تلوث الأعلاف الحيوانية المستوردة أو موادها الخام بالفطريات المنتجة للسموم

مصدق دلفي علي محسن لايج الموسوي سهام بلكت حسين
مروة جعفر كطوف نور الهدى صبيح حنش براء زهير عبد الكريم

الملخص

أجريت هذه الدراسة للتحري عن وجود فطريات منتجة للسموم او سمومها في الأعلاف الحيوانية المستوردة لما لها من تأثير سلبي في صحة الحيوان وبالتالي تأثيرها في صحة الإنسان عند استهلاكه للمنتجات الحيوانية الملوثة بهذه السموم. جمعت 66 عينة من الأعلاف الحيوانية المستوردة من المنافذ الحدودية وأجري لها فحص عدد الفطريات الكلي وعزل وتشخيص أجناس الفطريات او سمومها وقياس تراكيز السموم الفطرية. أظهرت النتائج ان الاصابة الفطرية كانت في 45 عينة من إجمالي عدد العينات بنسبة 68%. وتم عزل 96 عزلة تعود الى خمسة اجناس هي *Aspergillus*، *Fusarium*، *Penicillium*، *Alternaria* و*Rhizopus* وبالنسبة للجنس *Aspergillus* تم تشخيص أربعة أنواع، هي: *Aspergillus flavus*، *Aspergillus niger* ، *Aspergillus fumigates* و*Aspergillus terreus* وكانت الذرة اكثر العينات باحتوائها على 43 عزلة وكانت كل من عينات علف الطيور وطعام الكلاب اقل العينات باحتوائها على عزلتين. وكان اكثر انواع الفطريات انتشاراً *Aspergillus flavus* 27 عزلة بنسبة 28% وعزلاته كلها كانت منتجة للأفلاتوكسين اما اقل انواع الفطريات انتشاراً فكانت *Aspergillus terreus* 5 عزلات بنسبة 5% ولوحظ وجود الأفلاتوكسين الكلي في 41 عينة و T2 / HT2 في 40 عينة و ochratoxin في 64 عينة.

نستنتج من النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة ان الخطورة ليست في وجود السموم الفطرية فقط، وانما في وجود الفطريات المنتجة لها لانه عند توفر الظروف الملائمة لإنتاج السموم ستقوم هذه الفطريات بإنتاجها مما يؤدي الى زيادة تراكيزها بمرور الوقت عند عدم السيطرة على ظروف الخزن الملائمة خلال فترة الخزن الطويلة ومما يجدر الانتباه اليه هو وجود انواع السموم الفطرية قيد الدراسة مجتمعة في نفس العينة وكما هو معروف انها تراكمية مما يزيد من خطر التعرض لهذه السموم وبالتالي الاصابة بالامراض السرطانية لاسيما ان خطر هذه السموم وامراضيتها لا يصيب الحيوان فقط وانما تنتقل الى الانسان.

المقدمة

يعدُ تلوث الأعلاف بالفطريات المنتجة للسموم من المشاكل التي تعاني منها العديد من الدول النامية ،إذ أشارت تقارير منظمة الزراعة والغذاء (FAO) ان ما يقارب من 25% من المواد الغذائية والاعلاف في العالم معرضة الى خطر التلوث بالسموم الفطرية (16).

وكما هو معروف فان هناك العديد من المنتجات الزراعية تستخدم مواداً خاماً أساسياً لتصنيع العلف الحيواني وقد تكون هذه المواد عرضة للاصابة بالفطريات المنتجة للسموم في الحقل او أثناء الحصاد او التصنيع او النقل او التخزين (10) مما يسبب خفض القيمة الغذائية وتكوين السموم (5)، إذ ان هذه السموم هي مركبات ثانوية سامة تؤثر في صحة كل من الحيوان والإنسان، لأنها قد تكون مادة مسرطنة مثل الأفلاتوكسين B1 او سامة للكلى مثل citrinin او استروجينية مثل zearalenone (2) ويعدُ الافلاتوكسين اكثر السموم خطورة وينتج من معظم الانواع

دائرة الثروة الحيوانية، وزارة الزراعة، بغداد، العراق.

التي تعود الى الجنس ***Aspergillus*** وخاصة ***Aspergillus flavus*** وتوجد اربعة انواع من هذا السم هي **B1,B2,G1,G2** كما عزل منه النوعان **M1,M2** من حليب الابقار المتغذية على عليقة حاوية على الافلاتوكسين (**24**) وهناك دراسة أجريت في العراق من قبل **Muna** وجماعته (**13**) للكشف عن افلاتوكسين الحليب **AFM1** في المنتجات المحلية لكل من الحليب والجبن واللبن، واظهرت النتائج وجود افلاتوكسين الحليب **AFM1** في **75%** من مجموع عينات اللبن بتركيز من **29.25 ng/L–505** و**60%** من مجموع عينات الحليب بتركيز من **32.1 – 380 ng/L** و**50%** من مجموع عينات الجبن بتركيز من **0.3 – 939.67 ng/L**.

وهناك دراسة اخرى اجريت في العراق من قبل **Candlan** وجماعته (**3**) للكشف عن سم الافلاتوكسين **AFB1** في لحوم الافخاذ والصدر لفروج اللحم المحلي واظهرت النتائج وجود الافلاتوكسين **AFB1** في **19** عينة بنسبة **21.11%** من مجموع **90** عينة.

وخلصت هاتان الدراستان الى ان تغذية الماشية والدواجن على اعلاف ملوثة بالافلاتوكسين **AFB1** ادى الى وجود الافلاتوكسين في الحليب ومنتجاته واللحوم مما يمثل خطراً على صحة الانسان عند استهلاكه لهذه المواد ولذلك فمن الضروري تصنيع الأعلاف الحيوانية من منتجات خالية من تلك الفطريات.

لذلك فان الهدف من اجراء الدراسة الحالية هو تسليط الضوء على الفطريات المرتبطة بالاعلاف الحيوانية المستوردة للعراق خصوصا الفطريات المنتجة للسموم وذلك لمنع الأمراض وخاصة المسببة للسرطان التي تنتشر بشكل كبير في العراق والتي ربما احد أسبابها هو السموم الفطرية المنتقلة الى الإنسان عن طريق استهلاك البيض واللحوم والحليب الملوثة بهذه السموم.

لذا ينبغي المزيد من الاهتمام بظروف النمو والحصاد والتخزين للمنتجات الزراعية التي تستخدم مواداً خاماً أساساً لإنتاج الأعلاف وكذلك الفحص الميكروبيولوجي للأعلاف الحيوانية قبل استهلاكها من قبل الحيوان لضمان صحة الحيوان بالاضافة الى تحقيق سلامة وجودة المنتجات الحيوانية المستهلكة من قبل الانسان لضمان صحته.

المواد وطرق البحث

جمع العينات

تم اجراء هذه الدراسة في دائرة الثروة الحيوانية، قسم السيطرة النوعية على الأعلاف. جمعت **66** عينة تمثيلية (**2** كيلوغرام لكل عينة) من الأعلاف الحيوانية المستوردة (**10** عينات علف دواجن و**10** عينات علف أسماك و**3** عينات علف مجترات و**3** عينات طعام كلاب و**4** عينات علف طيور و**14** عينة ذرة و**22** عينة كسبة فول الصويا) من المنافذ الحدودية في اثناء المدة من شهر تموز عام **2016** الى شهر شباط عام **2017**.

فحص محتوى الرطوبة

تم استخدام جهاز قياس محتوى الرطوبة المجهز من قبل شركة **sartoius** للحصول على محتوى الرطوبة في عينات الاعلاف، إذ تم اخذ غرامين من العينة المطحونة ووضعها في الجهاز ثم قراءة النتائج.

عزل وتشخيص الفطريات **fungi identification**

وتم حساب عدد الفطريات الكلي **Total fungal count** حيث استخدمت تقنية التخفيف **dilution technique** لتحديد عدد الفطريات الكلي. تم إضافة **10**غرام من عينة العلف في **90** مل من ماء البيتون **peptone water** (بعد ان تم ضبط الاس الهيدروجيني **PH** لهذا المحلول عند درجة **4**). وعملت أربعة تخافيف من كل عينة وثم يصب **1ml** من كل من التخافيف (10^{-3} و10^{-4}) في طبق فارغ ثم يصب فوقه مادة وسط أجار

البطاطا **potato dextrose agar (PDA)** (**18**) وحضنت الاطباق جميعها للمدة من **5–7** أيام عند **28** درجة مئوية. بعد ذلك كل المستعمرات تم حسابها وتعبيرها في وحدة تكوين المستعمرة لكل غرام باستخدام المعادلة:

$$\text{عدد الفطريات الكلي} = \frac{\text{عدد المستعمرات}}{\text{حجم النموذج المخفف المأخوذ}} \times \text{مقلوب عامل التخفيف}$$

لتشخيص أنواع الفطريات تعمل مزرعة نقية على وسط أجار البطاطا **potato dextrose agar** (**PDA**) ثم تحضن عند **28** درجة مئوية لمدة **7** أيام ثم تم إعداد شريحة الفحص المجهري للزروعات وبعد تشخيص أنواع الفطريات تم حساب النسبة المئوية لظهور الفطريات وفق الطريقة التي ذكرها **González** وجماعته (**8**) كالآتي:

$$\text{النسبة المئوية للظهور (\%)} = \frac{\text{عدد العزلات من النوع أو الجنس}}{\text{العدد الكلي للعزلات الفطرية}} \times 100$$

طريقة التشخيص السريع للسلالات المنتجة للأفلاتوكسين من ***Aspergillus flavus*** باستخدام بخار الأمونيا عملت مزرعة نقية من العزلات التي تم الحصول عليها من ***Aspergillus flavus*** على وسط أجار البطاطا **potato dextrose agar** (**PDA**)، تم تعريضها لبخار الأمونيا وحضنت عند **25** درجة مئوية لمدة **48** ساعة، فعند انتاج الافلاتوكسين يتحول لون هذه المزارع وتصبغ باللون الوردي بعد اليوم الثاني من الحضانة (**20**).

الكشف عن تراكيز السموم الفطرية Mycotoxin Analysis

اجري التحليل الكمي بواسطة تقنية **Direct competitive enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA)** (**14**) حيث أجريت طريقة العمل وفقا لتعليمات الشركة **Neogen** المصنعة لعدة القياس **kit Veratox**. وتتضمن طريقة العمل جرش العينة بشكل جيد ثم **5** غرام من العينة المجروشة استخلصت مع **25ml** من **70%** ميثانول لفحص الأفلاتوكسين و**T2/HT2** و**10** غرام من العينة المطحونة استخلصت مع **40ml** مل من **50%** ميثانول لفحص الأوكراتوكسين. بعد ذلك ترج العينات لمدة **3** دقائق ثم ترشح باستخدام ورق ترشيح **whatman No.1**. ثم ناخذ **100µL** من الراشح المخفف ونكمل الفحص الكمي باستخدام عدة القياس **kit Veratox** الخاص بكل من الأفلاتوكسين و**T2 / HT2** والأوكراتوكسين باجراء الخطوات الآتية:

1- نضيف **100µL** من محلول **Conjugate** في **Red wells** ثم نضيف اليه **100µL** من الراشح المخفف ثـم تمزج جيدا **5** مرات ثم نضيف **100µl** من المزيج في**White wells** وننتظر لمدة **2** دقيقة اذا كان فحص الافلاتوكسين مع الرج لمدة **10** ثواني ثم يتم رميها (وننتظر لمدة **5** دقائق اذا كان فحص **T2/HT2** وننتظر لمدة **10** دقائق اذا كان فحص الأوكراتوكسين).

2- نغسل **White wells** بالماء المقطر**5** مرات ثم يتم تنشيفها جيدا عدة مرات بورق التنشيف.

3- اضافة **100µl** من محلول **Substrate** وننتظر لمدة **3** دقائق اذا كان فحص الافلاتوكسين (وننتظر لمدة **5** دقائق اذا كان فحص **T2 / HT2** وننتظر لمدة **10** دقائق اذا كان فحص الأوكراتوكسين).

4- اضافة **100µl** من محلول **Red stop**.

5- ثم تتم قراءة تراكيز هذه السموم باستخدام **ELISA Reader** المجهز من شركة **BioTek**.

النتائج والمناقشة

العلف الحيواني هو وسط غني لنمو الفطريات عند توفر العوامل الفيزيائية مثل الرطوبة والرطوبة النسبية ودرجة الحرارة ودرجة الحموضة **pH** والضوء والأيام الممطرة في اثناء السنة في الحقل ومرحلة ما بعد الحصاد وكذلك

الحشرات (إذ ان الحشرات يمكن ان تنقل سبورات الفطريات الى مكان اخر وتنمو الى فطريات عند توفر الظروف المناسبة لها) وكل هذه العوامل يمكن أن تؤثر في نمو الفطريات وإنتاج السموم الفطرية لتسبب التلوث الفطري (**10**).

عزل وتشخيص الفطريات

اعتماداً على الخصائص المظهرية والمجهرية تم عزل وتشخيص خمسة اجناس، هي :-***Aspergillus*** ، ***Fusarium***، ***Penicillium***، ***Alternaria*** و***Rhizopus*** وبالنسبة للجنس ***Aspergillus*** تم تشخيص اربعة انواع هي: ***Aspergillus flavus***، ***Aspergillus niger***، ***Aspergillus fumigates*** و ***Aspergillus terreus***.

ويوضح جدول (**1**) ان العدد الكلي للعزلات لثمانية أنواع من الفطريات كانت **96** عزلة وكان أعلى الأنواع انتشارا هو ***Aspergillus flavus*** **27** عزلة بنسبة **28%** الذي تم تشخيصه اعتمادا على خصائصه المجهرية (**21**)، إذ كان اكثر الانواع الفطرية ملائمة للوسط الزرعي المستخدم **potato dextrose agar** (**PDA**) وظروف النمو المستخدمة (درجة حرارة **28** وعند **PH** المحلول **4**)، ويعد هذا الفطر من فطريات التخزين ووجوده في علف الحيوانات يمكن أن يؤدي إلى تدهور العلف بصورة أسرع لأنه ينتج الأفلاتوكسين وهو يسبب السرطان للأنسان والحيوان(**22**) وكانت كل عزلات ***Aspergillus flavus*** سلالات فطرية منتجة للأفلاتوكسين عندما فحصت بطريقة التشخيص السريع باستخدام بخار الامونيا يليه **15** عزلة ***Fusarium*** بنسبة **16%** اعتمادا على خصائصه المجهرية (**21**) ويعتبر هذا الفطر من فطريات الحقل وبعض انواعه تنتج سم **T2/HT2** الذي هو مثبط يؤثر في كل من **DNA** و**RNA** وتكوين البروتين ومثبط للمناعة وسام للخلايا (**2**) وظهرت **14** عزلة ***Aspergillus niger*** بنسبة **15%** اعتمادا على خصائصه المجهرية (**17**) وهذا الفطر ينتج الأوكراتوكسين الذي هو سم كلوي ومثبط للمناعة (**7**).

12 عزلة ***Alternaria*** بنسبة **13%** شخصت اعتماداً على الخصائص المجهرية **(11)**. ويسبب التعرض للسموم المنتجة من قبل ***Alternaria*** التي هي: **tenuazonic acid (TeA), tentoxin (TEN), alternariol (AOH) alternariol monomethyl ether (AME)** في الحبوب سرطان المريء في الانسان (**25**). و**9** عزلة ***Aspergillus fumigates*** بنسبة **9%** تم تشخيصها حسب خصائص الفطر المجهرية (**11**) وهذا الفطر ينتج **gliotoxin** وهو يؤثر، الانتاج الحيواني والصحة وهو مثبط قوي للمناعة وسام للجينات والخلايا (**5**). كذلك عزلت **9** عزلات ***Rhizopus*** بنسبة **8%** اعتمادا على خصائصه المجهرية و**6** عزلات ***Penicillium*** بنسبة **6%** تم تشخيصها اعتمادا على خصائصه المجهرية (**5**، **21**) والذي بعض انواعه تنتج الأوكراتوكسين وأخيرا تم عزل وتشخيص **5** عزلات ***Aspergillus terreus*** بنسبة **5%** اعتمادا على خصائصه المجهرية (**21**).

جدول **1**: النسبة المئوية لظهور الفطريات في عينات الأعلاف الحيوانية المستوردة

نوع الفطر	عدد العزلات	النسبة المئوية للظهور (%)
Aspergillus niger	**14**	**15**
Aspergillus flavus	**27**	**28**
Aspergillus fumigates	**9**	**9**
Aspergillus terreus	**5**	**5**
Fusarium	**15**	**16**
Penicillium	**6**	**6**
Alternaria	**12**	**13**
Rhizopus	**8**	**8**
	96	**%100**

نسبة الاصابة الفطرية وعدد الأنواع الفطرية المعزولة في عينات الأعلاف الحيوانية المستوردة

اظهرت النتائج في جدول (2) اختلاف نسبة الاصابة في العينات المفحوصة بسبب الاختلاف في طبيعة مكونات كل مادة علفية التي توفر البيئة الغذائية المناسبة لنمو الفطريات (22) وتوفر الظروف الملائمة لنمو الفطريات وانتاج السموم الفطرية حيث كانت اعلى نسبة للاصابة بالفطريات في الذرة 100% بسبب ارتفاع محتواها من الكاربوهيدرات وارتفاع محتواها من الدهون مما يجعلها اقل قابلية للتخزين من الحبوب الاخرى ولهذا كان عدد العزلات 43 عزلة عند محتوى الرطوبة من 12.1-9.4 في شهر تشرين الاول كانت 20 عزلة كل انواع ***Aspergillus*** و6 عزلات ***Alternaria*** و5 عزلات ***Rhizopus*** وفي شهر كانون الاول 6 عزلة ***Fusarium*** و6 عزلات ***Penicillium*** وايضا في علف المجترات كانت نسبة الاصابة 100% ولكن عدد العزلات كان 3 عزلة هي 1 عزلة ***Alternaria*** وعزلتين ***Rhizopus*** بسبب محتوى الرطوبة 11.5-6.9 في شهر تشرين الاول.

وفي علف الأسماك كانت نسبة الاصابة 60 % وكان عدد العزلات 18 عزلة هي 15 عزلة كل انواع ***Aspergillus*** وعزلتين ***Alternaria*** وعزلة واحدة ***Rhizopus*** بسبب محتوى الرطوبة 6.5–3.2 في شهر تشرين الثاني اما علف الدواجن فكانت نسبة الاصابة 60% وكان عدد العزلات 12 عزلة هي 11 عزلة كل انواع ***Aspergillus*** وعزلة واحدة ***Alternaria*** بسبب محتوى الرطوبة 2.20 – 9.1 في شهر كانون الثاني.

طعام الكلاب كانت نسبة الاصابة 67% وكان عدد العزلات 2 عزلة هي 1 عزلة ***Aspergillus*** وعزلة واحدة ***Alternaria*** بسبب محتوى الرطوبة 7.1 في شهر تشرين اول وكسبة فول الصويا كانت نسبة الاصابة 54.5% بسبب محتواها العالي من البروتين من44–48% ومحتوى الرطوبة 10 في شهر كانون ثاني فكان عدد العزلات 16 عزلة هي 8 عزلات ***Fusarium*** و8 عزلة ***Aspergillus*** اما علف الطيور كانت نسبة الاصابة 50% وكان عدد العزلات 2 عزلة هي عزلة واحدة ***Fusarium*** وعزلة واحدة ***Alternaria*** بسبب محتوى الرطوبة من 11.1-7.8 في شهر كانون أول.

جدول 2: نسبة الاصابة وعدد الأنواع الفطرية المعزولة في عينات الأعلاف الحيوانية المستوردة

نوع الفطر	كسبة فول الصويا (n=22)	ذرة (n=14)	علف طيور (n=4)	طعام كلاب (n=3)	علف مجترات (n=3)	علف اسماك (n=10)	علف دواجن (n=10)	عدد العزلات الكلي
Aspergillus niger	-	2	-	-	-	6	6	14
Aspergillus flavus	8	7	-	1	-	6	5	27
Aspergillus fumigates	-	6	-	-	-	3	-	9
Aspergillus terreus	-	5	-	-	-	-	-	5
Fusarium	8	6	1	-	-	-	-	15
Penicillium	-	6	-	-	-	-	-	6
Alternaria	-	6	1	1	1	2	1	12
Rhizopus	-	5	-	-	2	1	-	8
	16	43	2	2	3	18	12	96
عدد العينات المصابة لكل نوع	12	14	2	2	3	6	6	
نسبة الاصابة الفطرية للعينات	54.5%	100%	50%	67%	100%	60%	60%	
محتوى الرطوبة للعينات	10	9.4-12.1	7.8-11.1	7.1	6.9-11.5	3.2 –6.5	2.20 –9.1	

n: العدد الكلي للعينات

عدد الفطريات الكلي

نلاحظ من النتائج في جدول (3) الخاص بفحص عدد الفطريات الكلي لعينات الأعلاف جميعها ان أعلى عدداً كلياً للفطريات في عينات الذرة $10^6 \times 2.6$ وأدنى عدداً كلياً للفطريات في عينات علف الأسماك $10^5 \times 1.7$

فيما توزعت باقي العينات بين هذين العددين فكانت كل عينات الاعلاف المفحوصة لعدد الفطريات الكلي غير مقبولة للحيوانات البالغة (300.000 CFU/g) ماعدا علف الاسماك وعلف الطيور لكن كل عينات الاعلاف المفحوصة لعدد الفطريات الكلي كانت غير مقبولة للحيوانات الفتية (50.000 CFU/g) حسب ما جاء في الشروط المعروفة في الفقرات 9 و8 من تشريع الكميات القصوى للمواد والمكونات الضارة في العلف الحيواني (15) (الذي ينص على ان المواد الاولية والمخلوطة لعلف الحيوانات البالغة اذا كانت تحتوي على عدد كلي للفطريات اكثر من 300.000 CFU/g تكون غير متطابقة مع مواصفات الجودة للعلف وكذلك فان المواد الاولية والمخلوطة لعلف الحيوانات الفتية اذا كانت تحتوي على عدد كلي للفطريات اكثر من 50.000 CFU/g فانها تكون غير متطابقة مع مواصفات الجودة للعلف).

جدول 3: عدد الفطريات الكلي في عينات الأعلاف الحيوانية المستوردة.

نوع العلف	عدد العينات	عدد الفطريات الكلي
علف دواجن	10	3.5×10^5
علف اسماك	10	1.7×10^5
علف مجترات	3	2.1×10^6
طعام كلاب	3	2.0×10^6
علف طيور	4	1.8×10^5
ذرة	14	2.6×10^6
كسبة فول الصويا	22	2.2×10^6
المجموع	66	-

تراكيز السموم الفطرية

بسبب التأثير الضار للسموم الفطرية في صحة كل من الحيوان والإنسان،اجري فحص السموم الفطرية الثلاثة (الأفلاتوكسين الكلي وT2 / HT2 toxin وochratoxin) بتقنية Direct competitive ELISA للعينات جميعها واظهرت النتائج في جدول (4) وجود الأفلاتوكسين الكلي وT2/HT2 toxin وochratoxin في معظم العينات وتميزت عينات علف الدواجن وعلف الاسماك وعلف المجترات وعلف الطيور بوجود السموم الثلاثة المذكورة آنفاً، وهذا ما يزيد من خطر انتاج السموم الفطرية المتعددة بسبب وجود اكثر من نوع واحد من الفطريات المنتجة لهذه السموم في العينة نفسها مما يسبب فساد الاعلاف وهذا يتفق مع Sivakumar وجماعته (22).

جدول 4: تركيز السموم الفطرية في عينات الأعلاف الحيوانية المستوردة

نوع العلف	Total Aflatoxin (ppb)(N/T)		T2/HT2 toxin (ppb) (N/T)		Ochratoxin (ppb) (N/T)	
علف دواجن	0.0 (5/10)	0.5-8.2 (5/10)	-	6.1-54.8 (10/10)	0.0 (1/10)	0.7-4.7 (9/10)
علف اسماك	0.0 (6/10)	0.2-5.5 (4/10)	-	1.7-18.7 (10/10)	0.0(1/10)	0.1-2.1 (9/10)
علف مجترات	-	0.9-2.6 (3/3)	-	7.8-118 (3/3)	-	6.8-9.2 (3/3)
طعام كلاب	-	4.0-8.5 (3/3)	0.0 (3/3)	-	-	4.8-5.4 (3/3)
علف طيور	-	4.1-6.5 (4/4)	-	2.9-16.6 (4/4)	-	4.7-6.4 (4/4)
ذرة	0.0 (14/14)	-	0.0 (1/14)	0.7-14.7(13/14)	-	1.4-3.4 (14/14)
كسبة فول الصويا	-	2.7-5.3(22/22)	0.0 (22/22)	-	-	5.2-6.0 (22/22)

N: عدد العينات الموجبة T: عدد العينات الكلي ppb: جزء في البليون

وحسب مانصت عليه المواصفة القياسية العراقية لاعلاف الدواجن (2) يجب ان لايتجاوز تركيزالأفلاتوكسين عن 20 جزء في البليون فكانت العينات جميعها مقبولة ولكن عندما نقارن بين وجود الفطريات ووجود السموم الفطرية في العينات كافة نجد ثلاث حالات:

الحالة الاولى

نلاحظ في جدول (5) عدم وجود الأفلاتوكسين الكلي في 5 عينات علف دواجن و6 عينات علف اسماك و14 عينة ذرة على الرغم من وجود سلالات فطرية منتجة للأفلاتوكسين من ***Aspergillus flavus*** وفي جدول (6) نلاحظ عدم وجود سم T2/HT2 في 22 عينة كسبة فول الصويا على الرغم من وجود ***fusarium*** في هذه العينات وهذا مما يستدعي ضرورة المحافظة على ظروف الخزن المناسبة ضمن محتوى رطوبة اقل من 12% حتى لا تقوم هذه الفطريات بانتاج السموم.

جدول 5: تركيز **Total aflatoxin** و ***Aspergillus flavus*** في الاعلاف الحيوانية

نوع العلف	Total Aflatoxin (ppb) (N/T)	*Aspergillus flavus*	Total Aflatoxin (ppb) (N/T)	*Aspergillus flavus*
علف دواجن	0.0 (5/10)	+	0.5-8.2 (5/10)	+
علف اسماك	0.0 (6/10)	+	0.2-5.5 (4/10)	+
علف مجترات	-	−	0.9-2.6 (3/3)	-
طعام كلاب	-	−	4.0-8.5 (3/3)	+
علف طيور	-	−	4.1-6.5 (4/4)	-
ذرة	0.0 (14/14)	+	-	+
كسبة فول الصويا	-	−	2.7-5.3 (22/22)	+

(+) تعني وجود الفطر (−) تعني عدم وجود الفطر

الحالة الثانية

نلاحظ في جدول (5) وجود الأفلاتوكسين الكلي في 3 عينات علف مجترات بتركيز من 0.9-2.6 جزء في البليون) و4 عينات علف طيور بتركيز من 4.1-6.5 جزء في البليون على الرغم من عدم وجود سلالات فطرية منتجة للأفلاتوكسين من ***Aspergillus flavus*** وفي جدول (6) نلاحظ وجود سم T2/HT2 في 10 عينات علف دواجن بتركيز من 6.1-54.8 جزء في البليون و10 عينات علف أسماك بتركيز 1.7−18.7 جزء في البليون و3 عينات علف مجترات بتركيز من 7.8−118 جزء في البليون على الرغم من عدم وجود ***fusarium*** وفي جدول (7) وجود الأوكراتوكسين في 3 عينات علف مجترات بتركيز 6.8-9.2 جزء في البليون و3 عينات طعام كلاب بتركيز 4.8−5.4 جزء في البليون و4 عينات علف طيور بتركيز 4.7−6.4 جزء في البليون و 2 عينة كسبة فول الصويا بتركيز 5.2−6.0 جزء في البليون على الرغم من عدم وجود ***Penicilliu*** و***Aspergillus niger*** في هذه العينات بسبب موت الفطريات المنتجة لها نتيجة تعرضها لظروف غير مناسبة اما السموم الفطرية فهي ثابتة بشكل كبير لا تتأثر بالحرارة وانتاجها يبدأ في وقت متاخر من نمو الفطريات (12) ويمكن الكشف عنها بعد مدة طويلة من موت الفطريات المنتجة لها نتيجة تعرضها لظروف نمو غير مناسبة كالحرارة والتهوية ودرجة الحموضة pH والرطوبة والضوء وهذا يتوافق مع ما جاء به SuleEnyisi وجماعته (23) ولكن يجب الانتباه الى ان سبورات هذه الفطريات موجودة في هذه العينات وعند توفر ظروف النمو المناسبة ستنمو وتتمكن من انتاج السموم.

جدول 6: تركيز **T2/HT2toxin** و***Fusarium*** في الاعلاف الحيوانية

نوع العلف	T2/HT2toxin (ppb) (N/T)	*Fusarium*	T2/HT2toxin (ppb) (N/T)	*Fusarium*
علف دواجن	-	-	6.1-54.8 (10/10)	-
علف اسماك	-	-	1.7-18.7 (10/10)	-
علف مجترات	-	-	7.8-118 (3/3)	-
طعام كلاب	0.0 (3/3)	-	-	-
علف طيور	-	−	2.9-16.6 (4/4)	+
ذرة	0.0 (1/14)	−	0.7- 14.7 (13/14)	+
كسبة فول الصويا	0.0 (22/22)	+	-	−

الحالة الثالثة

نلاحظ في جدول (5) وجود الأفلاتوكسين الكلي في 5 عينات علف دواجن بتركيز من 0.5-8.2 جزء في البليون و4 عينات علف اسماك بتركيز من 0.2-5.5 جزء في البليون و22 عينة كسبة فول الصويا بتركيز 2.7-5.3 جزء في البليون و3 عينات طعام كلاب بتركيز 4.0-8.5 جزء في البليون مع وجود سلالات *Aspergillus flavus* منتجة للأفلاتوكسين وفي جدول (6) نلاحظ وجود T2/HT2 في 13 عينة ذرة بتركيز 0.7-14.7 جزء في البليون و4 عينات علف طيور بتركيز من 2.9-16.6 جزء في البليون مع وجود*fusarium* وفي جدول (7) وجود الأوكراتوكسين في 14 عينة ذرة بتركيز من 1.4-3.4 جزء في البليون مع وجود *Penicillium* و9 عينات علف دواجن بتركيز من 0.7-4.7 جزء في البليون مع وجود *Aspergillus niger* وهذا مما يؤدي الى زيادة تراكيز السموم المنتجة من هذه الفطريات بمرور الوقت عند عدم السيطرة على ظروف الخزن الملائمة في اثناء مدة الخزن الطويلة مما ينتج عن ذلك فساد الاعلاف وامراضيتها للحيوان ويمكن أن يكون لها عواقب مميتة بشكل خسائر مباشرة نتيجة لنفوق الحيوانات.

جدول 7: تركيز Ochratoxin و *Aspergillus niger & Penicillium* في الاعلاف الحيوانية

نوع العلف	Ochratoxin (ppb) (N/T)	*Penicillium & Aspergillus niger*	Ochratoxin (ppb) (N/T)	*Penicillium & Aspergillus niger*
علف دواجن	0.0 (1/10)	–	0.7-4.7 (9/10)	+
علف اسماك	0.0(1/10)	–	0.1-2.1 (9/10)	-
علف مجترات	-	–	6.8-9.2 (3/3)	-
طعام كلاب	-	–	4.8-5.4 (3/3)	-
علف طيور	-	–	4.7-6.4 (4/4)	-
ذرة	-	–	1.4-3.4(14/14)	+
كسبة فول الصويا	-	–	5.2-6.0 (22/22)	-

نستنتج من النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة ان الخطورة ليست في وجود السموم الفطرية فقط وانما في وجود الفطريات المنتجة لها لانه عند توفر الظروف الملائمة لإنتاج السموم ستقوم هذه الفطريات بإنتاجها لذلك يجب الاهتمام بظروف الخزن المثالية وكذلك ينبغي اجراء الفحص الميكروبيولوجي وتحليل السموم الفطرية للاعلاف قبل استهلاكها من قبل الحيوان لتحديد جودة وسلامة الأعلاف الحيوانية ومن الضروري اعتماد الحد المسموح به 300.000 CFU/g لعلف الحيوانات البالغة و50.000 CFU/g لعلف الحيوانات الفتية في المواصفة العراقية كحد مقبول لعدد الفطريات الكلي اسوة بالمواصفة الاوربية لضمان صحة الحيوان.

المصادر

1- **Al-Mossawei, M. T.; L. A. Al-Zubaidi; I. S. Hamza and S. Y. Abduljaleel (2016). Detection of AFM1 in Milk and Some Dairy Products in Iraq using different techniques, Advances in Life Science and Technology, ISSN 2224-7181. (Paper) ISSN 2225-062X (Online), 41:74-81.**

2- **Bennett and Klich, Mycotoxins, CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, 16(3) :497–516, July 2003.**

3- **Candlan, E.P.; I.Q. Sito; M.Y. Yalda; S.N. Taheer and A.M. (2015). Shareef aflatoxin B1 residues in imported and local broiler breast and thigh muscle in Kurdistan region, Iraqi journal of Vet. Sci., 29(1-2): 1-5.**

4- **Central agency of standardization and control quality (1990). concentrated finished and feeds for chicken, IQS: 924:1-4**

5- **Elizabet P. Janić Hajnal1; Jovana J. Kos1; Jasna S. Mastilović (2013). PRESENCE OF T-2 AND HT-2 TOXINS IN MAIZE, Jour. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad, (124):131-136.**

6- Frisvad, J.C.; U. Thrane; R.A. Samson and J.I. Pitt (2006). Important mycotoxins and the fungi which produce them.AdvExp Med Bio, l571: 3-31.

7- Ghulam Fareed, Sohail Hassan Khan (2014), Muhammad Ashraf Anjum and Naveed Ahmed, Determination of Aflatoxin and Ochratoxin in poultry feed ingredients and finished feed in humid semi-tropical environment, J. Adv. Vet. Anim. Res., 1(4): 201-207.

8- González, H. H. L.; S. L. Resnik; R. T. Boca and W. F. O. Marasas (1995). Mycoflora of Argentinean corn harvested in the main production area in 1990. Mycopathologia, 130: 29-36.

9- Guchi, E.; A. Ayalew; M. Dejene; M. Ketema; B. Asalf and C. Finisa (2014). occurrence of Aspergillus species in Groundnut (Arachis hypogaea L.) along the value Chain in different Agro-Ecological zone of Eastern Ethiopia. journal ofapplied and environmental microbiology, 2(6):309-317.

10- Krnjaja, V.; Lj; Stojanović; S. Trenkovski and Z. Bijelić (2010). THE FREQUENCY OF PATHOGENIC FUNGI GENERA INANIMAL FEED, LucrăriŞtiinţifice - vol. 53, SeriaZootehnie, p: 341-344.

11- LaidD. B.; K. Zahira; A. Nourreddine and W. Abdelhakim (2009). Effet des Métabolites Secondaires (Mycotoxines) *d'Aspergillus fumigatus Fres*. Sur la Germination Chez Certaines Variétés de Pois Chiche, journal of Damascus university for agricultural sciences, 25(1): 95-106.

12- Li Zheng, Jie Zhao,Xiaofei Liang, Gangming Zhan, Shuchang Jiang and Zhensheng Kang (2017). Identification of Novel Alternaria alternaria strain able to hyperparasitize Puccinia striiformis f. sp. Tritici, the causal agent of Wheat stripe rust, Frontiers in Microbiology, 8, article 71.

13- Muneera D. F. Al-Kahtani (2014). Isolation of Fungi and their Mycotoxin Extract from Stored Wheat and Other Grains Importer in Saudi Arabia, American Journal of Food Tech., 9 (7): 370-376.

14- Neogen corporation (2013). mycotoxin handbook, third edition,www.neogen.com.

15- OFFICIAL JOURNAL OF SRY 2/90/ SL. LIST SRJ (1990): Pravilnik omaksimalnimkoličinamaštetnihmaterija i sastojaka u stočnojhrani. (2).

16- Park, D. L.; H. Njapau and E. Boutrif (2009). Minimizing risks posed by mycotoxins utilizing the HACCP concept [Internet]. Nov 17 [cited 2009 Nov 17]; Available from: http://www.fao.org/docrep/x2100t/x2100t08.htm.

17- Pena, G.A.; C.M. Pereyra; M.R. Armando; S.M. Chiacchiera; C.E. Magnoli; J.L. Orlando; A.M. Dalcero; C.A.R. Rosa and L.R. Cavaglieri (2010). *Aspergillus fumigatus* toxicity and gliotoxin levels in feedstuff for domestic animals and pets in Argentina, Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254, 50: 77–81.

18- Pitt, J.I. and A.D. Hocking (2009). Fungi and Food Spoilage, Springer, Berlin, Germany, 3rd edition.

19- R.Hafizi, B. and S. Z. Latiffah (2013). Morphological and molecular characterization of Fusarium. Soloni and F.oxysporum associated with crown disease of oil palm, Brazilian journal of microbiology 44(3):959-968.

20- Saito, M. and S. Machida (1999). Arapid identification method for aflatoxin-producing strains of Aspergillusflavus and A. Parasiticus byammoniavapor.mycoscience, 40: 205-208.

21- Semra ILHAN, Rasime DEMIREL, Ahmet ASAN,Cengiz BAYCU (2006). Colonial and Morphological characteristics of some microfungal species isolated from agricultural soils in Eskisehir Province (TURKEY), Turk J Bot, 30:95-104.

23- SuleEnyisi, I.; A. Orukotan; A. Ado and A.A.J. Adewumi (2015). Total aflatoxin level and fungi contamination of maize and maize products, Afr. J. Food Sci. Technol., 6(8): 229-233.
24- Talal, H.; S. Ali; A. Q. Ghassan and M. Daghir (2009). Aspergillus olds and aflatoxin in maize, rice and corn in Missan, misan journal, ISSN - 1994 - 697X, 8(15).
22- Sivakumar, V.K.; G. Singaravelu and P. Sivamani (2014). Isolation, Characterization and Growth Optimization of Toxicogenic Molds from Different Animal eeds in Tamilnadu, Int. J. Curr. Microbiol. App., 3 (9): 430-445.
25- Xu W.; X. Han and F. Li; L. Zhang (2016). Natural Occurrence of *Alternaria* Toxins in the 2015 Wheat from Anhui Province, China, Toxins (Basel). 26;8(11): E308.

CONTAMINATION OF IMPORTED ANIMAL FEED OR ITS RAW MATERIALS WITH MYCOTOXOGENIC FUNGI

M. D. Ali **D. M. L. Al-Musawi** **S. B. Hussein**
M. J. Gatoof, **N. A. S. Hanash** **B. Z. Abdulkareem**

ABSTRACT

This study was carried out to investigation mycotoxigenic fungi presence in imported animal feed because of its negative impact on animal health then its effect on human health via consumption of animal products which it contaminated with these mycotoxins. A total of (66) Sample of imported animal feed were collected from border points and examined for total fungal count test, isolation and identification fungi genera and mycotoxins concentration test. Results indicated the fungal infection was in (45) Sample of total samples at (68%) and isolated 96 isolates to 5 genus: *Aspergillus, Fusarium, Penicillium, Alternaria, Rhizopus* and the genera *Aspergillus, isolated 4 species: Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Aspergillus fumigates , Aspergillus terreus.*

The corn was more samples in its content to 43 isolates and both of brid feed and dog feed were less samples in its content to 2 isolates.

The most prevalent fungi genus was *Aspergillus flavus* (27) isolates at (28%) and all isolates of *Aspergillus flavus* were aflatoxin-producing strains while less prevalent fungi genus was *Aspergillus terreus* (5) isolates at (5%).
It observed occurrence of Total aflatoxin in (41) samples, occurrence of T2/HT2 toxin in (40) samples and occurrence of ochratoxin in (64) samples.

From results of this study we conclude the gravity isn't in mycotoxins occurrence only but in mycotoxigenic fungi presence because when the suitable conditions were available for mycotoxins production, these fungi will producing it which led to increases its concentrations with the time when non control on suitable storage conditions within long storage period and must be attention about presence of mycotoxins types under study combined in same sample and that is known there are accumulation which increases of exposure risk to these mycotoxins then cancer diseases infection especially risk and pathologicity of these mycotoxins do not infected animal only but transmitted to human.

Directorate of Animal Resources, Agric. Ministry, Baghdad, Iraq.