14(4) 81-86, Winter 2023

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Fungi flora of animal feed and aflatoxin contamination of feed and milk in dairy farms of Sabzevar County

Fariba Farivar [1*], Mahmoud Dastoorani [1], Fakhtak Taliei [2], Fatema Bahri Binabaj [3]

[1] *Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran*
[2] *Department of Plant Medicine, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran*
[3] *Department of Animal science research, Khorasan Razavi agriculture and natural resources research and education center, Agricultural Research, Education and Promotion Organization, Mashhad, Iran*

Key Words

Animal feed
Aspergillus
Aflatoxin B1
Milk
Aflatoxin M1

Abstract

Introduction: Afalatoxins are among the most poisoning secondary metabolites produced by different fungi species such as *Aspergillus flavus* and *Aspergillus paraziticus*. These fungi contaminate different animal feed materials including oil seeds, oil seed meals and forages. Elimination and reduction of aflatoxines in feed using biological, chemical and physical methods of aflatroxin detoxification in large scales are not only non-practical and cost efficient, but also are dangerous for animal health. Therefore, it seems continuously monitoring of animal feed and products is the best method for avoiding of human food chain contamination with these toxins. This research was conducted to investigate the feed and milk aflatoxin contamination and their relationship with feed fungi flora in some dairy cow farms.

Materials & Methods: Concentrate and corn silage were sampled from 5 traditional and 5 industrial dairy farm among dairy farms located around the Sabzevar county, cultivation and identification of feed fungi were done. Milk samples were taken from cooling tank of each farm and transferred to lab in an ice containing flask and were centrifuged to remove fat and then stored in -22°C until analysis. Milk and feed aflatoxin were measured using HPLC method.

Results: The most comon feed pollutants were *Aspergilus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Cladosporium* and *Rhizopus* species. The results of HPLC and fungal culture showed a low level of aflatoxin contamination. The results of this research showed a significant negative correlation between *Aspergilus* contamination and yeast population in silage samples. Aflatoxin M1 contamination was observed in 60 percent of milk samples, however aflatoxin amount was lower than permissive levels in all cases. Mean *Aspergilus* population in concentrate and aflatoxin concentration of milk Comparison among two farm systems, showed that relative contamination in industrial farms was significantly higher than traditional farms.

Conclusion: Results of this research showed that aflatoxin contamination of feed and milk was lower than permissive levels. Based on fungi culture results, it seems that concentrate is more susceptible to fungi and aflatoxin contamination than silage.

* Corresponding Author's email: fariba_farivar@yahoo.com
Received: 14 September 2021; Reviewed: 12 October 2021; Revised: 16 December 2021; Accepted: 17 January 2022
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.311157.2667

مقاله پژوهشی

فلور قارچی خوراک دام و آلودگی آفلاتوکسین خوراک و شیر در گاوداری‌های شیری شهرستان سبزوار

فریبا فریور[*1]، محمود دستورانی[1]، فاختک طلیعی[2]، فاطمه بحری‌بیناباج[3]*

[1] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

[2] گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

[3] بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع‌طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

کلمات کلیدی

خوراک دام
آسپرژیلوس
آفلاتوکسین B1
شیر
آفلاتوکسین M1

چکیده

مقدمه: آفلاتوکسین‌ها یکی از سمی‌ترین متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط گونه‌های مختلف قارچی ازجمله آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس هستند. این قارچ‌ها مواد غذایی مختلف ازجمله غلات، دانه‌های روغنی، کنجاله‌ها و علوفه‌ها را آلوده می‌کنند حذف و کاهش آفلاتوکسین‌ها با روش‌های بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی نه تنها در مقیاس وسیع قابل انجام و مقرون به‌صرفه نیستند، بلکه می‌تواند خطراتی از نظر سلامت غذای دام‌ها نیز داشته باشند. بنابراین، به‌نظر می‌رسد پایش پیوستهٔ خوراک دام و تولیدات دامی از نظر آلودگی با قارچ‌های توکسین‌زا و آفلاتوکسین‌ها بهترین روش جلوگیری از راه یافتن این سموم به درون زنجیره غذایی انسان باشد. این پژوهش به‌منظور اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین در خوراک و شیر و ارتباط آن با فلور قارچی خوراک مصرفی در گاوداری‌های شیری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: کنسانتره و سیلاژ ذرت ۱۰ گاوداری (۵ واحدگاوداری سنتی و ۵ واحدگاوداری صنعتی) از بین دامداری‌های اطراف شهرستان سبزوار به تفکیک نمونه‌گیری و به آزمایشگاه منتقل شد و سپس جداسازی، کشت و تشخیص قارچ‌های موجود در نمونه‌های خوراک دام انجام شد. نمونه‌های شیر از مخزن شیر دامداری‌های مورد مطالعه گرفته شد و بلافاصله در فلاکس حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل و پس از سانتریفوژ و جدا کردن چربی، تا هنگام آنالیز، در فریزر ۲۲- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. آفلاتوکسین موجود در خوراک و شیر به‌روش HPLC اندازه‌گیری شد.

نتایج: بیش‌ترین عامل آلودگی خوراک دام، مخمرها، پنیسیلیوم، آسپرژیلوس، تریکودرما، آلترناریا، کلادوسپوریوم و رایزوپوس بودند. نتایج این تحقیق همبستگی منفی معنی‌داری را بین آلودگی به قارچ آسپرژیلوس و جمعیت مخمرها در نمونه‌های سیلاژ ذرت نشان داد. نتایج مطالعه آفلاتوکسین در شیر دامداری‌ها وجود آفلاتوکسین M1 را در ٦۰ درصد نمونه‌ها نشان داد. مقایسه میانگین جمعیت آسپرژیلوس در کنسانتره و غلظت آفلاتوکسین شیر بین دو گروه گاوداری نشان داد که آلودگی نسبی در گاوداری‌های سنتی نسبت به گاوداری‌های صنعتی به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که میزان آلودگی آفلاتوکسین درنمونه‌های خوراک و شیر از حد مجاز پایین‌تر بود. براساس نتایج کشت قارچ، به‌نظر می‌رسد کنسانتره نسبت به سیلاژ بیش‌تر در معرض آلودگی قارچی و حضور آفلاتوکسین باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: fariba_farivar@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۲۳ شهریور ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۲۰ مهر ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۲۵ آذر ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۲۷ دی ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.311157.2667

مقدمه

آفلاتوکسین‌ها یکی از سمی‌ترین متابولیت‌های ثانویه تولیدشده توسط گونه‌های مختلف قارچی ازجمله آسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) و آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*A. Parasiticus*) هستند. این قارچ‌ها مواد غذایی مختلف ازجمله غلات، دانه‌های روغنی، کنجاله‌ها و علوفه‌ها را آلوده می‌کنند (۱). بیش از ۲۰ نوع مختلف آفلاتوکسین شناخته شده‌اند (۲)، اما چهار نوع آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 سمی‌ترین مایکوتوکسین‌های شناخته‌شده هستند (۳). وجود آفلاتوکسین در خوراک دام علاوه بر کاهش قابلیت هضم و تخمیر شکمبه (۴، ۵)، کاهش مصرف خوراک، و تولید شیر و ضعف سیستم ایمنی (۶) منجر به بروز عوارضی از قبیل سیروز کبدی، تومورزایی و جهش‌زایی در حیوانات می‌شود (۷). هنگامی‌که مواد خوراکی آلوده به آفلاتوکسین B1 و B2 توسط گاوهای شیری مصرف می‌شود، در کبد هیدروکسیله شده و به آفلاتوکسین M1 تبدیل می‌شوند که در شیر و ادرار حیوان قابل اندازه‌گیری است (۳). آفلاتوکسین M1 به اندازه آفلاتوکسین B1 سمی است، اما قابلیت سرطان‌زایی آن یک‌دهم آفلاتوکسین B1 است (۸). در کنار صدمات جبران‌ناپذیر به صنعت دامپروری، ورود آفلاتوکسین M1 از طریق شیر به زنجیره غذایی انسان، اثرات جبران‌ناپذیر بر سلامت جوامع بشری دارد (۹، ۱۰، ۶). آلودگی خوراک دام و طیور با قارچ‌های توکسین‌زا (Toxigenic) به‌عنوان اصلی‌ترین راه آلودگی محصولات دامی با آفلاتوکسین‌ها در مطالعات مختلفی در ایران (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴) و سایر کشورهای دنیا (۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹) گزارش شده است. حذف و کاهش آفلاتوکسین‌ها با روش‌های بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی نه تنها در مقیاس وسیع قابل انجام و مقرون به صرفه نیستند، بلکه می‌تواند خطراتی از نظر سلامت غذای دام‌ها نیز داشته باشند (۲۰). بنابراین، به‌نظر می‌رسد پایش پیوستهٔ خوراک دام و تولیدات دامی ازنظر آلودگی با قارچ‌های توکسین‌زا و آفلاتوکسین‌ها بهترین روش جلوگیری از راه یافتن این سموم به‌درون زنجیره غذایی انسان باشد (۲۱). لذا تحقیق حاضر به‌منظور بررسی جمعیت قارچ‌های مختلف و تعیین مقدار آلودگی آفلاتوکسین B1 و M1 خوراک و شیر در گاوداری‌های شیری انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

دامداری‌ها و نمونه‌برداری از خوراک دام و شیر: برای این منظور تعداد ۵ واحد گاوداری سنتی و ۵ واحد گاوداری صنعتی از بین دامداری‌های اطراف سبزوار انتخاب و مقدار ۲۰۰ گرم از کنسانتره و سیلاژ ذرت آن‌ها به تفکیک نمونه‌برداری و در کیسه‌های استریل به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های شیر از مخزن جمع‌آوری شیر دامداری‌های مورد مطالعه گرفته شد و پس از سانتریفوژ و جدا کردن چربی، تا هنگام آنالیز در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

کشت و تشخیص قارچ‌ها در نمونه‌های خوراک: جهت بررسی اولیه وجود یا عدم وجود کپک و قارچ در خوراک دام، از هر یک از نمونه‌ها، اسلایدهای میکروسکوپی نیمه‌دایمی به کمک بلولاکتوفنل تهیه شد و سپس مورد بررسی قرار گرفت. در اسلایدهایی که کپک مشاهد شد، کپک‌ها با استفاده از منابع قابل دسترس و کلیدهای شناسایی (۲۲، ۲۳)، مطالعه و شناسایی و از آن‌ها عکس تهیه شد. سپس نمونه‌ها در پلیت‌های استریل حاوی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (۲۰ گرم- ۲۰ گرم) در انکوباتور ۳۰-۲۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ هفته کشت داده شد. پس از آن، محتویات پلیت‌ها بررسی و از هر کدام اسلایدهای میکروسکوپی در محلول بلولاکتوفنل تهیه و مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفت (۲۴). از پلیت‌ها و اسلایدهای دارای قارچ مناسب به‌وسیله استریومیکروسکوپ و میکروسکوپ عکس‌بردار، عکس تهیه شد. سپس بررسی و تشخیص گونه‌های کپک با استفاده از کلیدهای معتبر قارچ‌شناسی انجام گرفت. هر یک از کپک‌ها پس از شناسایی، جداسازی و در پلت‌های استریل حاوی محیط سابورودکسترو آگار (دکسترین- آگار- پپتون) در انکوباتور ۲۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت کشت داده شد. جهت اطمینان از خلوص نمونه‌ها از روش کشت بر روی لام نیز استفاده شد (۲۴).

اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین در خوراک دام و شیر: اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین درنمونه‌های خوراک به‌روش HPLC انجام گرفت (۲۵). برای این منظور ابتدا نمونه‌ها خشک و آسیاب شده، سپس با متانول ۷۰ درصد عصاره‌گیری شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت عصاره گرفته شده با استفاده از پمپ خلا از کاغذ صافی واتمن گذرانده شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر محلول صاف شده با ۶۰ میلی‌لیتر بافر BPS مخلوط شد. برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر از روش HPLC با استفاده از ستون ایمونوافینیتی استفاده شد (۲۶). برای این منظور ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه شیر به لوله مناسب آزمایش منتقل و سپس با دور ۴۵۰۰g به‌مدت ۵ دقیقه دو بار متوالی سانتریفوژ گردید. آن‌گاه لایه چربی از روی شیر جدا و از شیر بدون چربی به‌دست آمده برای انجام مراحل بعدی آزمایشات استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها در هر گروه از آزمون t-student استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

فراوانی گونه‌های مختلف قارچی در خوراک دام: نتایج کشت قارچی نشان داد که عمده قارچ‌های موجود در نمونه‌های سیلاژ از نوع مخمرها بودند (۸۰/۵۸ درصد) و آلودگی سیلاژ با سایر گونه‌ها و به‌ویژه قارچ آلترناریا (*Alternaria*) (با فراوانی صفر درصد) در بین نمونه‌های مورد بررسی بسیار نادر بود (جدول ۱). فراوانی گونه آسپرژیلوس نیز در نمونه‌های سیلاژ نسبتاً پایین (۳/۲۵ درصد) بود و تنها در دو دامداری مشاهده شد. کشت قارچی نمونه‌های کنسانتره گاوداری‌های مورد مطالعه نشان داد که گونه‌های پنی‌سیلیوم (*Penicillium*)، کلادوسپوریدیوم (*Cladosporium*)، آلترناریا، تریکودرما (*Trichoderma*)، مخمر، آسپرژیلوس فلاووس و رایزوپوس (*Rhizopus*) بر روی این مواد رشد نموده و آن‌ها را آلوده ساخته است (جدول ۱).

جدول ۱: فراوانی نسبی (درصد) گونه‌های مختلف قارچی در نمونه‌های سیلاژ دامداری‌های مورد مطالعه

	سیلاژ (میانگین ± خطای استاندارد)	کنسانتره (میانگین ± خطای استاندارد)
پنی‌سلیوم	۶/۲۷±۳/۳۴	۳۵/۹۱±۵/۷۶
تریکودرما	۰/۷۴±۰/۷۴	۱/۷۱±۰/۹۸
آلترناریا	۰/۰۰±۰/۰۰	۶/۰۰±۲/۶۴
آسپرژیلوس	۳/۲۵±۲/۴۱	۱۱/۵۶±۴/۸۷
کلادوسپوریوم	۵/۲۴±۲/۹۶	۱۶/۷۹±۳/۶۱
رایزوپوس	۳/۲۰±۰/۳۲	۷/۴۶±۲/۰۶
مخمر	۸۰/۵۸±۹/۹۱	۶/۲۵±۶/۲۵
گونه‌های ناشناخته	۴/۳۰±۰/۴۳	۴/۳۱±۱/۹۲

فراوان‌ترین گونه‌های قارچی در نمونه‌های کنسانتره، قارچ پنی‌سیلیوم (۳۹/۹٪) و کلادوسپوریوم (۱۸/۵ درصد) و نادرترین گونه، تریکودرما با فراوانی ۱/۹ درصد بود (جدول ۱). فراوانی قارچ آسپرژیلوس در نمونه‌های کنسانتره با رتبه سوم حدود ۱۲/۵ درصد بود و آلودگی با قارچ آسپرژیلوس در ۸۰ درصد نمونه‌های کنسانتره گاوداری‌های مورد مطالعه در این تحقیق مشاهده شد. نتایج این تحقیق همبستگی منفی معنی‌داری ($P<0/05$) را بین آلودگی به قارچ آسپرژیلوس و جمعیت مخمرها در نمونه‌های سیلاژ ذرت نشان داد (جدول ۲)، اما ارتباط معنی‌داری بین جمعیت مخمرها و گونه آسپرژیلوس در نمونه‌های کنسانتره مشاهده نشد. مقایسه میانگین جمعیت آسپرژیلوس فلاووس در نمونه‌های کنسانتره بین دو گروه دامداری صنعتی و سنتی (جدول ۳) نشان داد که میزان آلودگی در گاوداری‌های صنعتی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گاوداری‌های سنتی بود (۳/۰۰ در برابر ۰/۴۰ واحد تشکیل دهنده کلونی در گرم نمونه، $P<0/05$) اما میانگین جمعیت سایر قارچ‌ها در بین دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت (به‌ترتیب ۶۶/۸۰ در برابر ۸۲/۲۵ واحد تشکیل دهنده کلونی در گاوداری‌های سنتی و صنعتی).

جدول ۲: همبستگی بین فراوانی نسبی جمعیت مخمرها و قارچ آسپرژیلوس درنمونه‌های سیلاژ و کنسانتره

	فراوانی جمعیت مخمر (میانگین ± خطای استاندارد)	فراوانی جمعیت قارچ سپرژلوس (میانگین ± خطای استاندارد)	ضریب همبستگی	سطح معنی‌داری
سیلاژ	۸۰/۵۸±۹/۹۱	۳/۲۵±۲/۴۱	- ۰/۹۵	۰/۰۰
کنسانتره	۶/۲۵±۶/۲۵	۱۱/۵۶±۴/۸۷	-۰/۲۶	۰/۴۶

جدول ۳: مقایسه میانگین آلودگی کنسانتره به آسپرژیلوس فلاووس و سایر قارچ‌ها (واحد تشکیل‌دهنده کلونی در گرم نمونه) در گاوداری‌های سنتی و صنعتی

نوع قارچ	گروه	تعداد	میانگین	میانگین خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
آسپرژیلوس فلاووس	گاوداری‌های سنتی	۵	۰/۴۰^{b}	۰/۴۰	۰/۰۴۳
	گاوداری‌های صنعتی	۴	۳/۰۰^{a}	۱/۰۸	
سایر قارچ‌ها	گاوداری‌های سنتی	۵	۶۶/۸۰^{a}	۳۵/۰۹	۰/۸۴
	گاوداری‌های صنعتی	۴	۸۲/۲۵^{a}	۷۳/۵۸	

حروف غیریکسان در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

جدول ۴: مقایسه میانگین آلودگی آفلاتوکسین B1 و M1 در خوراک و شیر (میکروگرم بر کیلوگرم) گاوداری‌های صنعتی و سنتی

نوع نمونه	نوع گاوداری	میانگین ± میانگین خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
خوراک	گاوداری‌های سنتی	۳/۲±۲/۵۲^{b}	۰/۳۸
	گاوداری‌های صنعتی	۸/۰۰±۴/۸۳^{a}	
شیر	گاوداری‌های سنتی	۰/۰۰۱± ۰/۰۰۱^{b}	۰/۰۱۶
	گاوداری‌های صنعتی	۰/ ۱۶± ۰/۰۰۵^{a}	

حروف غیریکسان در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است

آلودگی افلاتوکسین در نمونه‌های خوراک و شیر: نتایج نشان داد که در گاوداری‌های سنتی تنها یک نمونه و در گاوداری‌های صنعتی ۴ نمونه خوراک آلوده به آفلاتوکسین بودند، اما میزان آلودگی در هیچ‌یک از نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز نبود. هم‌چنین در گاوداری‌های صنعتی ۸۰ درصد نمونه‌های شیر با محدوده ۰/۰۰۴ تا ۰/۰۳ میکروگرم بر کیلوگرم آلوده به آفلاتوکسین M1 بودند و در گاوداری‌های سنتی تنها در نمونه شیر یک گاوداری آلودگی به آفلاتوکسین M1 مشاهده شد. مقایسه میزان آلودگی در بین دو گروه گاوداری نشان داد که میانگین آلودگی آفلاتوکسین نمونه‌های شیر در دامداری‌های صنعتی به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) بالاتر از گاوداری‌های سنتی بود (جدول ۴).

بحث

مطالعات کمی در زمینه فلور قارچی خوراک دام در ایران انجام شده است. در مطالعه‌ای Khosravi و همکاران، گزارش کردند که گونه‌های آسپرژیلوس (۶۳/۲ درصد)، پنیسیلیوم (۳۶/۸ درصد)، موکور (Mucor) (۳۱/۶ درصد) و کلادوسپوریوم (۲۶/۳ درصد) به‌ترتیب فراوان‌ترین قارچ‌های جداشده از نمونه‌های خوراک گاوداری‌های شیری در استان تهران بودند (۲۷). در مطالعه دیگری که در استان قم بر روی نمونه‌های سیلاژ و کنسانتره دامداری‌ها انجام شد، آسپرژیلوس فومیگاتوس، پنی‌سیلیوم و فوزاریوم (*Fusarium*) مهم‌ترین قارچ‌های جدا شده از نمونه‌های سیلاژ و گونه‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس، پنیسیلیوم، کلادوسپوریوم و موکور فراوان‌ترین گونه‌های قارچی در کنسانتره گزارش شدند (۲۸). Asghari و همکاران، نیز با بررسی اجزای خوراک دام گاوداری‌های شیری اطراف مشهد گزارش کردند که قارچ‌های آسپرژیلوس، پنیسیلیوم، کلادوسپوریوم، موکور و فوزاریوم فراوان‌ترین قارچ‌های آلوده کننده کنسانتره و سیلاژ ذرت هستند (۱۳). گونه‌های قارچی مشاهده شده در خوراک دام در این تحقیق و سایر تحقیقات گزارش شده تا حدود زیادی مطابقت دارد. Ghaneian و همکاران، نیز با مطالعه خوراک دام گاوداری‌های شهرستان یزد، آلودگی با گونه‌های قارچی مشابهی را در نمونه‌های کنسانتره این گاوداری‌ها گزارش کردند (۲۹). این نتایج نشان می‌دهد که اجزای کنسانتره از نظر دارا بودن فاکتورهای لازم جهت رشد قارچ‌ها مانند کربوهیدرات‌ها، چربی، املاح، pH و فشار اسمزی برای رشد این کپک‌ها مناسب هستند. تفاوت در فراوانی گونه‌های قارچی می‌تواند در نتیجه تفاوت در ترکیب کنسانتره یا زمان نمونه‌برداری باشد. نتایج مطالعه Torabi و همکاران، بر روی نمونه جیره‌های غذایی دامی در استان یزد نشان داد که در فصل زمستان گونه‌های آسپرژیلوس (۴۹/۳ درصد)، پنی‌سیلیوم (۲۳ درصد)، موکور (۲۲/۳ درصد و فوزاریوم (۴/۸ درصد) و در فصل بهار گونه‌های آسپرژیلوس (۴۶/۹ درصد)، پنی‌سیلیوم (۲۱/۸ درصد)، موکور (۲۸/۵ درصد) و فوزاریوم (۲/۸ درصد) فراوان‌ترین قارچ‌های جداشده بودند (۳۰). در این تحقیق آلودگی سیلاژ به قارچ آسپرژیلوس تنها در یک گاوداری سنتی مشاهده شد و بررسی‌های بعدی نشان داد که در این دامداری در زمان تهیه و آماده‌سازی سیلاژ، عملیات کوبیدن به‌صورت مطلوب انجام نشده و هم‌چنین پلاستیک استفاده شده برای پوشاندن سیلو دارای منافذ و پارگی بوده که باعث نفوذ هوا و رطوبت به‌داخل سیلو و در نتیجه رشد کپک‌های آسپرژیلوس گردیده است؛ درحالی‌که در سایر گاوداری‌ها، میزان آلودگی سیلاژ با کپک‌ها بسیار ناچیز و در حد صفر درصد بود. گونه آسپرژیلوس فلاووس در محدوده pH ۵ تا ۷ قابلیت رشد و سمیت‌زایی دارد (۲). از آن‌جایی که محیط سیلاژ در صورت تهیه و نگه‌داری صحیح، غالباً pH پایین‌تر از ۵ دارد، فراوانی کم‌تر این گونه در نمونه‌های سیلاژ دور از انتظار نبود. برخلاف نتایج تحقیق حاضر، Sarafi و همکاران، جنس آسپرژیلوس (۶/ ۴۴ درصد) و گونه آسپرژیلوس فلاووس (۱۴ درصد) را به‌عنوان فراوان‌ترین قارچ در نمونه‌های سیلاژ ذرت در شهر کرمان گزارش نمودند (۳۱). تفاوت در نتایج می‌تواند بیانگر تفاوت در روش و سوبسترای مورد استفاده در تهیه سیلاژ و شیوه نگه‌داری و برداشت سیلاژ باشد. مشاهده همبستگی منفی بین جمعیت مخمرها و آسپرژیلوس در نمونه‌های سیلاژ می‌تواند نشان‌دهنده اثر بازدارنده مخمرها بر رشد قارچ آسپرژیلوس باشد. Khosravi و Modir Sanei، گزارش کردند که مخمر ساکارومایسس سرویسیه توانایی کاهش اثرات منفی افلاتوکسین بر عملکرد جوجه‌های گوشتی را دارد (۳۲). Saremi و همکاران، نیز در تحقیقی با هدف کنترل آلودگی آفلاتوکسینی پسته گزارش کردند که استفاده از مخمر پیشیا آنومالا در کنترل جمعیت آسپرژیلوس موثر است (۳۳). آلودگی کنسانتره یا اقلام خوراکی مورد استفاده در تهیه جیره دام‌ها با گونه‌های مختلف قارچ‌های توکسین‌زا در نقاط مختلف دنیا نیز گزارش شده است. مطالعه بر روی دانه‌های گندم، جو و ذرت مورد استفاده در دامداری‌های کشور کرواسی نیز گونه آسپرژیلوس فلاووس را به‌عنوان عامل اصلی آلوده کننده نشان داد (۳۴). میزان آفلاتوکسین در همه نمونه‌های شیر مورد مطالعه کم‌تر از حد مجاز (۰/۵ میکروگرم بر لیتر) بود. Pournormohammadi و همکاران، نیز میزان آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه مصرفی در استان کرمان را بین ۰/۱۴- ۰/۰۰۲ میکروگرم بر لیتر گزارش کردند (۳۵) که کم‌تر از حد مجاز بود. میانگین آلودگی آفلاتوکسین نمونه‌های شیر در دامداری‌های صنعتی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گاوداری‌های سنتی بود این نتیجه با مشاهدات قارچ‌شناسی که نشانگر بالاتر بودن جمعیت قارچ آسپرژیلوس فلاووس در نمونه‌های کنسانتره دامداری‌های صنعتی بود تطابق دارد. Torabi و همکاران، نیز گزارش کردند بین

میزان قارچ‌های توکسین‌زا با میزان آفلاتوکسین B1 جیره ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۳۰). بالاتر بودن آلودگی به آفلاتوکسین می‌تواند در نتیجه انبارداری طولانی‌تر اقلام خوراکی در گاوداری‌های صنعتی باشد. بالاتر بودن میزان آلودگی در زمستان (۳۶) نیز موید همین فرضیه است. Torabi و همکاران، نیز با بررسی ۸۰ نمونه خوراک دام از شهرهای مختلف استان یزد گزارش کردند که همه نمونه‌ها آلوده به آفلاتوکسین B1 بودند و در فصل زمستان ۶۲ نمونه و در فصل بهار ۴۹ نمونه میزان آفلاتوکسین B1 بالاتر از حد مجاز توصیه شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (۰/۵ میکروگرم بر لیتر)داشتند(۳۰).هم‌چنین Senerwaو همکاران، با بررسی نمونه‌های کنسانتره و شیر ۲۵۶ گاوداری در ۵ منطقه مختلف کنیا گزارش کردند که در ۴۷/۸ تا ۹۰/۳ درصدنمونه‌های کنسانتره آلودگی با آفلاتوکسین B1 بالاتر از حد مجاز بود و ۱۳/۶ تا ۶۵/۱ درصد نمونه‌های شیر در این مناطق نیز آلوده به آفلاتوکسین M1 بودند (۱۵). آلودگی بالای کنسانتره با قارچها می‌تواند در اثر نگه‌داری دانه‌های بلغور شده غلات در انبار با شرایط نامساعد و یا استفاده از غلات معیوب و مانده در تهیه کنسانتره دامی باشد. هرچند میزان رطوبت و شرایط نگه‌داری اقلام خوراکی از مهم‌ترین .عوامل موثر بر آلودگی خوراک با قارچها می‌باشند، ترکیب شیمیایی خوراک نیز از عوامل تعیین کننده میزان رشد و سم‌زایی قارچها است. Ullah و همکاران، گزارش کردند که سطوح آفلاتوکسین در نمونه‌های کنجاله تخم پنبه بیش‌ترین مقدار و در سبوس گندم کم‌ترین مقدار را داشت (۱۶). این محققین پیشنهاد کردند که احتمالاً حضور مواد مغذی مانند پروتئین و چربی در مقادیر بالا در کنجاله تخم پنبه و پایین بودن محتوای انرژی سبوس گندم دلیل این امر باشد (۱۶). Nishimwe و همکاران، نیز با اندازه‌گیری آفلاتوکسین ۳۳۲۸ نمونه خوراک و اقلام خوراکی از ۳۰ نقطه رواندا گزارش کردندکه بیش‌ترین میزان آلودگی مربوط به ذرت و سبوس ذرت (۱۶۰/۸ و ۱۱۰/۹ نانوگرم بر کیلوگرم) و کم‌ترین میزان آلودگی در محصولات جانبی صنایع تقطیری (۳۴/۷ نانوگرم بر کیلوگرم) مشاهده شد (۱۹). در مطالعه‌ای در استان چهارمحال و بختیاری بر روی خوراک گاوهای شیری میانگین‌میزان آلودگی به آفلاتوکسین B1 در دانه جو، ذرت و سیلاژ ذرت به‌ترتیب ۱۳/۵۶، ۳۹/۶۵ و۲۵/۷۵ میکروگرم بر کیلوگرم گزارش گردید(۳۷).براساس این نتایج به‌نظر می‌رسد آلودگی کنسانتره با قارچهای توکسین‌زا مهم‌ترین عامل انتقال آلودگی به شیر باشد و در صورت مدیریت صحیح سیلاژ، این بخش خوراک نقش چندانی در آلودگی‌خوراک دام و تولیدات دامی با سموم قارچی نداشته باشد. آلودگی بالای کنسانتره مورد استفاده در تغذیه دام به آسپرژیلوس فلاووس لزوم بازنگری در روش‌های تهیه و نگه‌داری اقلام خوراکی مورد استفاده در این بخش خوراک (عمدتاً غلات و کنجاله‌ها) و کنترل منظم خوراک‌های انبار شده از نظر رشد قارچها و نیز آلودگی احتمالی به توکسین‌های‌قارچی‌را نشان می‌دهد. بازنگری‌در روش‌های تهیه و آماده‌سازی خوراک و نیز توجه به اصول انبارداری و پایش مداوم‌خوراک دام از نظرآلودگی به کپک‌ها می‌تواندبه‌کنترل آلودگی در سطح مزارع دامپروری کمک کند.

منابع

1. **Becker-Algeri, T.A., Castagnaro, D., de Bortoli, K., de Souza, C., Drunkler, D.A. and Badiale-Furlong, E., 2016.** Mycotoxins in bovine milk and dairy products: A review. J Food Sci. 81: R544-R552.
2. **Kumar, P., Mahato, D.K., Kamle, M., Mohanta, T.K. and Kang, S.G., 2017.** Aflatoxins: a global concern for food safety, human health and their management. Front Microbiol. 7: 1-10.
3. **Perrone, G. and Gallo, A., 2017.** *Aspergillus* species and their associated mycotoxins. J Methods Mol Biol. 1542: 33-49.
4. **Nemati, Z., Besharati, M. and Karimi, A., 2020.** Investigation of aflatoxin B1 and essential oil of cashew nut shell and castor addition on in vitro ruminal fermentation of animal diets. Journal of Animal Environment. 12(1): 65-72. (In Persian)
5. **Nemati, Z. and Besharati, M., 2020.** Study of the effect of *Lactobacillus buchneri* supplementation to dairy diet contaminated with Aflatoxin B1 on in vitro gas production parameters. Journal of Animal Environment. 12(2): 37-44. (In Persian)
6. **Jiang, Y., Ogunade, I.M., Vyas, D. and Adesogan, A.T., 2021.** Aflatoxin in dairy cows: toxicity, occurrence in feedstuffs and milk and dietary mitigation strategies. J Toxins. 13: 283-303.
7. **Atherstone, C., Grace, D., Lindahl, J.F., Kang'ete, E.K. and Nelson, F., 2016.** Assessing the impact of aflatoxin consumption on animal health and productivity. Afr J Food Agric Nutr Deve. 16: 10949-10966.
8. **Variane, A.C.F., Dos-Santos, F.C., de-Castro, F.F., Barbosa-Tessmann, I.P., Dos-Santos, G.T. and dos Santos Pozza, M.S., 2018.** The occurrence of aflatoxigenic *Aspergillus* spp. in dairy cattle feed in southern Brazil. Braz J Micribiol. 49: 919-928.
9. **Gao, Y.N., Wang, J.Q., Li, S.L., Zhang, Z.D. and Zheng, N., 2016.** Aflatoxin M1 cytotoxicity against human intestinal Caco-2 cells is enhanced in the presence of other mycotoxins. J Food Chem Toxicol. 96: 79-89.
10. **Gong, Y.Y., Watson, S. and Routledge, M.N., 2016.** Aflatoxin exposure and associated human health effects, a Review of Epidemiological Studies. J Food Saf. 4: 14-27.
11. **Mirabi, S., Zahedi far, M., Zand, K. and Tymornezhad, N., 2012.** Evaluation of managerial and aflxtocin from commercocial egg laying farm as animal diet. Journal of Animal Environment. 4(1): 115-122. (In Persian)
12. **Davari, E., Mohsenzadeh, M., Mohammadi, G. and 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.

13. **Asghari, N., Sadeghi, M., Mohammadi, G. and Mohsenzadeh, M., 2018.** Investigating the fungal contamination of animal feed components and mixtures in some dairy farms around Mashhad. 6th National Conference on Animal Health Management, Shiraz University, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz, Iran. (In Persian)

14. **Marvi, A., Tabibi, M., Yazdansetad, S., Naderi, M.A., Khaledi, M., Pourshahbazi, Gh.R. Mahmoodi Kouhi, A., 2018.** Contamination study of livestock and poultry feedstuff with aflatoxin producing *Aspergillus* species. Veterinary Researches & Biological Products. 120: 38-43. (In Persian)

15. **Senerwa, D.M., Sirma, A.J., Mtimet, N., Kang'ethe, E.K., Grace, D. and Lindahl, J.F., 2016.** Prevalence of aflatoxin in feeds and cow milk from five counties in Kenya. Afr J Food Agric Nutr Dev. 16: 11004-11021.

16. **Ullah, H.A., Durrani, A.Z., Ijaz, M. and Javeed, A., 2016.** Aflatoxin B1 contamination status of concentrate feeds of dairy goats in Lahore, Pakistan. Sarhad J Agri. 32(2): 57-61.

17. **Dunham, N.R., Peper, S.T., Downing, C.D. and Kendall, R.J., 2017.** Aflatoxin contamination in corn sold for wildlife feed in texas. J Ecotoxicol. 26: 516-520.

18. **Kang'ethe, E.K., Sirma, A.J., Murithi, G., Mburugu Mosoti, C.K., Ouko, E.O., Korhonen, H.J. and Ramo, S., 2018.** Occurrence of mycotoxins in food, feed, and milk in two counties from different groecological zones and with historical outbreak of aflatoxins and fumonisins poisonings in Kenya, J Food Qual Safety. 1(3): 161-169.

19. **Nishimwe, K., Bowers, C., Ayabagabo, J.D., Habimana, R., Mutiga, S. and Mailer, D., 2019.** Assessment of aflatoxin and fumonisin contamination and associated risk factors in feed and feed ingredients in Rwanda. J Toxins. 11: 270-285.

20. **Gummadidala, P.M., Chen, Y.P., Beauchesne, K.R., Miller, K.P., Mitra, C. and Banaszek, N., 2016.** Aflatoxin-exposure of vibrio gazogenes as a novel system for the generation of aflatoxin synthesis inhibitors. Front Microbiol. 7: 1-9.

21. **Mamo, F.T., Selvaraj, G.N., Wang, Y. and Liu, Y., 2017.** Recent Developments in the screening of atoxigenic *Aspergillus flavus* towards aflatoxin biocontrol. J Appl Environ Microbiol. 5: 20-30.

22. **Yazdanparast, A., 2007.** Medical mycology. Vol. 1, first edition, Jihad Academic Press, Tehran, Iran. 76-159. (In Persian)

23. **Zeini, F., Mehbod, S.A. and Emami, M., 2014.** Comprehensive medical mycology. Fifth edition, Tehran University Press, Tehran, Iran. 330-340, 530-535. (In Persian)

24. **Kermanshahi, R.K. and Tavakoli, A., 2019.** Dyes and their application in microbiology and laboratory sciences. First edition, Jihad Academic Press, Isfahan, Iran. 122-127. (In Persian)

25. **International standard ISO 16050. 2003.** Foodstufs Determination of aflatoxin B1 and the total content of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in cereals, nuts and derived products- High-performance liquid chromatographyic method. 15 p.

26. **International standard ISO 14674. 2005.** Milk and milk powder- Determination of aflatoxin M1 content- Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by thin-layer chromatography. 13 p.

27. **Khosravi, A.; Shokri, H., Yahya Rayat, R. and Soltani, M., 2004.** Isolation of toxin-producing and non-toxin producing fungal agents from animal diets sent to the mycology center of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Journal of Veterinary Research. 59(3): 226-221. (In Persian)

28. **Khosravi, A.R., Dakhili, M. and Shokri, H., 2008.** A mycological survey on feed ingredients and mixed animal feeds in Ghom province, Iran. Pak J Nutr. 7: 31-34.

29. **Ghaneian, M.T., Jafari, A., Jamshidi, S., Ehrampoush, M.H., Momeni, H., Jamshidii, O. and Ghove, M.A., 2015.** Survey the frequency and type of Fungal Contaminants in Animal Feed of Yazd Dairy Cattles. Iranian Journal of Animal Science Research. 7(4): 422-427. (In Persian)

30. **Torabi, S., Yahyaraeyat, R., Shokri, H. and Khosravi, A.R., 2018.** Contamination of corn silage and concentrate samples to fungi and aflatoxin B1 in some cattle farms in some cities of Yazd province. Journal of Veterinary Research. 73(1): 55-61. (In Persian)

31. **Sarafi, O., Faezi Ghasemi, M. and Chaiechi Nosrati, A., 2016.** Isolation and characterization of toxicogenic fungi strains from wheat and corn used in Kerman city. Journal of Microbial World. 8(4): 330-336. (In Persian)

32. **Khosravi, A. and Modir Sanei, M., 1999.** Comparison of some methods used to reduce the effects of aflatoxin on the production indices of broiler chickens. Journal of Veterinary Research. 54(2): 66-59. (In Persian)

33. **Saremi, H., Okhovvat, S.M. and Saremi, H., 2007.** Control managements of *Aspergillus flavus* a main aflatoxin producers and soil borne fungi on pistachio in Kerman, J. Iran Food Sci Technol Rese. 3(2): 21-27.

34. **Halt, M., 1994.** Aspergillus flavus and aflatoxin B 1 in flour production. Eur J epidemiol. 10(5): 555-558.

35. **Pournormohammadi, Sh., Ansari, M., Nezafati Olfati, L., Kazemipour, M. and Hasibi, M., 2009.** Determination of aflatoxin M1 in pasteurized milk consumed in Kerman Province. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 16(3): 271-280. (In Persian)

36. **Mozafari, S., Mohsenzadeh, M. and Mehrzad, J., 2017.** Seasonally feed-related aflatoxins B1 and M1 spread in semiarid industrial dairy herd and its deteriorating impacts on food and immunity. J Food Qual. ID: 4067989, 7 p.

37. **Rahimi, E., Kargar, A.R. and Zamani, F., 2008.** Assessment of aflatoxin B1 levels in animal feed of dairy farms in Chaharmahal & Bakhtiari. Pajouhsh & Sazandegi. 79: 66-71. (In Persian)