مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۷، دوره ۷۳، شماره ۱، ۶۱-۵۵
Original Article
DOI: 10.22059/jvr.2018.209452.2488

آلودگی نمونه‌های سیلوی ذرت و کنسانتره به قارچ‌ها و آفلاتوکسین B1 در تعدادی از گاوداری‌ها در برخی از شهرهای استان یزد

سپیده ترابی[1] رامک یحیی رعیت[2*] حجت اله شکری[3] علیرضا خسروی[2]

۱) بخش کنترل مواد غذایی، اداره کل دامپزشکی استان یزد، یزد، ایران
۲) گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران
۴) مرکز تحقیقات قارچ شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۲۰ آبان ماه ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۲۵ دی ماه ۱۳۹۶)

چکیده

زمینه مطالعه: آفلاتوکسین B۱ یک متابولیت ثانویه سمی است که توسط برخی از گونه‌های توکسین‌زای آسپرژیلوس به خصوص آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید شده و موجب آلودگی مواد غذایی دامی می‌گردد. **هدف:** هدف از این مطالعه بررسی آلودگی نمونه‌های کنسانتره و سیلوی ذرت به قارچ‌های توکسین‌زا و آفلاتوکسین B۱ در گاوداری‌های استان یزد در ایران بود. **روش کار:** تعداد ۸۰ نمونه کنسانتره و ۸۰ نمونه سیلوی ذرت از گاوداری‌های ۴ شهر استان یزد در دو فصل زمستان و بهار (۴۰ نمونه در هر فصل و یک نمونه از هر واحد گاوداری) جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها به منظور جداسازی و تعیین قارچ‌های توکسین‌زا بر روی محیط‌های قارچ‌شناسی کشت داده شدند. به صورت همزمان، میزان آفلاتوکسین B۱ موجود در نمونه‌های جیره به روش الایزا اندازه‌گیری گردید. **نتایج:** نتایج نشان دادند که در فصل زمستان گونه‌های آسپرژیلوس (۴۹/۳ ٪)، پنی‌سیلیوم (۲۳ ٪)، موکور (۲۲/۳ ٪) و فوزاریوم (۴/۸ ٪) و در فصل بهار گونه‌های آسپرژیلوس (۴۶/۹٪)، پنی‌سیلیوم (۲۱/۸ ٪)، موکور (۲۸/۵ ٪) و فوزاریوم (۲/۸ ٪) فراوانترین قارچ‌های جدا شده از کل جیره‌های غذایی تحت آزمایش بودند. میانگین آفلاتوکسین B۱ در جیره‌ها به ترتیب در زمستان و بهار ۰/۲۵ µg/kg و ۰/۲۱ µg/kg بود. بر پایه آزمون‌های آماری نتایج، اختلاف‌های معنی‌داری بین فراوانی جدایه‌های آسپرژیلوس با سایر گونه‌های قارچی و همچنین بین قارچ‌های توکسین‌زا نظیر آسپرژیلوس، فوزاریوم و پنیسیلیوم با سایر قارچ‌های جدا شده مشاهده گردیدند ($p<0/05$). در بین قارچ‌های توکسین‌زا، اختلاف‌های معنی‌داری بین گونه‌های آسپرژیلوس و پنیسیلیوم، گونه‌های آسپرژیلوس و فوزاریوم و گونه‌های پنیسیلیوم و فوزاریوم مشاهده گردیدند ($p<0/05$). ارتباط معنی‌داری بین تعداد قارچ‌های توکسین‌زا با آفلاتوکسین B۱ جیره‌ها مشاهده شد ($p<0/05$). **نتیجه گیری نهایی:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهند که تشخیص سریع و اختصاصی قارچ‌های مولد آفلاتوکسین جهت اطمینان از سلامت قارچی مواد غذایی دامی ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آسپرژیلوس، آفلاتوکسین B۱، جیره غذایی، گاوهای شیری

مقدمه

قارچ‌ها قادر به تولید دامنه وسیعی از ترکیبات مختلف به نام متابولیت‌های ثانویه می‌باشند. در بسیاری موارد نقش این ترکیبات روی خود ارگانیسم ناشناخته است، ولی ممکن است بسیاری از این متابولیت‌های شناخته شده از نظر دارویی، صنعتی و یا کشاورزی اهمیت داشته باشند. مایکوتوکسین‌ها گروهی از ترکیبات سمی هستند که اغلب توسط گونه‌های متعددی از جنس‌های قارچی آسپرژیلوس، فوزاریوم و پنی‌سیلیوم در مواد غذایی انسان و دام تولید می‌شوند(۱،۲۵). مایکوتوکسین‌ها به عنوان یکی از بارزترین آلوده کننده‌های مواد غذایی شناخته شده‌اند که بهداشت عمومی، امنیت غذایی و اقتصاد ملی بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در میان مایکوتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها به علت اثرات سرطان زایی و ایجاد مسمومیت حاد از اهمیت بیشتری برخوردار هستند(۹). از میان ۱۸ نوع مختلف آفلاتوکسین شناخته شده، آفلاتوکسین‌های B۱، B۲، G۱ و G۲ توسط آژانس بین المللی تحقیقات سرطان (IARC) در گروه A عوامل سرطان‌زا قرار گرفته‌اند. در این میان سمیت آفلاتوکسین B۱ بیش از انواع دیگر می‌باشد (۲۳). مهمترین قارچ‌های مولد آفلاتوکسین‌ها شامل آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس، آسپرژیلوس نومیوس، آسپرژیلوس تاماری و آسپرژیلوس پزودوتاماری می‌باشند (۲۱). قارچ‌های مولد آفلاتوکسین‌ها در شرایط مطلوب نظیر رطوبت بیش از ۱۵ ٪، حداقل دمای محیطی ۲۵ °C، وجود اکسیژن کافی و به طور ویژه در شرایط اقلیمی گرم و مرطوب روی انواع غلات، دانه‌های روغنی و محصولات جانبی حاصل از آن‌ها ، انواع میوه‌ها و آب میوه‌ها، فرآورده‌های غذایی با منشا حیوانی و علوفه‌های دامی رشد و آن‌ها را آلوده می‌کنند (۶،۱۸،۲۵). زمانی که حیوانات جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین B۱ را مصرف نمایند، این سم در کبد آن‌ها متابولیزه شده و حدود یک پانزدهم آن به صورت آفلاتوکسین M۱ (از متابولیت‌های آفلاتوکسین B۱) در شیر، ادرار و مدفوع ترشح می‌شود (۲۶). آفلاتوکسین‌ها قابلیت مهار سیستم ایمنی، جهش‌زایی، ایجاد ناهنجاری‌های جنینی و سرطان‌زایی دارند (۱۱،۲۰).

نظر به این که آلودگی مواد غذایی با منشاء دامی به مایکوتوکسین‌ها،

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۷۰۵۰ نمابر: ۰۲۱-۶۶۹۳۳۲۲۲ Email: ryahya@ut.ac.ir

اغلب در اثر مصرف خوراک آلوده توسط حیوانات تولید کننده این گروه از غذاها صورت می‌گیرد، کشورهایی که دارای استانداردهای مناسب برای خوراک دام می‌باشند کمتر با مسائل بهداشتی مواجه هستند، در حالی که درکشورهای جهان سوم عدم رعایت و توجه به کنترل خوراک دام، علاوه بر ایجاد زیان‌های اقتصادی، مصرف‌کنندگان مواد غذایی با منشاء دامی را نیز به مخاطره می‌اندازد. لذا ارزیابی و ردیابی عوامل قارچی توکسین‌زا و آفلاتوکسین‌ها به ویژه آفلاتوکسین B1 در خوراک دام و مقایسه آن با استانداردها به منظور پیش آگاهی، ارائه پیشنهادات و انجام اقدامات مناسب جهت پیشگیری از آفلاتوکسیکوزیس در دام و انسان، ضروری به نظر می‌رسد. در مطالعات قبلی حضور آفلاتوکسین B1 در نمونه‌های جیره غذایی گاوداری‌های استان‌های مازندران و کرمان نشان داده شده است (۱۰،۲۴). با توجه به اینکه تاکنون هیچ مطالعه‌ای در این زمینه در استان یزد انجام نشده، در این پژوهش سعی شده است میزان آلودگی خوراک مصرفی گاوهای شیری به قارچ‌های توکسین‌زا و آفلاتوکسین B1 در برخی از شهرهای استان یزد در دو فصل زمستان و بهار مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

جمعیت مورد مطالعه: روش مطالعه از نوع توصیفی-تحلیلی بود و جمعیت تحت مطالعه گاوداری‌های استان یزد تعیین گردید. در طول اجرای طرح، در دو فصل زمستان و بهار به این گاوداری‌ها مراجعه شد و نسبت به تکمیل پرسشنامه اقدام گردید. گاوداری‌های مورد مطالعه از بین کل دامداری‌های موجود در استان یزد انتخاب گردیدند که اولاً دارای بیش از ۲۰ راس گاو شیری و یا میزان تولید شیر بالای ۱۰۰ L در روز بودند و ثانیاً شیر خود را به صورت روزانه به کارخانه شیر پاستوریزه تحویل می‌دادند. با توجه به اینکه تعداد گاوداری‌های شیری با شرایط فوق در حدود ۳۰۰ مورد بود، از این میان، ۴۰ مزرعه از شهرهای یزد، تفت، صدوق و مهریز (۱۰ مزرعه از هر شهر) جهت نمونه‌برداری سیلوی ذرت و کنسانتره انتخاب گردیدند.

نمونه‌برداری: تعداد ۴۰ نمونه (هر نمونه ۵ kg) در هر فصل (یک نمونه از هر مزرعه) با روش نمونه‌گیری استاندارد (از پنج نقطه، کناره‌ها و وسط انبار) از مواد غذایی کنسانتره و سیلوی ذرت برداشت و در شرایط استریل و در داخل کیسه به آزمایشگاه قارچ‌شناسی منتقل گردیدند.

کشت نمونه‌های غذایی، شناسایی و شمارش کلنی قارچ‌ها: یک گرم از هر نمونه به داخل لوله‌های بزرگ حاوی ۱۰ ml آب مقطر استریل اضافه گردید. بعد از تکان دادن شدید و اطمینان از مخلوط شدن آن‌ها ، لوله‌ها به مدت یک ساعت به صورت ساکن در حرارت آزمایشگاه نگهداری شدند. سپس به میزان ۰/۱ ml از مایع رویی برداشت نموده و در پلیت‌ها به روش خطی کشت داده شد. برای هر نمونه از ۴ نوع محیط کشت مختلف شامل محیط سابورو دکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل (۰/۰۵g/L)، محیط چاپکس داکس آگار، محیط پوتیتو دکستروز آگار و محیط رزبنگال آگار استفاده شد. بعد از این مرحله، پلیت‌ها به مدت حداقل یک هفته در انکوباتور ۳۰ °C نگهداری شدند و روزانه از نظر رشد قارچی کنترل گردیدند. زمانی که رشد قارچ‌ها کامل گردید، کلنی‌های قارچی از لحاظ مورفولوژی مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین تعداد آن‌ها در هر محیط کشت خطی شمارش و یادداشت گردید (۱۶).

اندازه‌گیری آفلاتوکسین B1: کیت الایزای مورد استفاده به شماره R۱۲۱۱ مربوط به شرکت R-biofarm از آلمان بود. کیت مذکور از انواع الایزای مستقیم رقابتی و دارای حد جستجوی پایین‌تر از ۰/۱ µg/kg برای مواد غذایی است. در ابتدا، نمونه‌های سیلو و کنسانتره توسط دستگاه میکسر خرد و یکنواخت گردیدند و سپس خالص‌سازی و استخراج سم بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده کیت انجام پذیرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: برای تعیین تفاوت بین گروه‌های مختلف تحت مطالعه از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی و همچنین برای مقایسه آلودگی بین دو فصل از آزمون کای (Chi-square) با کمک نرم افزار SPSS با ویرایش ۱۶ استفاده شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج کشت و بررسی تنوع قارچی کنسانتره وسیلوی ذرت در دو فصل زمستان و بهار: در این مطالعه تعداد ۴۰ نمونه کنسانتره و سیلوی ذرت از دامداری‌های ۴ شهر استان یزد و در مجموع ۸۰ نمونه خوراک در دو فصل جمع‌آوری گردید و همه نمونه‌ها از نظر کشت قارچی مورد بررسی قرار گرفتند. چنانچه در جداول ۱ و ۲ مشاهده می‌شود در فصل زمستان، گونه‌های آسپرژیلوس (۴۹/۳ %)، پنی‌سیلیوم (۲۳ %)، موکور (۲۲/۳ %) و فوزاریوم (۴/۸ %) و در فصل بهار، گونه‌های آسپرژیلوس (۴۶/۹ %)، پنی‌سیلیوم (۲۱/۸ %)، موکور (۲۸/۵ %) و فوزاریوم (۲/۸ %) به ترتیب فراوانترین قارچ‌های جدا شده از جیره‌های غذایی تحت آزمایش بودند. اختلاف معنی‌داری میان فراوانی گونه‌های آسپرژیلوس با قارچ‌های دیگر مشاهده گردید ($p<0/05$). همچنین بین گونه‌های پنی‌سیلیوم و موکور با گونه‌های فوزاریوم نیز اختلاف‌های معنی‌داری مشاهده گردیدند ($p<0/05$). درصد گونه‌های مختلف جنس آسپرژیلوس به ترتیب در فصول زمستان و بهار عبارت بودند از: آسپرژیلوس فلاووس (۲۳/۷ و ۱۱/۱ %)، آسپرژیلوس فومیگاتوس (۱۱/۸ و ۲۳ %) آسپرژیلوس نیجر (۱۱/۱ و ۱۱/۱ %) و آسپرژیلوس کلاواتوس (۲/۷ و ۱/۷ %).

نتایج سنجش میزان آفلاتوکسین B1 در جیره غذایی دامداری‌های استان یزد: نتایج نشان دادند که همه نمونه‌ها آلوده به آفلاتوکسین B1 بودند. از این تعداد نمونه، در فصل زمستان ۶۲ نمونه و در فصل بهار ۴۹ نمونه میزان فلاتوکسین B1 بالاتر از حد استاندارد کشورهای اروپایی

جدول ۱. آلودگی قارچی نمونه‌های کنسانتره و سیلوی ذرت در تعدادی از گاوداری‌های شهرهای مختلف استان یزد در فصول زمستان و بهار.

نوع قارچ / نوع جیره	آسپرژیلوس				فوزاریوم	پنی‌سیلیوم	موکور	مخمر
	فومیگاتوس	فلاووس	نیجر	کلاواتوس				
			زمستان					
کنسانتره	+	+	+	+	+	+	+	+
سیلوی ذرت	+	+	+	+	+	+	+	+
			بهار					
کنسانتره	+	+	+		+	+	+	+
سیلوی ذرت	+	+	+	+	+	+	+	+

جدول ۲. فراوانی عوامل قارچی جدا شده از نمونه‌های کنسانتره و سیلوی ذرت در تعدادی از گاوداری‌های شهرهای مختلف استان یزد در فصول زمستان و بهار.

نوع قارچ / نوع جیره	آسپرژیلوس								فوزاریوم		پنی‌سیلیوم		موکور		جمع کل	
	فومیگاتوس		فلاووس		نیجر		کلاواتوس									
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
زمستان																
کنسانتره	۷	۱۰/۴	۱۶	۲۳/۸	۸	۱۱/۹	۲	۲/۹	۳	۴/۴	۱۳	۱۹/۴	۱۸	۲۶/۸	۶۷	۱۰۰
سیلوی ذرت	۱۰	۱۳/۱	۱۸	۲۳/۶	۸	۱۰/۵	۲	۲/۶	۴	۵/۲	۲۰	۲۶/۳	۱۴	۱۸/۴	۷۶	۱۰۰
بهار																
کنسانتره	۱۷	۲۲	۱۰	۱۲/۹	۸	۱۰/۳	۳	۳/۸	۳	۳/۸	۲۰	۲۵/۹	۱۶	۲۰/۷	۷۷	۱۰۰
سیلوی ذرت	۴	۲۳/۵	۱۰	۹/۸	۱۲	۱۱/۷	۰	۰	۲	۷/۹	۱۹	۱۸/۶	۳۵	۳۴/۳	۱۰۲	۱۰۰

داشتند. در فصل زمستان، حداقل و حداکثر میزان میانگین آفلاتوکسین B۱ در مجموع کنسانتره و سیلو در دامداری‌های استان به ترتیب ۰/۱۹۸ µg/kg و ۰/۸۷۵ µg/kg بود که بیشترین دامنه آن بین ۰/۵ µg/kg- ۰/۲ مشاهده شد. در فصل بهار، حداقل و حداکثر میانگین آفلاتوکسین B۱ به ترتیب ۰/۱۶۳ µg/kg و ۰/۳۱ µg/kg بود که بیشترین دامنه آن بین ۰/۵ µg/kg- ۰/۲ مشاهده گردید (جداول ۳،۴). بین میزان قارچ‌های توکسین‌زا با میزان آفلاتوکسین B۱ جیره ارتباط معنی‌داری مشاهده گردید ($p<0/05$). همچنین در بین شهرهای مختلف تحت مطالعه، اختلاف‌های معنی‌دار آماری از نظر آلودگی جیره‌ها به آفلاتوکسین B۱ مشاهده نشدند.

بحث

غالب مواد غذایی که به مصرف حیوانات می‌رسند محیط کشت مناسبی برای رشد قارچ‌ها و تولید سموم می‌باشند. برخی از انواع گونه‌های آسپرژیلوس در شرایط مناسب قادر به تولید آفلاتوکسین‌ها هستند. از این میان، آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس مهمترین مولدین این سموم هستند(۲۷). نتایج بررسی حاضر در زمینه کشت و جداسازی عوامل قارچی از جیره‌های غذایی دامی نشان داد که در فصل زمستان گونه‌های آسپرژیلوس (۴۹/۳ ٪)، پنی‌سیلیوم (۲۳ ٪)، موکور (۲۲/۳ ٪) و فوزاریوم (۴/۸ ٪) و در فصل بهار گونه‌های آسپرژیلوس (۴۶/۹ ٪)، پنی‌سیلیوم (۲۱/۸ ٪)، موکور (۲۸/۵ ٪) و فوزاریوم (۲/۸ ٪) فراوانترین قارچ‌های جدا شده بودند. مطالعات کمی در زمینه فلور قارچی جیره‌های غذایی گاوهای شیری به خصوص سیلو و کنسانتره در ایران انجام شده است که با نتایج ما مطابقت بسیار نزدیکی دارند. در مطالعه Khosravi و همکاران در سال ۲۰۰۴ در استان تهران، با استفاده از کشت و جداسازی عوامل قارچی توکسین‌زا و غیر توکسین‌زا از جیره‌های غذایی دامی، گونه‌های آسپرژیلوس (۶۳/۲ ٪)، پنی‌سیلیوم (۳۶/۸ ٪)، موکور (۳۱/۶ ٪) و کلادوسپوریوم (۲۶/۳ ٪) به ترتیب فراوانترین قارچ‌های جدا شده از جیره‌های تحت آزمایش بودند (۱۴). در مطالعه دیگری که توسط Khosravi و همکاران در سال ۲۰۰۸ در استان قم انجام شد، آسپرژیلوس فومیگاتوس، پنی‌سیلیوم و فوزاریوم مهمترین قارچ‌های جدا شده از سیلو بودند، در حالی‌که در کنسانتره، آسپرژیلوس فومیگاتوس، پنی‌سیلیوم، کلادوسپوریوم و موکور به عنوان شایع‌ترین قارچ‌ها گزارش شدند (۱۲). در بررسی Asghari و همکاران که در سال ۲۰۱۱ بر روی اجزای خوراک دام‌های برخی گاوداری‌های شیری اطراف مشهد انجام شد قارچ‌های آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم، کلادوسپوریوم، موکور و فوزاریوم به عنوان فراوانترین قارچ‌های جدا شده از کنسانتره و سیلوی ذرت گزارش شدند (۲). Hashemi و همکاران در سال۲۰۱۲ گزارش کردند که گونه‌های آسپرژیلوس (۳۱/۵ ٪)، فوزاریوم (۲۲/۸ ٪)، آلترناریا (۲۱/۱ ٪) و پنی‌سیلیوم (۱۵/۷۸ ٪) مهمترین قارچ‌های توکسین‌زا در نمونه‌های سیلوی

جدول ۳. تجزیه و تحلیل آماری مقادیر آفلاتوکسین B۱ درکنسانتره‌های استفاده شده در تعدادی از گاوداری‌های شهرهای مختلف استان یزد در فصول زمستان و بهار.

فصل / منطقه	آفلاتوکسین B۱ در زمستان			آفلاتوکسین B۱ در بهار		
	میانگین (انحراف معیار) (µg/kg)	حداقل (µg/kg)	حداکثر (µg/kg)	میانگین (انحراف معیار) (µg/kg)	حداقل (µg/kg)	حداکثر (µg/kg)
تفت	۰/۲۸۹(±۰/۷۴)	۰/۱۹۹	۰/۸۷۵	۰/۲۳۵(±۰/۷۴)	۰/۱۹۹	۰/۳۱
صدوق	۰/۲۰۴(±۰/۷۴)	۰/۲۰۹	۰/۲۳۸	۰/۱۹۷(±۰/۷۴)	۰/۱۶۳	۰/۲۲۷
مهریز	۰/۲۱۴(±۰/۷۴)	۰/۱۹۸	۰/۲۲۳	۰/۲۰۷(±۰/۷۴)	۰/۱۸۱	۰/۲۲۲
یزد	۰/۲۴۱(±۰/۷۴)	۰/۲۰۱	۰/۳۶۵	۰/۲۱۳(±۰/۷۴)	۰/۲۰۱	۰/۲۲۴

جدول ۴. تجزیه و تحلیل آماری مقادیر آفلاتوکسین B۱ در سیلوهای ذرت استفاده شده در تعدادی از گاوداری‌های شهرهای مختلف استان یزد در فصول زمستان و بهار.

فصل / منطقه	آفلاتوکسین B۱ در زمستان			آفلاتوکسین B۱ در بهار		
	میانگین (انحراف معیار) (µg/kg)	حداقل (µg/kg)	حداکثر (µg/kg)	میانگین (انحراف معیار) (µg/kg)	حداقل (µg/kg)	حداکثر (µg/kg)
تفت	۰/۳۷۳(±۰/۷۴)	۰/۱۷۸	۰/۷۵۴	۰/۲۸۸(±۰/۷۴)	۰/۱۹۸	۰/۳۶۵
صدوق	۰/۳۷۱(±۰/۷۴)	۰/۱۹۸	۰/۴۲۳	۰/۱۸۷(±۰/۷۴)	۰/۱۰۹	۰/۲۶۵
مهریز	۰/۲۱۸(±۰/۷۴)	۰/۱۶۵	۰/۳۹۸	۰/۱۶۸(±۰/۷۴)	۰/۱۱۳	۰/۲۳۲
یزد	۰/۱۸۵(±۰/۷۴)	۰/۱۶۵	۰/۲۲۴	۰/۲۱۶(±۰/۷۴)	۰/۱۸۹	۰/۲۸۷

ذرت جمع آوری شده در قائمشهر بودند (۱۰). Sarafi و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز جنس آسپرژیلوس (۴۴/۶ ٪) و گونه آسپرژیلوس فلاووس (۱۴ ٪) را به عنوان فراوانترین قارچ در نمونه‌های سیلوی ذرت شهر کرمان گزارش نمودند (۲۴). در مطالعه Ghaneian و همکاران در سال ۲۰۱۶، قارچ‌های کلادوسپوریوم، پنی‌سیلیوم، ورتیسیلیوم، آسپرژیلوس و مخمرها شایعترین قارچ‌های جدا شده از جیره‌های غذایی گاوها بودند. نمونه‌های سیلوی ذرت و کنسانتره دارای بیشترین آلودگی به ترتیب ۴۲۶۰۰ و ۴۰۶۰۰ کلونی قارچی بودند (۷). نشانه حضور این دسته از قارچ‌ها در مطالعات مختلف و فراوانی آن‌ها در طبیعت و مواد غذایی موجب افزایش آلودگی قارچی مواد غذایی و تولید سموم مختلف و مخاطرات ناشی از آن‌ها می‌شود. همچنین در این مطالعه، حضور قارچ‌های توکسین‌زا در فصل زمستان (به میزان ۲۸/۵ ٪) بیشتر از فصل بهار (به میزان ۱۳/۹ ٪) بوده است که ارتباط مستقیم آن با تولید بیشتر آفلاتوکسین B۱ در جیره‌های دامی در زمستان نسبت به بهار را نشان می‌دهد.

در مطالعه حاضر، آسپرژیلوس فلاووس مهمترین گونه آسپرژیلوس جدا شده از کنسانتره و سیلو بود. در مطالعه انجام شده توسط Davari و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی سیلو و کنسانتره گاوداری‌های شیری استان خراسان رضوی، آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس در نمونه‌های سیلو و آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس فومیگاتوس در نمونه‌های کنسانتره به عنوان شایعترین گونه‌های آسپرژیلوس شناخته شدند (۵). Ghiasian و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که خوراک کنسانتره شایعترین مواد غذایی آلوده به قارچ هستند و آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس به عنوان قارچ‌های آلوده کننده نمونه‌های کنسانتره گزارش شدند (۸). آسپرژیلوس فلاووس از دسته قارچ‌های توکسین‌زا است که در شرایط حرارت و رطوبت مناسب می‌تواند جیره غذایی را مورد تهاجم قرار داده و آفلاتوکسین تولید نماید. این سموم قادرند موجب مسمومیت، کاهش تولید، نقص پاسخ‌های ایمنی و در نتیجه مستعد نمودن حیوانات به عفونت‌های دیگر و مرگ و میر شوند (۱۹). همچنین در مطالعه حاضر، قارچ‌های فوزاریوم به میزان قابل توجهی جدا شدند. به طور کلی، در شرایط نامناسب نگهداری مواد غذایی نظیر کنسانتره و سیلوی ذرت، شاهد افزایش گونه‌های مختلف فوزاریوم و سموم ناشی از آن‌ها در مواد غذایی خواهیم بود (۴). در این مطالعه برخی از قارچ‌های غیر توکسین‌زا مانند موکور، کلادوسپوریوم و مخمر نیز جدا شده‌اند که از نظر آلرژی‌زایی دارای اهمیت فراوان می‌باشند. لذا کارگران دامداری‌ها که در تماس با این جیره‌های آلوده می‌باشند ممکن است دچار پنومونی ازدیاد حساسیت قارچی شوند (۱۵) و از سوی دیگر سقط جنین‌های قارچی در گاوها با این عفونت‌ها افزایش می‌یابد (۱۳).

در تحقیق حاضر مشاهده گردید حداقل و حداکثر میزان میانگین آفلاتوکسین B۱ در مجموع کنسانتره و سیلو در دامداری‌های استان در فصل زمستان به ترتیب µg/kg ۰/۱۹۸ و ۰/۸۷۵ و در فصل بهار به ترتیب ۰/۱۶۳ و µg/kg ۰/۳۱ بودند که آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری را از نظر حضور آفلاتوکسین B۱ در دو فصل بهار و زمستان نشان داد. مقایسه آلودگی نمونه‌ها به قارچ آسپرژیلوس و سم آفلاتوکسین B۱ نشان می‌دهد که در برخی نمونه‌ها با وجود بالا بودن آلودگی قارچی، میزان آفلاتوکسین B۱ پایین بوده است، ولی در برخی نمونه‌های دیگر با وجودی که میزان آلودگی قارچی به ظاهر زیاد نبوده اما همان مقدار قارچ تولید سم کرده است. نکته قابل ذکر این که هر یک از گونه‌های قارچ آسپرژیلوس در شرایط ویژه‌ای قادر به تولید سم می‌باشند (۲۵). مطالعات مختلف در دنیا حضور آفلاتوکسین B۱ را در انواع جیره‌های غذایی دام‌ها به خصوص سیلوی ذرت و کنسانتره گزارش نمودند (۳،۱۷،۲۲). در مطالعه انجام شده در ایران توسط

Hashemi و همکاران در سال ۲۰۱۲ در قائمشهر، ۴۱ نمونه از ۴۲ نمونه سیلوی ذرت تحت مطالعه، دارای آلودگی با آفلاتوکسین B۱ به میزان ppb ۱/۱ تا ۲۷/۳ بودند (۱۰). همچنین Sarafi و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که سیلوهای ذرت مصرفی در گاوداری‌های استان کرمان آلوده به آفلاتوکسین B۱ بودند (۲۴). تاکنون مطالعه‌ای در زمینه آلودگی کنسانتره به آفلاتوکسین B۱ در ایران انجام نشده است و این تنها مطالعه انجام شده در این مورد در ایران می‌باشد.

از مطالعه حاضر نتیجه‌گیری می‌شود که نمونه‌های کنسانتره و سیلوی ذرت مصرفی در گاوداری‌های برخی شهرهای استان یزد آلوده به قارچ‌های مهم توکسین‌زا نظیر گونه‌های آسپرژیلوس و همچنین آفلاتوکسین B۱ می‌باشند. به طور کلی کنترل آفلاتوکسین‌ها در جیره‌های غذایی مشکل است و با توجه به اینکه آفلاتوکسین M۱ یکی از متابولیت‌های خطرناک آفلاتوکسین B۱ می‌باشد، لذا می‌تواند در شیر گاوهایی که از سیلو و کنسانتره آلوده استفاده می‌کنند وجود داشته باشد. بنابراین لازم است برای حفظ سلامت جامعه، شرایط نگهداری جیره‌های دامی را از لحاظ کیفیت، بهداشت، رطوبت و حرارت مطلوب کرد تا حضور قارچ‌های توکسین‌زا و به دنبال آن تولید سم محدود شود. همچنین با توجه به تنوع آب و هوایی کشور ما و روش‌های گوناگون نگهداری جیره‌های غذایی دامی و تنوع دامداری‌ها به نظر می‌رسد که پژوهشی در سطح ملی لازم و ضروری است تا پس از شناسایی عوامل قارچی خطرساز و سموم آن‌ها ، روش‌های عملی و منطقی برای جلوگیری از رشد بی‌رویه این عوامل و جلوگیری از تولید مایکوتوکسین به کار گرفته شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام پذیرفته است.

References

1. Allameh, A., Razzaghi Abiane, M. (2002) Mycotoxins. (1st ed.) Imam Hussein University Press.
2. Asghari, N. (2011) Evaluation of fungal contamination of feedstuffs in dairy cow husbandry in Mashhad. Iran J Vet Sci Technol. 3: 27-34.
3. Attitallam, I.H., Al-Ani, L.K.T., Nasib, M.A., Balal, I.A.A., Zakaria, M., El-Maragh, S.S.M., Karim, S.M.R. (2010) Screening of fungi associated commercial grains and animal feeds in AL-Bayda governorate, Libya. World Appl Sci J. 9: 746-756.
4. Boudra, H., Morgavi, D.P. (2008) Reduction in Fusarium toxin levels in corn silage with low dry matter and storage time. J Agric Food Chem. 56: 4523-4528.
5. Davari, E., Mohsenzadeh, M., Mohammadi, G., Rezaeian-Doloei, R. (2015) Characterization of aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* strain isolates from animal feedstuffs in northeastern Iran. Iran J Vet Res. 16: 150-155.
6. Fink-Gremmels, J. (2008) Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. Food Addit Contam. 25:172-180.
7. Ghaneian, M.T., Jafari, A.A., Jamshidi, S., Ehrampoush, M.H., Momeni, H., Jamshidi, O., Ghoveh, M.A. (2016) Survey the frequency and type of fungal contaminants in animal feed of Yazd dairy cattles. Iran J Anim Sci Res. 7:422-427.
8. Ghiasian, S.A., Maghsood, A.H. (2011) Occurrence of aflatoxigenic fungi in cow feeds during the summer and winter season in Hamadan, Iran. Afr J Microbiol Res. 5:516-521.
9. Hadizadeh Moalem, S.H., Gholampour Azizi, I., Azarmi, M. (2010) Prevalence of aflatoxin B1 in feedstuffs in northern Iran. Global Vet. 4:144-148.
10. Hashemi, H., Gholampour Azizi, I., Rezai, Z., Rouhi, S. (2012) Mycological survey and total aflatoxin analyze in silage from Qaemshahr city (northern Iran). J Chem Health Risks. 2:51-56.
11. International Agency for Research on Cancer (IARC). (2002) Aflatoxins, In IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans: some traditional herbal medicines, some mycotoxins, Naphtalene and Styrene, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. 82: 301-366.
12. Khosravi, A.R., Dakhili, M., Shokri, H. (2008) A mycological survey on feed ingredients and mixed animal feeds in Ghom province, Iran. Pak J Nutr. 7:31-34.
13. Khosravi, A.R., Shokri, H., Yahyaraeat, R. (2006) Veterinary Mycology. (1st ed.) Jahad-e-Daneshgahee (Tehran) Press. Tehran, Iran.
14. Khosravi, A.R., Shokri, H., Yahyaraeyat, R.,

Soltani, M. (2004) Isolation of toxigenic and nontoxigenic fungi from feedstuff referred to the center of mycology. J Vet Res. 59:221-226.
15. Khosravi, A.R., Shokri, H., Ziglari, T. (2009) Fungal Allergies. (1st ed.) Tehran University Press. Tehran, Iran.
16. Klich, M.A. (2002) Identification of common *Aspergillus* species. Utrecht, Netherlands, CBS.
17. Krnjaja, V., Levic, J., Stankovic, S. (2009) Ubjqity of toxigenic fungi and mycotoxins in animal feeds in republic of Serbia. J Biotechnol Anim Husb. 25:477-497.
18. Magan, M., Olsen, M. (2004) Mycotoxins in food: detection and control. CRC Press LLC, Woodhead Publishing Ltd.
19. Medina, A., Rodriguez, A., Magan, N. (2014) Effect of climate change on *Aspergillus flavus* and aflatoxin B1 production. Front Microbiol. 5:348.
20. Mehrzad, J., Klein, G., Kamphues, J., Wolf, P., Grabowski, N., Schuberth, H.J. (2011) In vitro effects of very low levels of aflatoxin B1 on free radicals production and bactericidal activity of bovine blood neutrophils. Vet Immunol Immunopatol. 141:16-25.
21. Murphy, P.A., Hendrich, S., Landgren, C., Bryant, C.M. (2006) Food Mycotoxins: an update, J Food Sci. 71:51-65.
22. Pitt, J., Hocking, A. (2009) Fungi and Food Spoilage, (3rd ed.) Springer, Berlin-Germany.
23. Quintana, R.V., Alarcon, J.S., Tenorio, M.G., Deng, Y., Waliszewski, S.M., Valera, M.A. (2012) Preventive strategies aimed at reducing the health risks of aflatoxin B1. Toxicol Environ Health Sci. 4: 71-79.
24. Sarafi, O., Chaiechi Nosrati, M., Faezi Ghasemi, M. (2016) Isolation and characterization of toxicogenic fungi strains from wheat and corn used in Kerman city. J Microbial World. 8:330-336.
25. Shokri, H. (2014) Food Mycology. (1st ed.) Mazandaran University Press. Sari, Iran.
26. Shouman, B.O., Doaa, E.L., Morsi, D.E., Shabaan, S., Abdel-Hamid, A.H., Mehrim, A. (2012) Aflatoxin B1 level in relation to child's feeding and growth. Indian J Pediatr. 79:56-61.
27. Yu, J. (2012) Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. Toxins. 4:1024-1057.

Contamination of corn silage and concentrate samples to fungi and aflatoxin B1 in some cattle farms in some cities of Yazd province

Torabi, S.[1], Yahyaraeyat, R.[2*], Shokri, H.[3], Khosravi, A.R.[4]

[1]*Food Control Section, Veterinary Office, Yazd, Iran*

[2]*Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*

[3]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran*

[4]*Mycology Research Center, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*

(Received 11 November 2017, Accepted 15 January 2018)

Abstract:

BACKGROUND: Aflatoxin B1 (AFB1) is a secondary toxic metabolite produced by some *Aspergillus* species, particularly *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) and *A. parasiticus* that contaminate feedstuffs. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to evaluate the contamination of the concentrate and corn silage samples to toxigenic fungi and aflatoxin B1 in cattle farms of Yazd province in Iran. **METHODS:** A total of 80 samples of concentrated feeds and 80 samples of silage feeds were collected from cattle breeding farms of 4 cities in Yazd province in winter and spring seasons (40 samples in each season and one sample from each cattle farm). The samples were cultured on mycological media in order to isolate and determine the amount of the toxigenic fungi. Concurrently, the content of AFB1 was measured in feedstuff samples using ELISA technique. **RESULTS:** The results indicated that the most frequent fungi isolated were *Aspergillus* spp. (49.3%), *Penicillium* spp. (23%), *Mucor* spp. (22.3%) and *Fusarium* spp. (4.8%) in winter and *Aspergillus* spp. (46.9%), *Penicillium* spp. (21.8%), *Mucor* spp. (28.5%) and *Fusarium* spp. (2.8%) in spring from all understudy feedstuffs. The mean of AFB1 in feedstuffs was 0.25 and 0.21 µg/kg in winter and spring, respectively. According to statistical analysis of the results, significant differences were observed between the frequency of Aspergillus isolates and other fungal species ($p<0.05$) and also between toxigenic fungi, such as Aspergillus, *Fusarium* and *Penicillium*, with other isolated fungi ($p<0.05$). Among toxigenic fungi, significant differences were observed between *Aspergillus* and *Penicillium* species, *Aspergillus* and *Fusarium* species and *Penicillium* and *Fusarium* species ($p<0.05$). Significant relationship was observed between the amount of toxigenic fungi and AFB1 in feedstuffs ($p<0.05$). **CONCLUSIONS:** The results obtained by this study show that rapid and specific detection of aflatoxigenic fungi is essential to ensure the mycological safety of animal feedstuffs.

Keyword: aspergillus, aflatoxin B1, feedstuffs, diry cattle

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Fungal contamination of the concentrate and corn silage samples in some cattle farms of different cities of Yazd province in winter and spring seasons.

Table 2. Frequency of fungal agents isolated from the concentrate and corn silage samples in some cattle farms of different cities of Yazd province in winter and spring seasons.

Table 3. Statistical analysis of aflatoxin B1 levels in concentrates used in some cattle farms of different cities of Yazd province in winter and spring seasons.

Table 4. Statistical analysis of aflatoxin B1 levels in corn silages used in some cattle farms of different cities of Yazd province in winter and spring seasons.

***Corresponding author's email: ryahya@ut.ac.ir, Tel: 021-61117050, Fax: 021-66933222**