O., Akbari, M.K. (2014) Evaluation of aflatoxin B1 levels in feedstuffs of dairy herds in Khorasan Razavi Province. *Pajouhesh-Va-Sazandegi.* 103: 43-54.
  24. Monge, M.D.P., Magnoli, C.E., Chiacchiera, S.M. (2012) Survey of *Aspergillus* and *Fusarium* species and their mycotoxins in raw materials and poultry feeds from Cordoba, Argentina. *Mycotoxin Res.* 2: 111-122
  25. Nemati, Z., Janmohammadi, H., Taghizadeh, A., Maleki Nejad, H., Mogaddam, G.H., Arzanlou, M. (2014) Occurrence of Aflatoxins in poultry feed and feed ingredients from northwestern Iran. *Euro J Zool Res.* 3: 56-60.
  26. Okoli, I.C., Ogbuewu, P.I., Uchegbu, M.C., Opara, M.N., Okorie, J.O., Omede, A.A., Okoli, G.C., Ibekwe, V.I. (2007) Assessment of the mycoflora of poultry feed raw materials in a humid tropical environment. *J Am Sci.* 3: 5-9.
  27. Parviz, M., Saatloo, N., Rezaei, M., Rezapour, I.,





- Assadi, A. (2014) Fungal contamination of feed material manufactured in Iran with emphasis on its importance in safety of animal origin foods. *J. Food Qual. Hazards Control*. 1: 81-84.
28. Ripon, J.W. (1988) *Medical Mycology*. (3<sup>rd</sup> ed.) W.B. Saunders Company, Chicago, Illinios, USA.
29. Saleemi, M.K., Khan, M.Z., Khan, A., Javed I. (2010) Mycoflora of poultry feeds and mycotoxins producing potential of *Aspergillus* species. *Pak J Biol Sci*. 42: 427-434.
30. Shahidul Alam, M., Alam, M.S., Islam, M.R., Begum, M.F., Sarkar, M.A., Banu, M.S. (2001) Abundance of fungal flora in relation to moisture content and storage period in different types of poultry feed ingredients. *Pak J Biol Sci*. 4: 1194-1197.
31. Uwaezuoke, J.C. Ogbulie, J.N. (2008) Microbiological quality of commercially available poultry feeds sold in parts of Eastern Nigeria. *J Appl Sci Environ Manage*. 12: 113-117.
32. Waliyar, F., Osiru, M., Ntare, B.R., Kumar K.V.K., Sudini, H., A. Traore, A., Diarra, B. (2015) Post-harvest management of aflatoxin contamination in groundnut. *World Mycotoxin J*. 8: 245-252.
33. Zain, M.E. (2011) Impact of mycotoxins on humans and animals. *J Saudi Chem Soc*. 15: 129-144.



## Determination of fungal contamination of poultry feed and its ingredients in broiler farms in Torbat-Heydarieh, Khorasan Razavi province, Iran

Salehan, Z.<sup>1</sup>, Eidi, S.<sup>2\*</sup>, Mohsenzadeh, M.<sup>3</sup>, Azizzadeh, M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>2</sup>Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>3</sup>Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>4</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received 19 June 2017, Accepted 30 August 2017)

### Abstract:

**BACKGROUND:** Unhygienic poultry feedstuffs can lead to nutrient losses and have detrimental effect on poultry production and public health. **OBJECTIVES:** This study was to investigate the fungal contamination of poultry feed and its ingredients in broiler farms in Torbat Heydarieh, Khorasan Razavi province, Iran. **METHODS:** A total of 240 poultry feed samples comprising three different feeds were collected and examined using dilution plating technique. Preparations of all samples from successive dilutions were prepared, and then 0.1 ml of each dilution was cultured on the surface of Potato Dextrose Agar supplemented with Chloramphenicol and incubated at 27 °C for 7 days. Fungal colony counting was performed based on CFU/gr. The fungi were identified by gross and microscopic features. Statistical analysis of the data was done using SPSS software version 21. **RESULTS:** In examined samples, fungal contamination was detected in 205 samples (85/14 %) out of 240 samples. The corn (32/5%) was the most contaminated feed, followed by soybean (29/16%) and finished feed (23/75%). The predominant fungi isolated were *Fusarium* spp. (41/3 %), *Penicillium* spp. (37/9%), *Cladosporium* spp. (21.3 %), *Paecilomyces* spp. (17.1%), *Aspergillus fumigatus* (13/3 %), *Aspergillus niger* (12.9%) and *Yeast* spp. (12.9 %). Frequency of toxin -forming fungi was significantly higher than the non- toxin -forming fungi ( $p < 0/001$ ). The mean total count of fungi was estimated  $2/9 \times 10^5$  CFU/gr. **CONCLUSIONS:** The findings of this research showed the high prevalence of fungal contamination as well as high frequency of toxin -forming fungi. Therefore, the feed raw materials are important vehicles for introduction of fungal organisms into poultry feed and fungal growth reduces the nutritional value of feeds. A program should be considered in order to control, limit and delete the fungi from feeds.

**Keyword:** Poultry feed, fungal contamination, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** The frequency of fungal contamination in samples according to feed type and season.

**Table 2.** The frequency of various fungi isolated from feed samples in different seasons.

**Figure 1.** The frequency of fungi isolated according to the sampling season.

**Figure 2.** The frequency of fungi isolated according to feed type.

\*Corresponding author's email: eidi@um.ac.ir, Tel: 051-38805627, Fax: 051-38807076

