Archive of SID

بررسی تأثیر میزان آفلاتوکسین موجود در جیره و شیر بر مشکلات تولید مثلی در گاوهای هولشتاین

اکبر پیرستانی*[۱]، سید نورالدین طباطبایی[۱]، محمد هاشم فاضلی[۲]، محمد آنتیک چی[۳]، مهدی بابایی[۴]

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران
۲- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳- دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴- مربی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

* **نویسنده مسئول:** *a.pirestani@khuisf.ac.ir*

خلاصه

هدف از این مطالعه، ارزیابی تاثیر میزان آفلاتوکسین موجود در جیره و شیر بر مشکلات تولید مثلی گاوهای شیری می باشد. جهت تشخیص میزان آفلاتوکسین B_1، B_2، G_1 و G_2 موجود در مواد غذایی و M_1 در شیر، نمونه هایی از دو گاوداری (A و B) در دو نقطه مختلف استان اصفهان جمع آوری و میزان آفلاتوکسین آنها توسط سیستم HPLC تعیین گردید. آزمایشات سونوگرافی و کلینیکی جهت تشخیص کیست های تخمدانی و مشکلات تولید مثلی در روزهای ۵۰ تا ۱۰۰ بعداز زایمان انجام گرفت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که میزان آفلاتوکسین در جیره گله‌های A و B به ترتیب ۱۹/۵۱ و ۸۲/۲۳ میکروگرم در کیلوگرم می باشد. بعلاوه با توجه به حد استاندارد آفلاتوکسین کل در جیره (۲۰ میکروگرم در کیلوگرم) و شیر (۰/۵ میکروگرم در لیتر)، میزان آفلاتوکسین M_1 شیر در گله B بالاتر بود. میزان آفلاتوکسین خوراک در گاوداری B بالاتر از حد استاندارد و عامل اصلی بالا بودن میزان آفلاتوکسین خوراک در این گله تخم پنبه دانه بود. ارتباط آماری معنی‌داری بین میزان آفلاتوکسینB_1، B_2، G_1 وG_2 در خوراک با آفلاتوکسین M_1 شیر وجود داشت و با افزایش میزان آفلاتوکسین کل در خوراک دام افزایش آفلاتوکسینM_1 در نمونه های شیر مشاهده شده و میزان آفلاتوکسین در جیره را می توان یکی از عوامل مشکلات تولید مثلی بخصوص جفت ماندگی در گله های شیری دانست. آفلاتوکسین موجود در جیره و شیر با وقوع کیست تخمدانی بدون ارتباط و با مشکلات تولید مثلی دارای ارتباط بوده ولی از نظر آماری معنی دار نمی باشد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین، جیره، شیر، مشکلات تولید مثلی، گاو شیری

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت های ثانویه‌ای هستند که توسط چندین قارچ تولید می‌شوند و عموماً این قارچها آسپرژیلوس، پنی سیلیوم، فوزاریوم و آلترناریا می‌باشند(۱). مایکوتوکسین‌های اصلی که باعث ضعف در قابلیت ای تولید مثلی و تولیدی حیوانات می‌شوند عبارت از: آفلاتوکسین، داکسی نیولنول(DON)، ارگوت، اکراتوکسین، زرالنون (ZEN)، پالتومین، تریکوتسنن، فومافونیزین می‌باشند. مایکوتوکسین‌ها بخاطر خاصیت استروژنیک، دارای تأثیر بر تولیدمثل حیوانات می‌باشند و ایجاد کیست‌های تخمدانی و مسائل ناباروری می‌نمایند. از طرفی، به طور مستقیم باعث کاهش غذای دریافتی و یا کاهش رشد و یا صدمه به ارگان های حیاتی بدن حیوان می-شوند (۱، ۲، ۳، ۴). حضور آفلاتوکسین در جیره غذایی و بالا بودن میزان آن از حد بحرانی (در جیره ۲۰ میکروگرم در کیلوگرم و در شیر ۰/۵ میکروگرم در لیتر) در انسان و در حیوانات با ورود به مایعات بدن (خون در ماده و منی در نر) باعث کاهش قدرت باروری و مشکلات تولید مثلی می‌گردد (۱، ۲، ۵،۶، ۷، ۸، ۹و۱۰). آفلاتوکسین، بطور اولیه توسط آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازتیکوس تولید و دارای چهار نوع اصلی شامل B1، B2، G1 و G2 می‌باشد و براساس خاصیت فلورسنت آبی و سبز و الگوی تحرک در کروماتوگرافی نامگذاری شده‌اند و اساساً نوع B1 از نظر بیولوژیکی فعال می‌باشد و پس از متابولیزه شدن در کبد تبدیل به آفلاتوکسین M1 و از شیر دفع می شود. پتانسیل و اثرات سمی آفلاتوکسین‌ها وابسته به نوع، دوز دریافتی، دوره دریافت، سن حیوان، حالت تغذیه‌ای، متابولیسم و مکانیسم‌های دفاعی بدن حیوان می باشد (۱، ۳، ۴و ۵). جهت تشخیص آفلاتوکسین از روش های متنوعی شامل: کروماتوگرافی لایه نازک(TLC)، کروماتوگرافی مایع با توان بالا (HPLC)، کروماتوگرافی گازی (GC) و روش‌های ایمنی- شیمیایی مانند الایزا استفاده می‌شود. در این میان روش تشخیصی HPLC به دلیل آستانه تشخیصی از ۳۲۰–۰ میکروگرم در کیلوگرم و به دلیل دقت و حساسیت و اطمینان از نتیجه حاصله، روش ایده‌آل و مناسبی می‌باشد. با توجه به شرایط نگهداری و ذخیره‌سازی نامطلوب جیره غذایی دام‌ها از قبیل رطوبت ایده‌آل حدود ۱۸٪، درجه حرارت $25^{\circ}c$ تا $32^{\circ}c$، سرمازدگی، خشکسالی، حشرات (۳، ۱۰، ۱۱) و مصرف جیره های آلوده به آفلاتوکسین توسط دام ها و اثرات سمی ذکر شده این نوع مایکوتوکسین بر تولید مثل گاوهای هولشتاین در سطح دامداری ها و احتمالاً ارتباط بین آفلاتوکسین با عوامل کاهش دهنده باروری، در این مطالعه میزان و رابطه بین آفلاتوکسین‌های موجود در جیره (به تفکیک مواد غذایی) و شیر مورد ارزیابی قرار گرفت و همچنین ارتباط بین آفلاتوکسین‌های موجود در آنها با مشکلات تولید مثلی در گاوداری های استان اصفهان بررسی شد.

مواد و روش کار

- *حیوانات*

این آزمایش در دو گاوداری با ظرفیت ۴۵۰ (A) و ۲۰۳ (B) راس گاو شیری در دو نقطه مختلف از استان اصفهان انجام گردید. مدیریت و شرایط محیطی در هر گاوداری تقریباً یکسان بود. بدنبال زایش گاوها، گوساله‌ها از مادرشان جدا و به جایگاه مخصوص گوساله‌ها انتقال داده می‌شدند. بعد از زایش گاوها توسط دامپزشک گاوداری در روز ۵۰ تا ۱۰۰ مورد آزمایش قرار می گرفتند.

- *طرح آزمایش*

در این تحقیق نقص در باروری (کیست‌های تخمدانی، عفونت رحمی، عدم توانایی در آبستن شدن) در گله‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. کیست‌های تخمدانی و عفونت‌های رحمی توسط دامپزشک گاوداری و از طریق لمس رکتوم با سونوگراف خطی ۵mHZ تشخیص داده شد. همچنین جهت ثبت فحلی ها از زمان زایمان تا روز ۱۰۰، در هر روز ۴ مرتبه بمدت ۲۰ دقیقه بهاربندهای هر گاوداری مورد مشاهده قرار می‌گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

- نمونه‌برداری و استخراج آفلاتوکسین از نمونه‌ها جهت تشخیص با HPLC

در این تحقیق جهت تشخیص میزان آفلاتوکسین از دستگاه HPLC (Perkin Elmer Series 200 آمریکا) در آزمایشگاه استفاده شد. جهت تعیین میزان آفلاتوکسین های B1، B2، G1 و G2 موجود در جیره، حدوداً ۵ کیلوگرم از هر ماده از انبار خوراک (سیلو، یونجه، کنسانتره و ...) نمونه‌گیری شد و در مقابل نور خورشید خشک گردید. سپس نمونه‌ها در آسیاب پودر و از الک با شماره ۲۰ عبور داده شد و سریعاً جهت جلوگیری از تماس هوا و نور با نمونه ها توسط کاغذ پوشیده شد (۵ و۱۲). همچنین جهت جلوگیری از ورود رطوبت و رشد قارچها و افزایش میزان آفلاتوکسین، نمونه ها با پلاستیک بسته بندی گردیدند (۳و ۱۳). جهت تشخیص میزان آفلاتوکسین M1 در شیر، ۲۰ گاو با و بدون کیست تخمدانی در هر گاوداری بصورت تصادفی انتخاب و به دو گروه ۱۰ تایی تقسیم‌بندی شدند. از هر گروه، نمونه‌های شیر (هر نمونه ۵۰ میلی‌لیتر) جمع‌آوری و از تانک مخزن شیر نیز ۵۰ میلی‌لیتر (بعد از همگن نمودن شیر موجود در مخزن) نمونه گیری شد و سپس چربی نمونه‌های شیر توسط سانتریفوژ با دور ۲۵۰۰g به مدت ۱۰دقیقه در حداکثر دمای c° ۱۰ جداسازی شد. جهت جلوگیری از هر گونه نقص در روند استخراج آفلاتوکسین، نمونه‌های غذا و شیر در کنار یخ در دمای c° ۴-۲ به آزمایشگاه منتقل و مورد آزمایش قرار گرفتند (۱۴).

- تشخیص با HPLC

روش آنالیز آفلاتوکسین با HPLC در سه مرحله عصاره‌گیری، خالص‌سازی یا پاکسازی وتشخیص کمی انجام شد(۱۵). جهت اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر، بعد از جداسازی لایه چربی، توسط کاغذ صافی فیلتر گردید و حجمی به میزان ۲۵ میلی لیتر جمع آوری شد. بعلاوه نمونه های جیره توسط آسیاب پودر و از الک شماره ۲۰ رد شده و میزان ۲۵ گرم از هر نمونه برداشته و به همراه ۲/۵ گرم نمک و ۱۰۰ میلی لیتر محلول القاء (مخلوط متانول-آب) توسط مخلوط کن‌های با دور بالا به مدت ۳ دقیقه مخلوط گردید و از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس نمونه-های شیر و جیره از ستون ایمینوافینیتی (C18 Column Supelco Discovery® 250×4.6 mm I.D.,) با قطر ۵ میلی متر و با جریان ۱ قطره در ثانیه توسط خلاء عبور داده شد. سپس دو مرتبه با آب مقطر شستشو و با فشار هوا برای ۱۵ ثانیه خشک شد. به آفلاتوکسین آزاد شده میزان۵۰۰ میلی لیتر محلول استخراج (متیل استات نیترات) اضافه شد. محلول استخراج از ستون به مدت ۲۰ دقیقه عبور داده شد و سپس ۱۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. کل محصول شستشو (۲۰۰۰ میلی لیتر) از فیلترهای میلی پور(0.45 mm) عبور داده شد و ۲۰۰ میلی‌لیتر آن به سیستم HPLC تزریق شد (۱۶، ۱۷و۱۸). تشخیص میزان آفلاتوکسین بر اساس خصوصیات فلورسنت در سیستم HPLC می‌باشد که آفلاتوکسین B_1 وG_1 دارای خصوصیت فلورسنت نبوده اما آفلاتوکسین B_2 و G_2 دارای این خصوصیت هستند. بنابراین جهت تشخیص آفلاتوکسین B_1 و G_1 با این سیستم، بایستی آنها را توسط پتاسیم بروماید به B_2 و G_2 در فاز متحرک باند نمود. این روند با استفاده از Post Column Derivatization Chamber (PCDC) با جریان الکتریکی و یونیزه شدن انجام شد که منجر به باند شدن B_1 و G_1 به B_2 و G_2 همراه با بروماید می شود و ایجاد ترکیب B_2a و G_2a می نماید. مقدار این ترکیب وابسته به میزان اولیه B_1 و G_1 می‌باشد. نمودار کامپیوتری براساس زمان عبور رسم (زمان مداخله‌ایی آفلاتوکسین B_1، B_2، G_1 و G_2 به ترتیب۱۱، ۹، ۸ و ۶ می‌باشد) (۱۷و ۱۸) و براساس نمودار استاندارد کالیبره شده و نوع آفلاتوکسین تعیین و با معیار میکروگرم در کیلوگرم بیان شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در هر گاوداری همبستگی و رابطه بین متغییرها با یکدیگر از طریق روش ضریب همبستگی رتبه‌ای اسپیرمن (کد صفر و یک) توسط روش آماری SPSS

www.SID.ir

JVP
Archive of SID

(Ver 16.0) صورت گرفت که در هر همبستگی ** نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۱٪ خطای آماری و * بیانگر معنـی‌داری در سطح ۵٪ خـطای آمـاری می‌باشد و بدون ستاره بیانگر عدم معنی‌داری رابطه است. از لحاظ کلیه خصوصیات، تفاوت‌های بین ۲ گاوداری با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه ANOVA بررسی شد.

نتایـج

میزان آفلاتوکسین موجود در جیره گاوهای شیری در گاوداری A و B براساس میکروگرم در کیلوگرم در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس این جدول میزان آفلاتوکسین در گله A نسبت به گله B پایین‌تر می‌باشد. از طرف دیگر، میزان آفلاتوکسین G_2 در گله A صفر و در گله B نیز در تمام مواد غذایی بجز کنسانتره صفر می‌باشد. میزان آفلاتوکسین کل جیره در گله‌های A و B به ترتیب ۱۹/۵۱ و ۸۲/۲۳ میکروگرم در کیلوگرم بود که این میزان در گله A کمتر از حد استاندارد و در گله B بیشتر از حد استاندارد (۲۰ میکروگرم در کیلوگرم) می باشد.

جدول ۱: میزان آفلاتوکسین موجود در جیره بر اساس (میکروگرم درکیلوگرم) به تفکیک در گاوداری های A و B

	آفلاتوکسین B_1	آفلاتوکسین B_2	آفلاتوکسین G_1	آفلاتوکسین G_2	آفلاتوکسین کل
گاوداری A					
کاه	۰/۳۹	۰	۰	۰	۰/۳۹
یونجه	۰/۳۸	۰	۰/۳۱	۰	۰/۶۹
سیلو	۰/۴۵	۰	۰	۰	۰/۴۵
تفاله چغندر	۰/۳۲	۰	۰	۰	۰/۳۲
کنسانتره پر شیر	۱۴/۵	۲/۶۲	۰	۰	۱۷/۱۲
کنسانتره متوسط شیر	۰/۵۴	۰	۰	۰	۰/۵۴
گاوداری B					
یونجه	۰/۷	۰	۰/۳۹	۰	۱/۰۹
سیلو	۰/۳۶	۰/۷۵	۰/۹۴	۰	۲/۰۵
تفاله چغندر	۰/۵۵	۰	۰	۰	۰/۵۵
کنسانتره	۶۸/۲	۹/۷۷	۰	۰/۵۷	۷۸/۵۴

ارتباط بین آفلاتوکسین جیره و شیر در گاوداری A و B در جدول۲ آورده شده است. در جدول مذکور، بین آفلاتوکسین های اندازه گیری شده در جیره (در هر گاوداری ۲۰ نمونه) مانند B_1، B_2، G_1 و G_2 و آفلاتوکسین M_1 در شیر ارتباط معنی داری در سطح $P\leq ۰/۰۱$ وجود دارد و مشخص گردید که افزایش میزان آفلاتوکسین در جیره باعث افزایش میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر می گردد.

جدول ۲: ارتباط بین میزان آفلاتوکسین موجود در جیره و شیر در گاودارهای A و B

	آفلاتوکسین B_1	آفلاتوکسین B_2	آفلاتوکسین G_1	آفلاتوکسین G_2	انواع دیگر آفلاتوکسین ها
آفلاتوکسین M_1 در گاوداری A	۰/۹۸۶**	۰/۹۵۸**	۰/۹۶۹**	۰	۰/۹۸۴**
آفلاتوکسین M_1 در گاوداری B	۰/۹۰۹**	۰/۹۱۹**	۰/۹۲۹**	۰/۹۳۰**	۰/۹۰۵**

** معنی داری در سطح ۱٪ خطای آماری ($P \leq ۰/۰۱$)

جدول ۳ ارتباط بین آفلاتوکسین و مشکلات تولید مثلی در گاوداری A و B را نشان می‌دهد. بین آفلاتوکسین‌های موجود در جیره و شیر و وقوع کیست تخمدانی رابطه معنی‌داری وجود ندارد و این نشان می‌دهد که آفلاتوکسین باعث ایجاد کیست تخمدانی در گاوهای شیری نمی‌شود. وقوع کیست تخمدانی در گاوداری A به میزان ۳/۳ ٪ (۱۵ راس از ۴۵۰ راس گاو در دوره زمانی ۱۰۰ – ۵۰ روز بعد از زایمان) می

www.SID.ir

Archive of SID

باشد. میزان آفلاتوکسین در شیر گاوهای کیستیک در گاوداری A (۱۰ راس گاو) به طور میانگین ۰/۰۴۳ میکروگرم در لیتر بوده که از میزان آفلاتوکسین شیر تانک گاوداری (۰/۰۳۵میکروگرم در لیتر) بیشتر است، در صورتی که میزان آفلاتوکسین شیر گاوهای سالم (۱۰ راس گاو) بطور میانگین ۰/۰۱۹۸ میکروگرم در لیتر می‌باشد. همچنین میزان آفلاتوکسین جیره گاوهای کیستیک (به طور میانگین ۱۳/۰۱۱ میکروگرم در کیلوگرم) در مقایسه با جیره گاوهای سالم (به طور میانگین ۷/۲۶۶ میکروگرم در کیلوگرم) بیشتر است و به دلیل آلودگی پائین جیره از آفلاتوکسین، میزان آفلاتوکسین G_2 صفر می‌باشد. همچنین با وجود اینکه میزان آفلاتوکسین موجود در جیره و شیر در گاوداری B چندین برابر حد استاندارد می‌باشد ولی بین آفلاتوکسین‌های موجود در جیره و شیر و وقوع کیست تخمدانی رابطه معنی‌داری وجود ندارد. وقوع کیست تخمدانی در گاوداری مذکور به میزان ۵/۹٪ (۱۲ راس از ۲۰۳ راس گاو در دوره زمانی ۱۰۰– ۵۰ روز بعد از زایمان) می باشد. میزان آفلاتوکسین در شیر گاوهای کیستیک در گاوداری B (۱۰راس گاو) به طور میانگین ۱/۶۲۲ میکروگرم در لیتر بوده که از میزان آفلاتوکسین شیر تانک گاوداری (۱/۴۹۰ میکروگرم در لیتر) بیشتر است، در صورتی که میزان آفلاتوکسین شیر گاوهای سالم (۱۰راس گاو) به طور میانگین ۱/۳۵۷ میکروگرم در لیتر می باشد. همچنین میزان آفلاتوکسین جیره گاوهای کیستیک (به طور میانگین ۱۱۰/۶۳۲ میکروگرم در کیلوگرم) در مقایسه با جیره گاوهای سالم (به طور میانگین ۱۰۵/۸۹۶ میکروگرم در کیلوگرم) بیشتر می باشد.

در گاوداری A بین آفلاتوکسین و جفت ماندگی، مرده‌زایی، عفونت‌های رحمی و فحلی‌های نامنظم ارتباط وجود دارد ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. در گاوداری B بین آفلاتوکسین و جفت ماندگی از لحاظ آماری ($P\leq ۰/۰۵$) ارتباط معنی‌داری وجود دارد و همچنین بین آفلاتوکسین و مرده‌زایی، عفونت‌های رحمی و فحلی های نامنظم ارتباط وجود دارد که از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. قابل ذکر است که میزان آفلاتوکسین در گاوداری مذکور از حد نرمال بیشتر بوده است.

جدول ۳: ارتباط بین آفلاتوکسین و مشکلات تولید مثلی در گاوداری های A و B

* معنی داری در سطح ۵٪ خطای آماری ($P \leq ۰/۰۵$)

انواع آفلاتوکسین	وقوع کیست تخمدانی[a]	وقوع کیست تخمدانی[b]	جفت ماندگی[a]	جفت ماندگی[b]	مرده‌زایی[a]	مرده‌زایی[b]	عفونت های رحمی[a]	عفونت های رحمی[b]	فحلی های نامنظم[a]	فحلی های نامنظم[b]
آفلاتوکسین B_1	۰/۳۸۳	۰/۰۹۲	۰/۲۹۵	۰/۴۰۲	۰/۱۱۱	۰/۱۱۱	۰/۱۳۴	۰/۲۹۵	۰/۰۹۰	۰/۲۹۵
آفلاتوکسین B_2	۰/۲۷۵	۰/۱۴۷	۰/۲۹۶	۰/۴۰۲	۰/۰۵۵	۰/۱۱۱	۰/۱۳۴	۰/۳۳۲	۰/۰۹۰	۰/۲۹۵
آفلاتوکسین G_1	۰/۳۷۸	۰/۱۶۱	۰/۲۹۶	۰/۴۵۶*	۰/۰۷۴	۰/۱۱۱	۰/۱۴۸	۰/۳۳۲	۰/۰۶۸	۰/۲۹۶
آفلاتوکسین G_2	۰	۰/۱۶۴	۰	۰/۴۸۳*	۰	۰/۰۹۲	۰	۰/۳۳۳	۰	۰/۲۹۶
آفلاتوکسین M_1	۰/۴۲۹	۰/۳۰۰	۰/۲۹۶	۰/۴۵۵*	۰/۱۱۱	۰/۱۸۵	۰/۱۶۱	۰/۳۳۲	۰/۰۴۵	۰/۲۵۸
دیگر آفلاتوکسین	۰/۳۷۷	۰/۰۷۸	۰/۲۹۶	۰/۴۲۹	۰/۱۱۱	۰/۱۱۱	۰/۱۳۴	۰/۳۳۲	۰/۰۹۰	۰/۲۹۵

a گاوداری A

b گاوداری B

جدول ۴ میزان بروز مشکلات تولید مثلی در اثر میزان آفلاتوکسین را در گاوداری‌های A و B نشان می‌دهد. بروز مشکلات تولید مثلی در گاوهایی که میزان آفلاتوکسین شیر آنها (۰/۰۴۳ میکروگرم در لیتر) از میانگین آفلاتوکسین شیر کل گله (۰/۰۳۵ میکروگرم در لیتر) بالاتر بوده نسبت به گاوهایی که میزان آفلاتوکسین شیر آنها (۰/۰۱۹۸ میکروگرم در لیتر) از میانگین آفلاتوکسین شیر کل گله کمتر بوده، بیشتر می باشد ولی از لحاظ آماری معنی دار نیست. میزان بروز مشکلات تولید مثلی در گاوداری B مانند گاوداری A با افزایش آفلاتوکسین در جیره و شیر، افزایش یافته است و بروز مشکلات تولید مثلی در گاوهایی که میزان آفلاتوکسین شیر آنها (۱/۶۲۲ میکروگرم در لیتر) از میانگین آفلاتوکسین شیر

www.SID.ir

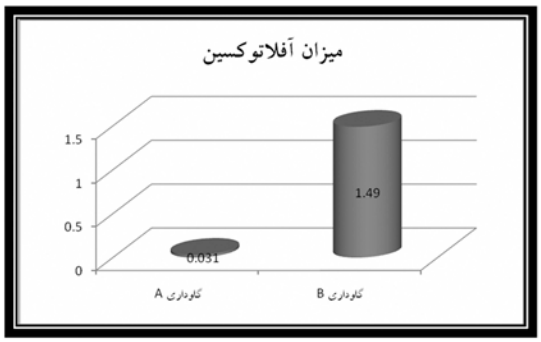
Archive of SID

کل گله (۱/۴۹۰ میکروگرم در لیتر) بالاتر بوده نسبت به گاوهایی که میزان آفلاتوکسین شیر آنها (۱/۳۵۷ میکروگرم در لیتر) از میانگین آفلاتوکسین شیر کل گله کمتر بوده، بیشتر می‌باشد تا آنجایی که با افزایش آفلاتوکسین در جیره و شیر میزان جفت ماندگی افزایش یافته که از لحاظ آماری در سطح $P \leq ۰/۰۵$ معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۴: میزان بروز مشکلات تولید مثلی در اثر میزان آفلاتوکسین در گاوداری های A و B

گاوداری ها	جفت‌ماندگی	مرده‌زایی	عفونت‌های رحمی	فحلی‌های نامنظم
گاوهای با میزان آفلاتوکسین بالا در شیر (A) (۱۰ راس)	۱	۱	۲	۲
گاوهای با میزان آفلاتوکسین پایین در شیر (A) (۱۰ راس)	۰	۰	۰	۱
گاوهای با میزان آفلاتوکسین بالا در شیر (B) (۱۰ راس)	۴	۲	۳	۲
گاوهای با میزان آفلاتوکسین پایین در شیر (B) (۱۰ راس)	۲	۱	۲	۱

نمودار۱ میزان آلودگی شیر از لحاظ آفلاتوکسین را در دو گاوداری A و B نشان می‌دهد. طبق این نمودار، بین دو گاوداری از لحاظ آلودگی شیر به آفلاتوکسین اختلاف آماری معنی داری در سطح $P \leq ۰/۰۱$ وجود دارد که این نتایج از ۴۰ گاو سالم و دارای کیست تخمدانی حاصل گردیده است. قابل ذکر است که میانگین میزان آفلاتوکسین M_1 شیر در گاوداری A وB به ترتیب ۰/۰۳۱۴ و۱/۴۹۰۱ میکروگرم در لیتر می‌باشد. همچنین میزان آفلاتوکسین شیر تانک در گاوداری A و B به ترتیب ۰/۰۳۱۶ و ۱/۸۲۹ میکروگرم در لیتر می باشد که از حد استاندارد (۰/۵ میکروگرم در لیتر) بیشتر است.



نمودار ۱: میزان آلودگی شیر از لحاظ آفلاتوکسین در گاوداری‌ها ی A و B

بحث

در تحقیقی که توسط تاج کریمی و همکاران در زمینه بررسی آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 در پنج شهر ایران انجام شد، مشخص گردید که میانگین آلودگی شیرهای مورد مطالعه ۰/۰۳۹ میکروگرم در لیتر بوده است و در ۳۷ نمونه از مجموع ۹۸ نمونه مورد بررسی، بیش از ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر گزارش شده است. میانگین آلودگی نمونه‌های اخذ شده در گرگان ۰/۰۷۶، همدان ۰/۰۰۸، رشت ۰/۰۴۴، شیراز ۰/۰۵۲ و تهران ۰/۰۶۱ میکروگرم در لیتر است که نتایج این تحقیق در مقایسه با نتایج تحقیق مذکور نشان می دهد که اجزاء جیره در هر دو شکل ترکیبی و مجزا در هر دو گاوداری دارای آلودگی با آفلاتوکسین‌های B_1، B_2، G_1 وG_2 و انواع ذیگر آفلاتوکسین‌ها می‌باشند (۱۱).

میزان آفلاتوکسین در گاوداری A به مراتب کمتر از گاوداری B بوده و حتی از میزان استاندارد جهانی (۲۰ میکروگرم در کیلوگرم) نیز کمتر می‌باشد تا جائی که میزان آفلاتوکسین نوع G2 صفر و در گاوداری B به مراتب از میزان استاندارد جهانی بالاتر بود. در این رابطه مشخص گردید که در اجزاء جیره بیشترین میزان آفلاتوکسین مربوط به آفلاتوکسین B1 موجود در کنسانتره می باشد. نتایج به دست آمده با نتایج Ozsoy و همکاران (۴) مطابقت دارد که غالب آفلاتوکسین موجود در جیره بر اثر غذاهای کنسانتره‌ای می‌باشد و این افزایش آفلاتوکسین در غذای کنسانتره، در اثر ذخیره نامناسب در گاوداری و همچنین ذخیره و عمل‌آوری در کارخانه‌های کنسانتره‌سازی می‌باشد. همچنین افزایش آفلاتوکسین در گاوداری‌ها می‌تواند مربوط به سوء مدیریت در رابطه با تغذیه و ذخیره‌سازی مواد غذایی باشد. ذخیره

www.SID.ir

Archive of SID

سازی و انبار مواد غذایی در رطوبت بالای ۱۲٪ و درجه حرارت $20^{\circ}c$ منجر به رشد قارچها و تولید آفلاتوکسین می گردد. همچنین به دلیل اینکه سم آفلاتوکسین به حرارت، آسیاب کردن، پلیت‌کردن و بسیاری از مواد شیمیایی مقاوم است در صورت سوء مدیریت، این سم در جیره تولید و با توجه به شرایط ذکر شده، افزایش می‌یابد(۴). از طرفی اختلاف در بین دو گاوداری در رابطه با میزان آفلاتوکسین موجود در جیره می‌تواند مربوط به مواردی ازقبیل: سوء مدیریت، ذخیره‌سازی و انبار ناسالم، نوع کنسانتره خریداری شده و نوع عمل آوری و تولید کنسانتره و یا سایر مواد غذایی باشد که منجر به افزایش آفلاتوکسین در گاوداری B گردیده است که این نتیجه به دست آمده با دیگر تحقیقات مطابقت دارد (۵).

نتایج نشان می دهد که بین آفلاتوکسین جیره و شیر در گاوداری ها ارتباط معنی داری در سطح ۰/۰۱ $P \leq$ وجود دارد. تحقیقات نشان می دهد که منشاء آفلاتوکسین M1 موجود در شیر ناشی از آفلاتوکسین های موجود در جیره می باشد که آفلاتوکسین B1 نقش بسزایی در این رابطه دارد به طوری که تقریباً ۲/۲٪ از آفلاتوکسین B1 موجود در غذا به آفلاتوکسین M1 تبدیل می‌گردد (۴).

در مورد ارتباط بین آفلاتوکسین و کیست‌های تخمدانی در گاوداری‌ها، رابطه معنی‌داری وجود نداشت به طوری که وقوع کیست تخمدانی در گاوداری A و B به ترتیب با ۰/۰۴۳ و۱/۶۲۲ میکروگرم در کیلوگرم‌آفلاتوکسین موجود در شیر به میزان ۳/۳ ٪ و ۵/۹ ٪ می‌باشد. در تحقیقات قبلی مشخص گردید که بین آفلاتوکسین و وقوع کیست تخمدانی ارتباط وجود دارد که در این مطالعات این ارتباط با لنگش و کیست‌های تخمدانی بررسی شده است. نتایج این تحقیق نشانگر آن است که احتمالاً کیست تخمدانی در مطالعات قبلی در اثر لنگش بوده، که به طور کلی در دوره بعد از زایمان (در روزهای ۷۰ – ۳۶ بعد از زایمان) لنگش تحت درمانگاهی مشاهده گردیده که ممکن است بر وقوع کیست تخمدانی تأثیرگذار باشد و این تحقیق نشان می‌دهد که ارتباطی بین کیست تخمدانی با آفلاتوکسین وجود ندارد. تحقیقات نشان می‌دهد مایکوتوکسین‌ها به خاطر تاثیرات استروژنیک خود در چند گونه سمی (زرالنون و ...) (۱۹) ممکن است بر وقوع کیست تخمدانی تأثیرگذار باشند(۴) ولی در رابطه با آفلاتوکسین، ارتباطی مشاهده نشده است. از طرف دیگر می‌توان وقوع کیست‌های تخمدانی موجود در گاوداری‌ها را مربوط به علل ژنتیکی، تغذیه، مدیریتی و یا هورمونی دانست که به طور کلی در فاصله ۱۰۰ روز بعد از زایمان به خصوص در چند روز اول بعد از زایمان به طور نرمال در گاوهای تازه زا زیاد می باشد که پس از گذشت چند روز خود به خود بهبود یافته و عملاً نمی‌توان ارتباطی بین کیست تخمدانی و آفلاتوکسین موجود در جیره و شیر در نظر گرفت (۴و۲۰). از طرفی می‌توان به فاکتورهای دیگری در رابطه با کیست‌های تخمدانی ازقبیل: فصل زایمان، میزان تولید شیر، شرایط بدنی حیوان (BCS)، زایمان غیر طبیعی و مسائل و بیماری های حواشی زایمان اشاره کرد. در مورد فصل زایمان عواملی مانند استرس گرمایی در فصل تابستان تأثیرگذار می‌باشند که ممکن است فولیکول رشد نهایی خود را بعد از زایمان در شرایط گرما انجام دهد و این یکی از فاکتورهای خطرناک در رابطه با ابتلا به کیست تخمدانی می‌باشد. همچنین دوقلوزایی، جفت ماندگی، متریت، کتوز، بیماری‌های متابولیک و سوء مدیریت تغذیه نیز بعد از زایمان بر وقوع کیست تخمدانی دخیل هستند و همچنین در زمانی که افزایش تولید شیر وجود دارد به خاطر تغییر در تعادل هورمونی، افزایش کیست‌های تخمدانی را خواهیم داشت (۲۱).

ارتباط بین آفلاتوکسین و مشکلات تولید مثلی از قبیل جفت ماندگی، مرده‌زایی، عفونت‌های رحمی و فحلی‌های نامنظم در گاوداری‌ها از نظرآماری معنی‌دار نبوده به جز رابطه بین آفلاتوکسین و جفت ماندگی در گاوداری B که از لحاظ آماری ($P\leq$۰/۰۵) معنی‌دار می‌باشد که می‌تواند ناشی از بالانس منفی انرژی در اثر اختلال در مصرف خوراک، نارسایی هورمونی و التهاب ایجاد شده در اثر توکسین، در جفت باشد (۴). از طرفی نتایج بدست آمده در تحقیق Uriah و همکاران،

www.SID.ir

Archive of SID

اثرات مضر آفلاتوکسین به خصوص آفلاتوکسین B_1 بر روی گنادها و مرگ رویان و تغییر در اندازه رحم و تخمدان و همچنین اختلال در سیکل جنسی و کاهش میزان آبستنی و تولد را توجیه می‌نماید (۹).

میزان آلودگی جیره از لحاظ آفلاتوکسین در بین دو گاوداری نیز مورد بررسی قرار گرفته و اختلاف آماری معنی‌داری در سطح $P\leq ۰/۰۱$ مشاهده گردیده است. این اختلاف احتمالاً ناشی از اجزاء، نوع جیره مصرفی در بین گاوداری‌ها و همچنین محل خریداری، انبار و مدیریت اجزاء جیره می‌باشد، به طوری که مشخص شد اختلاف حاصله بر اثر میزان آلودگی متفاوت در تخم پنبه‌دانه خریداری شده از قم و شمال بوده که بر میزان آلودگی تأثیرگذار می‌باشد. همچنین مدیریت ذخیره سیلو نیز در این رابطه دخیل می باشد که در این دو گاوداری متفاوت بود. با توجه به اختلاف آماری معنی‌دار بین جیره دو گاوداری از لحاظ آفلاتوکسین، به طبع می‌بایستی در میزان آفلاتوکسین شیر که ناشی از آفلاتوکسین جیره است اختلاف وجود داشته باشد که میزان آفلاتوکسین در تانک شیر هر گاوداری علاوه بر بررسی تک تک نمونه ها، تصدیق کننده این اختلاف می باشد.

در کل از تحقیق حاضر نتیجه‌گیری می‌شود که آفلاتوکسین موجود در جیره و شیر ناشی از سوء مدیریت در عمل آوری و مدیریت مواد غذایی می باشد که بر مشکلات تولید مثلی موثر ولی بر کیست های تخمدانی تاثیر گذار نمی باشد. همچنین توصیه می‌گردد جهت ارزیابی میزان آفلاتوکسین، سیستم HPLC روشی دقیق و اختصاصی می باشد که توانایی تشخیص میزان‌های بسیار پایین آفلاتوکسین غیرقابل اندازه گیری توسط دیگر روشها را دارا می باشد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از مدیریت و پرسنل آزمایشگاه فاروق، گاوداری فوده ایی و شیر و گوشت اصفهان بخاطر همکاری و امکانات تجهیزاتی و همچنین از آقای مهندس حمید آذرانی و مهندس فوده‌ایی بخاطر تامین بخشی از هزینه‌های تحـــقیق، سپاسگزاری می‌نمایند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1. Kabar, B., Dobson, A.W., War, I., 2006. Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of Food and Animal Feed: a Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 48 (8), 593 – 619.
2. Whitlow, L.W., Halger, M.W., 2002. Mycotoxin in feeds. Reprinted with permission from Feedstuff; Vol 74, No 28.
3. Zheng, Z., Humphrey, C.W., King, R.S., Richard, J.L., 2005. Validation of an ELISA test kit for the detection of total aflatoxins in grain and grain products by comparison with HPLC. Mycopathologia 159, 255– 263.
4. Özsoy, S., Altunatmaz, K., Horoz, H., Kasikci, G., Alkan, S., Bulal, T., 2005. The relationship between lameness, fertility and aflatoxin in a dairy cattle herd. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science 29, 981 – 986.
5. Gray, S.L., Lackey, B.R., Tate, P.L., Riley, M.B., Camper, N.D., 2004. Mycotoxins in root extracts of American and Asian ginseng bind estrogen receptors α and β. Experimental Biology and Medicine 229, 560 - 568.
6. Herrman, T., Trigo-Stockli, D., 2002. Mycotoxins in feed grains and ingredients MF-2061. Feed manufacturing, Kansas State University, pp. 1-8.
7. Lanyasuna, T.P., Wame, L.W., Musa, H.H., Olowofeso, O., Lokwaleput, I.K., 2005. The Risk of Mycotoxins Contamination of Dairy Feed and Milk on Dairy Farm in Kenya. Pakistan Journal of Nutrition 4 (3), 162– 169.
8. Martins, H.M., Mendes, M.M., Bernardo, F.M., 2007. Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow feed over 10 years in Portugal (1995-2004). Revista Iberoamericana de Micologiá24(1), 69-71.
9. Uriah, N., Ibeh, I., Oluwafemi, F., 2001. A Study on the Impact of Aflatoxin on Human Reproduction. African journal of Reproductive Health 5 (1), 106 – 110.
10. Kalantari, H., Zandmoqadam, H., Abdolahi lorestani, S., 1999. Determination of aflatoxins B1 and M1 in liver by HPLC. Journal of Agriculture Ahwaz University 22(1), 10 (Abstract). (In Persion)
11. Tajkarimi, M., Shojaee Aliabadi, F., SalahNejad, M., 2007. Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk in five regions in Iran. International Journal of Food Microbiology 116 (3), 346 - 349.
12. Xiang, Y., Liu, Y., Lee, M.L., 2006. Ultrahigh pressure liquid chromatography using elevated temperature. Journal of Chromatogr A 1104 (12), 198 – 202.
13. AOAC (Association of Official Analytical Chemist), 2000. Official Methods of Analysis No. 990.33. Association of Official Analytical Chemist Gaithersburg. MD, USA. Natural Toxins 2, 20-22.
14. Charoenpornsook, K., Kavisarasai, P., 2006. Mycotoxins in animal feedstuffs of Thailand KMITL. Science and Technology Journal 6 (1), 25-28.
15. Papp, E., Otta, K.H., Zaray, G., 2002. Mincsovics E. Liquid chromatographic determination of aflatoxins. Micro chemical Journal 73, 39– 46.
16. Shundo, L., Sabino, M., 2006. Aflatoxin M1 in milk by immunoaffinity column cleans up with TLC/HPLC determination. Brazilian Journal of Microbiology 37,164–167.
17. Decastelli, L., Lai, J., Gramaglia, M., 2007. Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004–2005. Food Control 18, 1263–1266.
18. Rosi, P., Borsari, A., Lasi, G., 2007. Aflatoxin M1 in milk: Reliability of the immunoenzymatic assay. International Dairy Journal 17, 429 – 435.
19. Abdellah, Z., Jose, M., Carlos, J., Jordi, M., 2007. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. Food Chemical Toxicology 45, 1– 85.
20. Youngquist, R., Threlfall, S., Walter, R., 2007. Current Therapy in Large Animal Theriogenology. 2nd Revised edition. Elsevier Health Sciences, United States, pp. 379 – 426.
21. Lopez, G.F., Santolaria, P., Yaniz, J., Fenech, M., Lopez, M., 2002. Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. Theriogenology 58 (8), 1623–1632.

www.SID.ir