

## بررسی آلودگی قارچی اجزاء تشکیل دهنده‌ی خوراک و مخلوط خوراک دام‌ها در برخی گاوداریهای شیری اطراف مشهد

نجمه اصغری<sup>۱</sup>، مسلم صادقی<sup>۲</sup>، غلامرضا محمدی<sup>۳</sup>، محمد محسن زاده<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۳- استاد بخش بهداشت و پیشگیری بیماری‌های دامی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

### چکیده

مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی آلودگی قارچی اجزاء تشکیل دهنده خوراک و مخلوط خوراک دامها در برخی گاوداری‌های شیری اطراف مشهد انجام شده است. از ۵ نوع خوراک مختلف (سیلوی ذرت، ذرت، علوفه، کنسانتره و خوراک کامل) در دامپرویهای صنعتی و غیر صنعتی گاو شیری در اطراف مشهد بر روی ۱۳۳ نمونه انجام گرفته است. از کلیه‌ی نمونه‌ها بعد از آماده سازی رقت‌های متوالی تهیه گردید و سپس مقدار ۰/۱ میلی لیتر از هر رقت در داخل محیط کشت PDA به صورت سطحی کشت داده شد و در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت ۵-۷ روز انکوبه شد. در این مطالعه با استفاده از خصوصیات مورفولوژیک ماکروسکوپی و میکروسکوپی، پرگنه‌های قارچ شناسایی گردیدند. در این پژوهش گونه‌های پنی سیلیوم (۶۶.۹۱٪)، اسپرژیلوس (۶۳.۹۰٪)، کلادوسپوریوم (۳۶.۹۰٪)، موکور (۳۱.۵۷٪)، آلترناریا (۲۴.۰۶۵)، رایزوپوس (۱۹.۵۴٪) و فوزاریوم (۱۶.۵۴٪) به ترتیب فراوانترین قارچ‌های جدا شده از خوراک‌های تحت آزمایش بودند. علوفه با میانگین شمارش کلی  $2/6 \times 10^6$  آلوده‌ترین خوراک بود. بین میانگین شمارش کلی قارچ‌ها در گاوداریهای شیری صنعتی و غیرصنعتی اختلاف معنی داری یافت نشد. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که مواد خام خوراک عامل مهمی برای ورود آلودگی قارچی به خوراک دامها محسوب می‌شوند و با توجه به اینکه رشد قارچ‌ها باعث کاهش ارزش غذایی خوراک مصرفی می‌شود بنابراین توصیه می‌شود که مهارکننده‌های رشد قارچی به مواد خام خوراک افزوده شود.

**واژه‌های کلیدی:** محیط کشت - آلودگی قارچی - مهارکننده‌های رشد قارچی

### مقدمه

قارچ‌های موجود در طبیعت غالباً از دسته میکروارگانیزم‌های فرصت طلب می‌باشند که به شکل ساپروفیتی بر روی مواد آلی قادر به رشد و احیاناً تخریب و فساد آن ماده می‌باشند. بر اساس گزارشات با توجه به تنوع گسترده قارچها در طبیعت هر جیره غذایی می‌تواند حاوی برخی از قارچها باشد. مطالعات گسترده‌ای بر روی حضور عوامل قارچی موجود در جیره‌های غذایی مختلف صورت گرفته و نتایج این بررسیها حاکی از آن است که برخی از قارچها ممکن است به جیره خاصی تمایل بیشتری داشته باشند که این امر باید مورد توجه قرار گیرد (۱). حضور برخی از قارچها بر روی جیره‌های غذایی طبیعی بوده و در صورت عدم رشد بی رویه، خطرات بهداشتی به دنبال ندارد ولی برخی از قارچها که موسوم به قارچهای توکسین زا می‌باشند از اهمیت

ویژه‌ای برخوردارند. مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که توسط برخی از قارچ‌ها تولید می‌شوند؛ این متابولیت‌ها که جهت عملکرد طبیعی سلول ضروری نیستند در طبیعت عمدتاً توسط گونه‌هایی از جنس آسپرژیلوس، پنی سیلیوم، فوزاریوم، آلترناریا و کلاویسیس تولید می‌شوند. قارچ‌ها در طبیعت حضور همه جایی دارند و در هر نقطه‌ای که شرایط رشد آنها مهیا باشد از جمله آب، خاک، انواع جیره‌های انسانی و حیوانی و بقایای گیاهی می‌توانند به رشد خود ادامه داده و با تولید توکسین‌های خود نمونه‌های غذایی را به این سموم آلوده نمایند (۶).

## اهداف

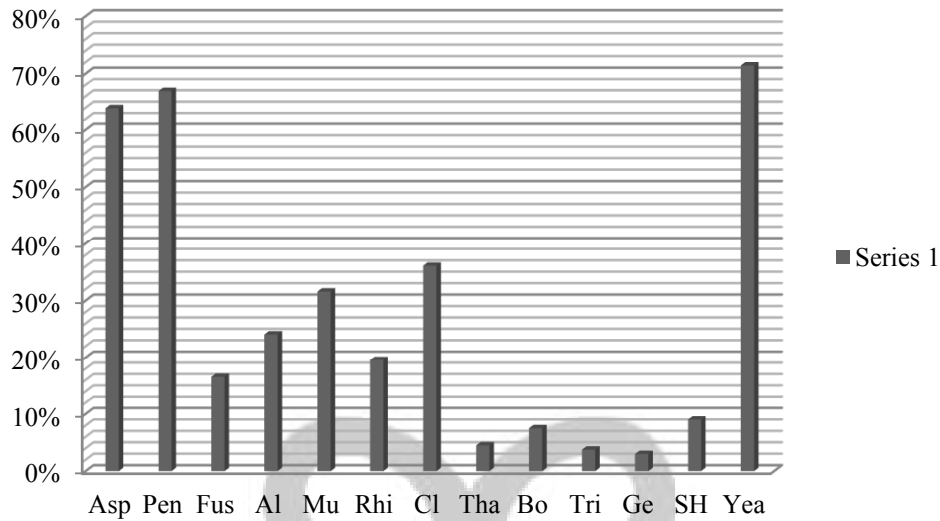
هدف از این بررسی شناسایی انواع قارچ‌های موجود در اجزاء تشکیل دهنده خوراک و مخلوط خوراک دامها و تفکیک گونه‌های توکسین‌زای احتمالی از گونه‌های غیرتوکسین‌زا و همچنین بررسی میزان آلودگی این جیره‌ها توسط قارچ‌های مختلف در برخی گاوداریهای شیری اطراف مشهد است.

## روش کار

در این پژوهش از ۳۰ گاوداری صنعتی و غیر صنعتی گاو شیری اطراف مشهد نمونه‌های خوراک در شرایط استریل جمع‌آوری شد و به آزمایشگاه مواد غذایی دانشکده دامپزشکی مشهد ارسال گردید. سپس این نمونه‌ها در آزمایشگاه از نظر آلودگی قارچی بررسی شدند. با توجه به اقلام مورد نظر جهت بررسی قارچ شناختی از ۵ نوع خوراک مختلف (سیلوی ذرت، ذرت، کنسانتره، خوراک کامل، علوفه) در ۳۰ دامپروری صنعتی و غیر صنعتی گاو شیری در اطراف مشهد در مجموع ۱۳۳ نمونه جمع‌آوری شد، سپس در داخل کیسه‌های استریل و به دانشکده دامپزشکی جهت بررسی وضعیت آلودگی به عوامل قارچی آورده و مورد آزمایش قرار گرفت. تمام نمونه‌ها در ظاهر برای مصرف دام مناسب بودند و علائم قابل‌رویتی از آلودگی قارچی در خوراک مشاهده نمی‌شد لکن در چند واحد گاوداری مواردی از سقط جنین و بیماری سندرم خونریزی دهنده روده (HBS) اتفاق افتاده بود. کلیه نمونه‌ها در اسرع وقت به آزمایشگاه مواد غذایی دانشکده دامپزشکی مشهد انتقال یافتند. در آزمایشگاه نمونه‌ها با آسیاب خرد شده و در پلاستیک فریزر استریل بسته‌بندی، و در ۴ درجه‌ی سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری و از قرار گرفتن در مقابل نور محافظت می‌گردید.

## نتایج و بحث

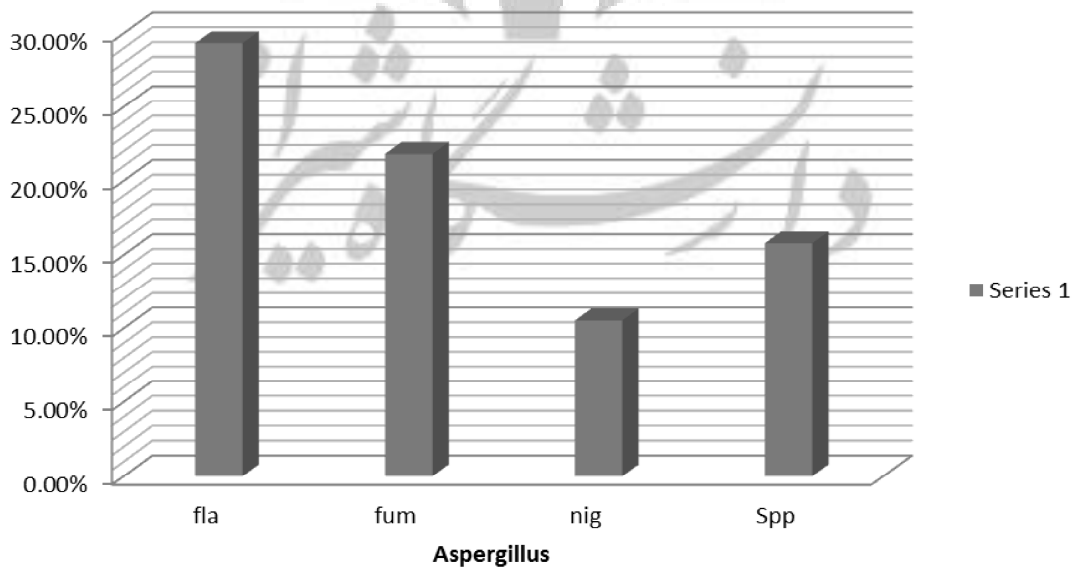
نتایج پژوهش حاضر گویای آن است که اکثریت (۹۳.۹۸٪) خوراک‌های بررسی شده، حاوی تعدادی از قارچ‌های ساپروفیت می‌باشند. به طوری که فراوانترین قارچ شناسایی شده پنی سیلیوم (۶۶.۹۱٪) است. آسپرژیلوس (۶۳.۹۰٪)، کلادوسپوریوم (۳۶.۰۹٪) و موکور (۳۱.۵۷٪) به ترتیب بعد از پنی سیلیوم فراوانترین قارچ‌های جدا شده از خوراک‌ها می‌باشند (نمودار ۱) نمونه‌های علوفه و سیلوی ذرت حاوی فراوانترین تعداد کلنی‌های قارچ‌های رشته‌ای می‌باشند.



Asp: Aspergillus spp, Pen: Penicillium spp, Fus: Fusarium spp, Al: Alternaria spp, Mu: Mucor spp, Rhi: Rhizopus spp, Cl: Cladosporium spp, Tha: Thamnidium spp, Bo: Botrytis spp, Tri: Trichothecium spp, Ge: Geotrichum spp, SH: Strile Hyphae, Yea: Yeast spp.

نمودار ۱- فراوانی نسبی قارچ‌های شناسایی شده از جیره‌های غذایی ارسالی به آزمایشگاه مواد غذایی دانشکده دامپزشکی مشهد.

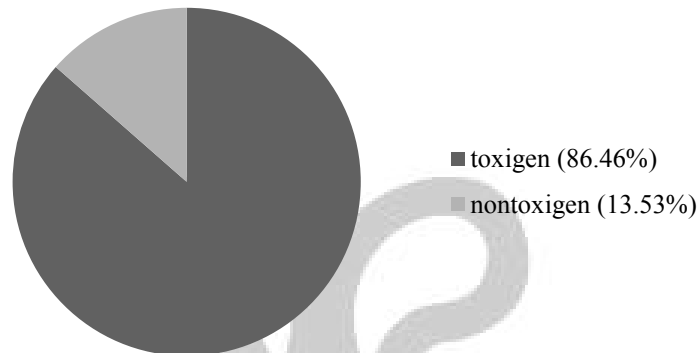
در میان آسپرژیلوس‌های جدا شده، سه گونه‌ی نیجر، فلاووس و فومیگاتوس از کل آسپرژیلوس‌ها شناسایی گردید در حالی که ۱۵.۷۸٪ آن‌ها در حد گونه قابل شناسایی نبودند. آسپرژیلوس فلاووس در ۲۹/۳۲٪ از نمونه‌ها جدا گردید که از نظر خطر توکسین‌زایی حائز اهمیت می‌باشد و نسبت به دو گونه‌ی دیگر آسپرژیلوس که شناسایی شد فراوانتر بود (نمودار ۲).



fla: flavus, fum: fumigatus, nig: niger.

**نمودار ۲- مقایسه‌ی فراوانی نسبی گونه‌های آسپرژیلوس شناسایی شده از جیره‌های غذایی ارسالی به آزمایشگاه مواد غذایی دانشکده دامپزشکی مشهد.**

همچنین نتایج نشان داد که ۸۶/۴۶٪ از نمونه‌ها حاوی قارچ‌های توکسین زای احتمالی (آسپرژیلوس، فوزاریوم، پنی سیلیوم و آلترناریا) بودند (نمودار ۳).



**نمودار ۳- مقایسه‌ی فراوانی نسبی قارچ‌های توکسین زای احتمالی و غیر توکسین زای شناسایی شده از جیره‌های غذایی ارسالی به آزمایشگاه مواد غذایی دانشکده دامپزشکی مشهد.**

نتایج واکاوی آماری نشان داد که در بین ۵ نوع خوراک، علوفه حداکثر آلودگی ( $2.60 \times 10^6$  cfu/g) و خوراک کامل حداقل آلودگی ( $4.64 \times 10^5$  cfu/g) را داشتند (جدول ۱).

**جدول ۱ - میانگین شمارش نام قارچ‌ها در نمونه‌های خوراک دام آزمایش شده.**

نوع جیره	علوفه	سیلوی ذرت	کنسائره	ذرت	خوراک کامل
میانگین شمارش توتال (cfu/g)	$2/60 \times 10^6$	$1/28 \times 10^6$	$6/09 \times 10^5$	$6/02 \times 10^5$	$4/64 \times 10^5$

گرچه تحقیقات زیادی در زمینه‌ی توصیف فلور قارچی در مواد غذایی انسان انجام گرفته است لیکن داده‌های کمی در زمینه‌ی قارچ‌های مایکوتوکسین زا در خوراک دام در دسترس است. شمارش نام قارچ‌ها بخصوص قارچ‌های آفلاتوکسین زا در نمونه‌های خوراک دام یکی از مهمترین فاکتورها است که در اندازه گیری کیفیت بهداشتی و امکان بالای آلودگی غذا با مایکوتوکسین ها نقش دارد (۲).

- در پژوهشی دیگر در ایران و در استان همدان که توسط قیاسیان و مقصود (۲۰۱۱) انجام پذیرفت، قارچ‌های آفلاتوکسین زا در خوراک گاوهای گاودارهای استان همدان بررسی شد. قارچ‌های غالبی که جدا شدند شامل: گونه‌های آسپرژیلوس (۳۷.۴٪)، سپس پنی سیلیوم (۲۳.۷٪)، فوزاریوم (۱۷.۵٪)، کلادوسپوریوم (۹.۱٪)، آلترناریا (۴.۳٪)، رایزوپوس (۳.۹٪) و گونه‌های موکور (۳.۴٪) بودند (۳).

در این مطالعه همانند مطالعه‌ای که در استان همدان توسط قیاسیان و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد (۳) هر چند گاو‌داری‌های صنعتی از شمارش کلنی قارچی بیشتری برخوردار بودند ولی در آنالیز آماری برخلاف مطالعه انجام گرفته در استان همدان، تفاوت معنی داری بین فارم‌های صنعتی و غیر صنعتی گاو شیری مشاهده نشد ( $P>0.05$ ).

خسروی و همکاران (۲۰۰۴) در تهران جداسازی عوامل قارچی توکسین زا و غیر توکسین زا را از جیره‌های غذایی دامی ارسالی به بخش قارچ شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران انجام دادند و بر اساس اطلاعات بدست آمده از نتایج کشت، گونه‌های آسپرژیلوس (۶۳.۲٪)، پنی سیلیوم (۳۶.۸٪)، موکور (۳۱.۶٪) و کلادوسپوریوم (۲۶.۳٪) به ترتیب فراوان‌ترین قارچ‌های جدا شده از نمونه‌های خوراکی تحت آزمایش بودند (۴).

نتایج مشابهی در مطالعه‌ی کارنجاجا و همکاران (۲۰۰۸) در صربستان با آلودگی به گونه‌های آلترناریا با کمترین فراوانی (۹.۹۳٪) نسبت به ۶ جنس قارچی دیگر گزارش شد؛ در این مطالعه فراوانی جنسهای قارچی بیماریزا در خوراک دام بررسی شد و در کشت قارچی نمونه‌های خوراک دام، ۶ جنس قارچی آلترناریا، آسپرژیلوس، فوزاریوم، موکور، پنی سیلیوم و رایزوپوس شناسایی گردید (۵).

همچنین نتایج مشابه با مطالعه ذکر شده در مطالعه‌ای که توسط اولیوریا و همکاران (۲۰۰۶) در برزیل انجام شد به دست آمد؛ مطابق یافته‌های آن قارچهای پنی سیلیوم، آسپرژیلوس و فوزاریوم ۳ گونه قارچی بودند که بیشتر از بقیه‌ی قارچها از خوراک طیور در برزیل جداسازی شدند (۷).

## پیشنهادها

برای به دست آوردن یک تصویر کلی از خطر آلودگی قارچی، نظارت مستمر و منظم خوراک و مواد خامی که بوسیله‌ی سرویس‌های دامپزشکی حمل می‌شود و چک کردن اطلاعاتی مثل شرایط آب و هوایی و شرایط ذخیره کردن ضروری است. به نحوی که می‌توان با کنترل رطوبت و دمای محیط نگهداری خوراک دام و نامساعد کردن شرایط رشد قارچ از تولید سموم قارچی جلوگیری نمود. با توجه به تنوع آب و هوایی کشور ما و روشهای مختلف نگهداری جیره‌های غذایی دامی و تنوع دامداری‌ها، به نظر می‌رسد تحقیقی در سطح ملی ضروری باشد تا پس از شناسایی عوامل قارچی خطر ساز و توکسین‌های آنها، روش‌های علمی و منطقی را برای پیشگیری از رشد بی‌رویه‌ی این عوامل و جلوگیری از تولید مایکوتوکسین‌ها به کار گرفت.

## منابع

- 1- Bokhari Fardos M. Implications of fungal infections and mycotoxins in camel diseases in Saudi Arabia. Saudi Journal of Biological Sciences. 2010; 17: 73-81.
- 2- Dalcero A, Magnoli C, Luna M, Ancasi G, Reynoso M.M, Chiacchiera S, Miazzo R, Palacio G. Mycoflora and naturally occurring mycotoxins in poultry feeds in Argentina. 1998; 141: 37-43.
- 3- Ghiasian S.A and Maghsood A.H. Occurrence of aflatoxigenic fungi in cow feeds during the summer and winter season in Hamadan, Iran. African journal of Microbiology Research. 2011; 5(5): 516-521.
- 4- Khosravi A.R, Shokri H, Yahyaraeyat R, Soltani M. Isolation of toxigenic & nontoxigenic fungi from feedstuffs referred to the center of mycology. J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 2004; 59(3): 221-226. (In Persian)
- 5- Krnjaja V, Stojanovic L.J, Trenkovski S, Bijelic Z. The Frequency of pathogenic fungi genera in animal feed. Lucrari Stiintific. 2008; 53: 341-344.
- 6- Maliha R, Samina K and Najma A. Assessment of mycoflora and aflatoxin contamination of stored wheat grains. International Food Research Journal. 2010; 17: 71-81.
- 7- Oliveira G.R, Ribeiro J.M, Fraga M.E, Cavaglieri L.R, Direito G.M, Keller K.M, Dalcero A.M, Rosa C.A. Mycobiota in poultry feeds and natural occurrence of aflatoxins, fumonisins and zearalenone in the Rio de Janeiro State, Brazil. Mycopathologia. 2006; 162: 355-362.