تلوث أعلاف فروج اللحم بسموم الأفلا في بعض حقول مدينة الديوانية

محمد عبد العباس ملاغي كريم ناصر طاهر فلاح حسن عبد اللطيف
كلية الطب البيطري ، جامعة القادسية كلية الزراعة، جامعة القادسية

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة للكشف عن مدى تلوث أعلاف فروج اللحم بسموم الأفلا باستخدام فحص الـ ELISA حيث تم جمع نماذج مختلفة من الأعلاف من بعض حقول فروج اللحم في مدينة الديوانية للفترة من كانون الأول ٢٠٠٨ ولغاية تموز ٢٠٠٩ وبشكل عشوائي حيث تم جمع (٤٢) عينة من العلف وعلى موسمين شتوي (كانون الأول ، كانون الثاني ، شباط) وصيفي (آبار ، حزيران ، تموز) بواقع (٢١) عينة لكل موسم. بينت نتائج الفحص حدوث التلوث بسموم الأفلا في (٣٩) عينة (٩٢.٨٥%) وكانت فقط (٣) عينات (٧.١٥%) خالية من سموم الأفلا ، وقد تراوح مدى التلوث بين (٠.٥-١٤٠.٣) جزء بالبليون (مايكروغرام/ كغم) وبمعدل قدره (١٣.٥٦) جزء بالبليون. وكانت جميع عينات الموسم الشتوي ملوثة بسموم الأفلا (١٠٠%) في حين كان التلوث في (١٨) عينة من عينات الصيف (٨٥.٧١%) ، وقد تجاوزت كمية سم الأفلا في (٧) عينات (١٩.٩%) الحدود المسموح بها والمحددة من قبل منظمة الأغذية والأدوية الأمريكية (US-FDA).

المقدمة

سموم الأفلا Aflatoxins هي نواتج أيضية ثانوية Secondary metabolites تنتج بواسطة بعض أنواع الأعفان التابعة لجنس الرشاشيات Aspergillus وخاصة *A.flavus* و*A.parasiticus* حيث تنمو هذه الأعفان على بعض المحاصيل الزراعية والأغذية التي لها قابلية التأثر بالغزو الفطري (1). وتسبب هذه السموم تأثيرات مرضية خطيرة على صحة الإنسان والحيوان على حد سواء بالإضافة لتأثيراتها الاقتصادية الكبيرة الناجمة عن إتلاف المحاصيل الملوثة بسموم الأفلا(2). و تتعرض معظم أنواع الحيوانات لحالات التسمم بسموم الأفلا وخاصة الدواجن والأغنام والأبقار مسببة تأثيرات مرضية شديدة نتيجة للتثبيط المناعي Immunosuppression الناتج عن تلك السموم بالإضافة لتأثيرها على الأعضاء الحيوية للحيوان مما يؤثر على القدرة الإنتاجية لهذه الحيوانات مسبباً خسائر اقتصادية كبيرة (3)، بالإضافة إلى سرعة انتشار وتواجد هذه السموم في اعلاف الدواجن والمنتجات الزراعية لكونها أوساطاً ملائمة لنمو الأعفان المنتجة لهذه السموم بسبب احتوائها على العناصر الغذائية الضرورية كالمواد البروتينية والكاربوهيدرات ولاسيما عند توفر الظروف الملائمة كالحرارة والرطوبة وبالتالي زيادة التلوث بسموم الأفلا (4) ،(5) . إن تواجد سموم الأفلا في الأعلاف لها تأثيرات على جميع أنواع الدواجن حيث أن اخذ مستويات عالية نسبياً من سموم الأفلا تسبب حدوث هلاكات عالية اما المستويات المنخفضة فأنها تسبب أضرار عديدة عند استمرار تناولها وبصورة عامة يجب أن لا تزيد كمية سموم الأفلا في أعلاف فروج اللحم عن (٢٠) مايكرو غرام /كغم أو (٢٠) جزء بالبليون (ppb) رغم أن التغذية على مستوى اقل من (٢٠) جزء بالبليون ربما يقلل من مقاومتها للأمراض وقابليتها لتحمل الإجهاد إضافة إلى انخفاض الإنتاج وعلى العموم فان الدجاج البياض يستطيع مقاومة تأثير مستويات عالية من سموم الأفلا مقارنة بالطيور النامية ولكن يجب أن لا تزيد الكمية عن (٥٠) جزء بالبليون (6) ، (7). لذا كان هدف هذه الدراسة هو الكشف عن مدى تواجد سموم الأفلا في المواد العلفية المستخدمة في تغذية فروج اللحم لبعض حقول مدينة الديوانية.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

تم جمع عينات من أعلاف فروج اللحم من حقول دواجن مختلفة في مدينة الديوانية وذلك خلال فترتين الفترة الأولى خلال أشهر كانون الأول ٢٠٠٨ وكانون الثاني وشباط ٢٠٠٩ والفترة الثانية خلال أشهر نيسان وآيار وحزيران ٢٠٠٩ حيث تم جمع (٤٢) عينة وبواقع (٧) عينات لكل شهر وجمعت نماذج بوزن (٥٠٠) غم / طن علف بصورة عشوائية من أماكن متفرقة من الحقل من اجل تقدير مستوى التلوث بسموم الأفلا في هذه الأعلاف باستخدام طريقة الأدمصاص المناعي المرتبط بالإنزيم Enzyme Linkage Immunosorbent Assay (ELISA).

تحضير العينة واستخلاص السموم :-

مزجت العينة التي تم أخذها جيداً ثم أخذت منها (٥) غم وطحنت طحناً ناعماً ومررت من خلال شبكة المنخل وتم استخلاصها بإضافة (٢٥) مل من الميثانول بتركيز (٧٠%) لكل عينة ثم وضعت العينة في خلاط ذو سرعة عالية لمدة دقيقتين ومن ثم تم ترشيح المزيج لاستخلاص سم الأفلا ممن خلال ورق الترشيح Whatman No.1 والحصول على الراشح Filtrate الذي أصبح جاهزاً للفحص(٨).

تقدير كمية سموم الأفلا بجهاز الـ ELISA :-

تم الكشف عن سموم الأفلا وتقدير كميتها باستخدام محاليل الفحص المجهزة على شكل طواقم Kits (Conjugate solution ، Substrate solution ، Stop solution) من شركة Neogen

corporation / الولايات المتحدة ، واجري الفحص كالآتي :-

تم إجراء الفحص بإتباع طريقة (٨) وحسب تعليمات الشركة المجهزة حيث تم نقل (١٠٠) مايكرولتر من المادة الرابطة conjugate إلى الحفر الموجودة في الشريط الأحمر على الطبق ، ونقل (١٠٠) مايكرولتر من كل عينة ومن السم القياسي Control بتركيز (6ppm , 4ppm , 2ppm , 0ppm)إلى الحفر التي تحتوي المادة الرابطة وتم مزجها ، ثم نقل (١٠٠) مايكرولتر من المزيج إلى الحفر المغطاة بالمادة المضادة Antibody ، ثم حضن الطبق لمدة (٥) دقائق بدرجة حرارة الغرفة (٢٥ مْ) ، وسكب المزيج الموجود في الحفر وتم غسل الطبق بالماء المقطر ، ثم نقل (١٠٠) مايكرولتر من مادة التفاعل اللوني Substrate إلى الحفر السابقة وحضن الطبق لمدة (١٠) دقائق بدرجة حرارة الغرفة (٢٥ مْ) ، وبعد ذلك تم نقل (١٠٠) مايكرولتر من محلول Stop solution إلى الحفر الحاوية على المادة المضادة ، وتمت قراءة النتائج باستخدام جهاز Microwell Reader وباستخدام برنامج Computerize Neogen Veratox Software وعلى طول موجي مقداره (٦٥٠) نانوميتر.

التحليل الاحصائي:

تم تحليل النتائج إحصائياً عن طريق اختبار (T- test) باستخدام البرنامج الإحصائي (SPSS) (٩) ، واعتمد مستوى (0.05) لإيجاد الفروقات المعنوية (١٠).

النتائج

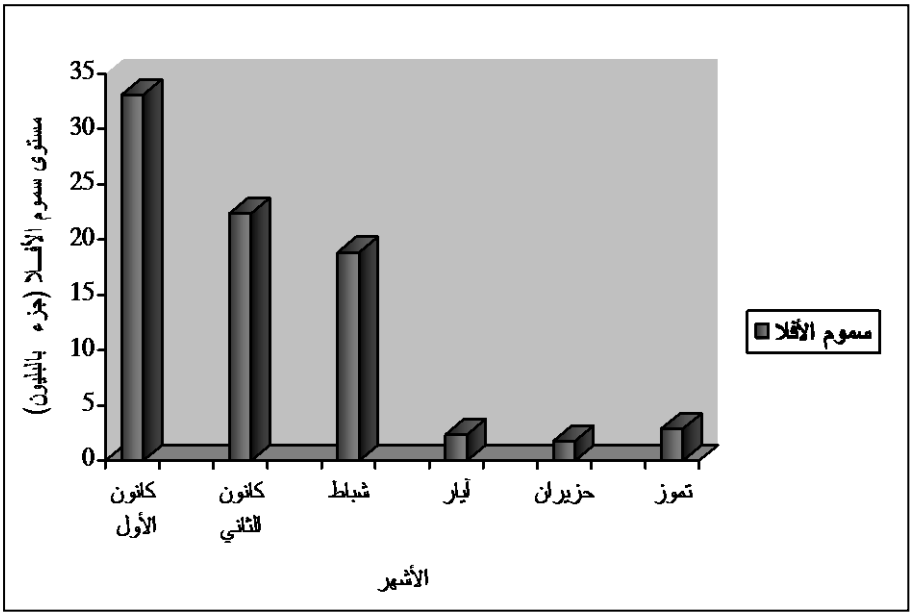
أظهرت نتائج الدراسة وجود تلوث بسموم الأفلا في (٣٩) عينة من أصل (٤٢) عينة مفحوصة وبنسبة تلوث (٩٢.٨٥%) وكانت فقط (٣) عينات (٧.١٥%) خالية من سموم الأفلا ، وقد تراوح مدى التلوث بين (٠.٥-١٤٠.٣) جزء بالبليون (مايكروغرام/ كغم) وبمعدل قدره (١٣.٥٦) جزء بالبليون. ولوحظ أن النسبة الأكبر من العينات وهي (٣٢) عينة (٨٢%) لم تتجاوز فيها سموم الأفلا الحد المسموح به وهو (٢٠) جزء بالبليون حسب تحديدات منظمة الأغذية والأدوية الأمريكية US-FDA ، في حين كانت تراكيز (٧) عينات (١٩.٩%) قد تجاوزت الحدود المسموح بها وكانت ثلاث عينات منها (٧.٧%) ضمن المدى (٢١-٤٠) جزء بالبليون وعينتان (٥.١٣%) ضمن المدى (٤١-٦٠) جزء بالبليون وعينة واحدة (٢.٥٦%) بين (٦١-١٠٠) جزء بالبليون في حين كانت عينة واحدة (٢.٥٦%) قد تجاوز فيها تركيز سم الأفلا (١٠٠) جزء بالبليون جدول (١).

جدول (١) نسبة ومدى ومعدل تلوث عينات أعلاف فروج اللحم خلال موسمي الشتاء والصيف

الموسم	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الإيجابية	النسبة المئوية للتلوث	مدى التلوث مايكروغرام /كغم	المعدل ± الخطأ القياسي
الشتاء	٢١	٢١	١٠٠	٤ – ١٤٠.٣	٢٤.٧٧* ± ٦.٨٤
الصيف	٢١	١٨	٨٥.٧١	٠.٥ – ٥.٩	٢.٧٣* ± ٠.٣٣

* تشير إلى وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال (P <٠.٠٥)

وعند مقارنة توزيع مستويات التلوث على الأشهر لوحظ ارتفاع مستوى التلوث خلال أشهر الشتاء وخاصة شهر كانون الأول حيث كان معدل تركيز سم الأفلا (٣٣.١) جزء بالبليون وفي كانون الثاني كان معدل التركيز (٢٢.٧٧) جزء بالبليون وكان (١٨.٨٥) جزء بالبليون في شباط ، في حين انخفض مستوى التلوث في أشهر الصيف حيث كان المعدل في شهر آيار(٢.٣٦) جزء بالبليون وفي حزيران (١.٨) جزء بالبليون ووصل في تموز إلى (٢.٨٨) جزء بالبليون.وقد لوحظ أن هناك فرقاً معنويا (p<٠.٠٥) في معدل التلوث بين موسمي الشتاء والصيف كما في الشكل (١) والجدول (٢) .



شكل (١) يوضح مستويات سموم الأفلا حسب الأشهر

جدول (٢) توزيع مستويات التلوث بسموم الأفلا

مستويات سموم الأفلا ppb	عدد العينات الايجابية	%	معدل مستوى سموم الأفلا ppb
اقل من ٢٠	٣٢	٨٢	٥.٥٨
٢١–٤٠	٣	٧.٧	٣١.٤
٤١–٦٠	٢	٥.١٣	٤٥.٩٥
٦١–١٠٠	١	٢.٥٦	٦٤.٥
أكثر من ١٠٠	١	٢.٥٦	١٤٠.٣
المجموع	٣٩	١٠٠	

المناقشة

تبين من خلال نتائج هذه الدراسة أن معظم عينات أعلاف فروج اللحم التي تم فحصها كانت حاوية على سموم الأفلا بنسبة (٩٢.٨٥%) وبكميات متفاوتة مابين (٠.٥–١٤٠.٣) جزءاً بالبليون ، وكانت (٧) عينات (١٩.٩٥%) قد تجاوزت فيها كمية سم الأفلا الحدود المسموح بها في أعلاف فروج اللحم أي (٢٠) جزءاً بالبليون ومن الأسباب الرئيسية لارتفاع نسبة تلوث الأعلاف بسموم الأفلا هو انتشار أعفان الـ Aspergillus المنتجة لهذه السموم بشكل واسع وقدرتها للنمو في ظروف بيئية مختلفة وخاصة بين خطي عرض ٢٦ و٣٥ شمال وجنوب خط الاستواء (١١) ، ولكونها من أعفان الخزن Storage fungi أي تستطيع أن تنمو على المحاصيل الجاف نسبياً في مدى رطوبة بين (١٣–١٨%) (١٢) ، مما يزيد من احتمال تحول هذه السموم إلى متبقيات في أنسجة الطيور ، عند تغذية الطيور النامية على أعلاف تحتوي مستويات عالية من سموم الأفلا مسببة حدوث اندلاعات لحالات التسمم بسموم الأفلا وارتفاع معدل الهلاكات،مع العلم أن التغذية المستمرة على مستويات واطئة من سموم الأفلا قد يقلل من قابلية الطيور لمقاومة الأمراض وتحمل الإجهاد (7) ، وقد لوحظ ارتفاع معدل التلوث خلال موسم الشتاء مقارنةً مع موسم الصيف حيث كانت جميع العينات حاوية على سموم الأفلا وبمعدل (٢٤.٧٧) جزءاً بالبليون وبمدى مابين (٤–١٤٠.٣) جزءاً بالبليون في حين كانت (١٨) عينة من أصل (٢١) عينة تم جمعها خلال موسم الصيف حاوية على سموم الأفلا وبنسبة (٨٥.٧١%) وكان معدل كمية السموم (٢.٣٥) جزءاً بالبليون ومدى مابين (٠.٥–٥.٩) جزءاً بالبليون ويعود سبب ذلك إلى صعوبة إجراء تجفيف المحاصيل خلال الشتاء بشكل

تام وخاصة الذرة الصفراء المزروعة خلال العروة الخريفية وبالتالي تساعد الرطوبة العالية في هذه المحاصيل على نمو الأعفان المنتجة لسموم الأفلا (13) ، وكذلك تأثير موسم الأمطار على زيادة نسبة الرطوبة فقد وجد الباحث Bulato-Jayme عند إجراء تحليل عينات الذرة الداخلة في تكوين أعلاف الدواجن في الفلبين أن محتواها من سموم الأفلا كان (١٢٢١) جزءاً بالبليون في المواسم الممطرة و(٦٠) جزءاً بالبليون في مواسم الجفاف (١٤). وكانت نسبة التلوث أعلى ولكن كميات السموم أقل مقارنة ً مع ما وجده الباحث Shareef (15) في دراسة استمرت أربع سنوات في حقول محافظة نينوى وتم فيها تحليل (٤٥٠) عينة وكانت نسبة التلوث (٦٦%) بينما وجد الباحث معروف (16) ان نسبة التلوث (٤٧.٤٢%) ومدى تلوث ما بين (٨-٢٠٣١) جزءاً بالبليون. وعند مقارنة نتائج دراستنا مع الدراسة التي أجريت في الهند كانت مستويات التلوث أقل حيث وجد (17) في دراسة لتحليل (٢٤٠) عينة من علف الدواجن أن جميع العينات كانت ملوثة بسموم الأفلا بكميات تراوحت بين (٦-١١٦٠٠) جزءاً بالبليون.ولا توجد نسب مسموح بها ثابتة وموحدة من سموم الأفلا لكل بلدان العالم لعدة أسباب منها اختلاف الظروف الإدارية ونوع الأمراض (خمجية وغير خمجية) ودرجة انتشارها والظروف البيئية والجغرافية والحيوية والاختلاف بين الأنواع والسلالات والحالة الغذائية للحيوانات المتناولة لسموم الأفلا (18).إن أهم المتغيرات المسؤولة عن تكوين سموم الأفلا في المحاصيل والأعلاف الحيوانية هو محتواها من الرطوبة إضافة للرطوبة النسبية في البيئة (19) ، وتساعد ظروف الخزن الخاطئة للمحاصيل الداخلة في تكوين الأعلاف كوجود القوارض والحشرات التي تعمل كناقل للأبواغ مما يزيد من انتشار الأعفان وسمومها (20). وقد عزل (21) فطر *A. flavus* من عينات علف الدواجن في محافظة نينوى وكان عدد المستعمرات الكلية CFU ^{4}١٠×٣.٢ (وحدة مكونة للمستعمرات).ويستورد العراق الأعلاف والإضافات العلفية المستخدمة في تغذية الدواجن والتي قد تكون ملوث بالسموم أو الأبواغ ، وقد يساعد اختلاف الظروف البيئة عن البلدان المصدرة على حدوث التلوث. ويعد الكشف المبكر عن تلوث الأعلاف بسموم الأفلا من الأمور المهمة وخاصة باستخدام طرق الكشف الدقيقة ذات الحساسية الكبيرة لاتخاذ التدابير اللازمة لتقليل مستوى التلوث وتثبيط النمو الفطري (22) ، ومن اجل تقليل مستوى التلوث يجب أن لا يتجاوز محتوى المحاصيل الداخلة في تكوين أعلاف الدواجن من الرطوبة عند إجراء الحصاد (٢٠- ٢٥.٥%) ثم العمل على تجفيفها لتقليل محتوى الرطوبة إلى أقل من (١٥.٥%) خلال يومين قبل نقلها وخزنها وتجنب التلف الميكانيكي أثناء الحصاد والتخلص من الحشرات والقوارض واستخدام المواد المثبطة لنمو الأعفان (12) و(3).

المصادر

1. Speijers G.J.A and Speijers M.H.M .(2004) .Combined toxic effects of mycotoxins. Toxicol. Lett.153: 91–98 .
2. Bhatnagar, D.; Ehrlich, K.C. and Cleveland, T.E. (2003). Molecular genetic analysis and regulation of aflatoxins. Appl. Microbiol. Biotech. 61:83-93.
3. CAST (Council for Agricultural Science and Technology). (2003). Mycotoxins : Risks in Plant, Animal, and Human Systems.Task Force Report No.139 .Ames, Iowa, USA D.C.
4. Watts, C.M.; Chen, Y.C.; Ledoux, D.R.; Broomhead, J.N.; Bermudez, A.J. and Rottinghaus, G.E. (2003). Effect of mycotxins and a hydrated sodium calcium aluminosilicate in poultry. Int. J. Poult. Sci.2:372- 378.
5. Johanna, F.G.(1999). Mycotoxins:their implications for human and animal health Vet. Quart. 21:115-120.
6. Jones, F.; Genter, M.; Hagler, W.; Hansen, J.; Mowrey, B.; Poore, N. and Whitlow, L. (1994). Understanding and coping with effects of mycotoxins in livestock feed and forage. Electronic publication. North Carolina State Univ., Raleigh.
7. Yaling, W., C. Tongjie, L. Guozhong, Q. Chunsan, D.Huiyong, Y. Meiling, Z. Bert-Andree and Gerd S.(2008). Similtaneous detection of airborneaflatoxin, ochratoxin and zearlaenone in poultryhouse by immunoaffinity column and highper formance liquid chromatography. Environ. Res.,107: 139-144.
8. Smith, R.B. and Moss, M.O. (1985). Mycotoxins, formation, analysis

١٦.معروف ، معن طاهر جرجيس (٢٠٠٧) .تأثير ذيفانات الأفلا والمايكوفكس في العلف في بعض الصفات الإنتاجية والفسلجية والمناعية وخصائص الذبيحة لذكور فروج اللحم. أطروحة دكتوراه ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل ، العراق.

17. Jindal, N.; Mahipal, S.K. and Mahajan, N.K. (1993). Occurrence of aflatoxin in compound poultry feed in Haryana an effects of different storage conditions on its production. Indian J. Animal Sci. 63:71-73.

18. Bennett, J.W. and Klich, M.(2003). Mycotoxins. Clinical Microbiology Rev. New Orleans, Louisiana.16:497-516.

19. Wilson, D.M. and Payne, G.A.(1994). Factors affecting *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of crops. In:Eaton, D.L. and Groopman, J.D.(Eds.). The toxicology of aflatoxins. Human health, veterinary and agricultural significance, Academic Press.San Diego, California. pp:309-325.

20. Williams,P.C.(1991). Storage of grain and seeds.In:Smith, J.E. and Henderson, R.S.(Eds). Mycotoxins and animal feeds. Chapter 30 CRC. Press USA. pp:721-746.

٢١.الجبوري، كركز محمد ثلج (١٩٩٨). عزل الفطريات المنتجة للسموم من بعض أعلاف الدواجن، المجلة العراقية للعلوم البيطرية، ١١: ٤٥-٥٠ .

22. Do, J.H. and Choi, D.K. (2007). Aflatoxins: Detection, Toxicity, and Biosynthesis. J. Biotechnol. Bioprocess Eng. 12:585-593.

and significance. John Wiley and sons. Chichester. UK.

٩.بشير ، سعد زغلول (٢٠٠٣). دليلك إلى البرنامج الإحصائي SPSS. الإصدار العاشر. المعهد العربي للتدريب والبحوث الإحصائية. الجهاز المركزي للإحصاء / جمهورية العراق.

١٠.الراوي ، خاشع محمود (٢٠٠٠). المدخل إلى الإحصاء. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل الطبعة الثانية.

11. Klich, M. A.; Tiffany, L. H. and Knaphus, G. (1992). Ecology of the Aspergilli of soils and litter. In: Bennett, J. W., Klich, M. A., (eds). Aspergillus: Biology and Industrial Applications. Boston, Butterworth-Heinemann: 329–353.

12. Santin, E.(2005). Mould Growth and mycotoxin production. In: The Mycotoxin Blue Book, Diaz, D.E. (eds.). Nottingham University Press, Thrumpron, Nottingham, pp. 225-234.

13. Almeida, A.B.; Correa, B.; Mallozzi, M.A.B.; Sawazaki, E. and Soares, L. M.V. (2000). Mycoflora and aflatoxin fumonisin production by fungal isolates from freshly harvested corn hybrids. Brazilian J. microbiol. 31:321-326.

14. Bulato-Jayme, J. (1976). Epidemiology of primary liver cancer in the Philippines with special consideration of a possible aflatoxin factor. J. Philippines Med. Assoc. 31:129-150.

15. Shareef, A.M. (2004). Incidence of aflatoxins in broiler's mixed feed in Nineveh governorate. Iraq. J. Vet. Sci. 18:131-138.

Contamination of broiler's feed with aflatoxins in some broiler farms of Al – Diwaniya city

M. A. Molaghi K.N. Taher F.H. Abd-Allatif
Coll. of Vet. Med. Coll. of agriculture

Abstract

This study was carried out to detect the contamination of broiler's feed with aflatoxins. A total of (42) different feed samples collected randomly from broiler's farms of Al-Diwaniya on 2 seasons , winter (Dec, Jan and Feb) and summer (May, June and July). (21) samples of each season. ELISA test was used for detection of contamination. The results showed occurrence of contamination with aflatoxin in (39) samples with percent (92.85%) and was only (3) samples (7.15%) free from aflatoxin. The contamination range between (0.5-140.3) part per billion (ppb) (µ/kg) with average mean (13.56) ppb , all samples of winter season were contaminated with aflatoxin (100%) while the contamination in (18) samples from summer season (85.71%). The quantity of aflatoxin in (7) samples (19.9%) a crossed the allowed limits determined by US-FDA.