جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۶۹، شماره ۲، اسفند ۱۳۸۰

آلودگی تعدادی از هیبریدهای ذرت دانه‌ای به افلاتوکسین‌های B_1 و B_2 و قارچ مولد آن در مزرعه

Aflatoxins B_1, B_2 and *Aspergillus flavus* Contamination of Several Maize Hybrids in Field

جمیله طیبی و منصوره میرابوالفتحی
موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی
(تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۸۰ ، تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۰)

چکیده

میزان افلاتوکسین‌های B_1، B_2، G_1، G_2 در ارقام ذرت شامل Ksc 301 ، Ksc 604 ، Ksc 711،647 ، Sc 704 جمع‌آوری شده از جهات شمالی ، جنوبی، شرقی و غربی مزارع ذرت در شرق استان مازندران در سال‌های ۱۳۷۶و ۱۳۷۷ به روش شیمیائی "رومر" همراه با کروماتوگرافی روی لایه نازک بررسی و اندازه‌گیری گردید. میزان افلاتوکسین B_1 اندازه‌گیری شده در رقم Ksc 301 در سال‌های ۷۶ و ۷۷ به‌ترتیب ۲۹/۱۷ppb و ۱۵ ppbبوده است، هم‌چنین در سال ۱۳۷۷ در ارقام Ksc604 ، Ksc647 به‌ترتیب ۱۷/۵ppb و ۳۵ ppb افلاتوکسین B_1 و در نمونه Ksc 647 میزان ۸/۷۵ ppb آفلاتوکسین B_2 نیز اندازه‌گیری گردید.

افلاتوکسین‌های G در نمونه‌های فوق مشاهده نشد. جهت بررسی آلودگی‌های قارچی، نمونه‌ها اکثراً از دانه‌های ذرت تغذیه شده بوسیله لارو حشرات و یا تغییر رنگ یافته انتخاب گردید. رقم Ksc 301 در سال ۱۳۷۶ به میزان ۴۷ درصد به قارچ *Aspergillus flavus* Link آلوده بود و آلودگی در نمونه‌های سال ۱۳۷۷ به‌ترتیب در ارقام Sc 704, Ksc 604, Ksc 647, Ksc 301 به میزان ۴۶، ۴۳، ۱۶ و ۷۰ درصد تعیین گردیدند. این اولین گزارش آلودگی نمونه‌هائی از ذرت به افلاتوکسین در مزرعه ذرت ایران می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ذرت، ارقام، *Aspergillus flavus* مزرعه، افلاتوکسین

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

افلاتوکسین‌ها به‌عنوان متابولیت‌های ثانوی بوسیله دو گونه قارچ *Aspergillus flavus* و *A. parasiticus* تولید میگردند. از نظر ساختمان شیمیایی کلیه آنها دارای هسته کوما رینی می‌باشند که با یک بی فوران ترکیب شده است. علاوه بر آن یا دارای یک حلقه پنتانون (افلاتوکسین گروه B) و یا یک لاکتون ٦ ضلعی (افلاتوکسین گروه G) می‌باشند (Ciegler, 1974). در مورد آلودگی محصولات کشاورزی به آفلاتوکسین در ایران پژوهش‌های چندی درمورد آلودگی پسته به افلاتوکسین و روش‌های شیمیایی‌اندازه‌گیری آن‌بعمل‌آمده است (Ershad, 1973; Mojtehadi *et al.*, 1978,1979,1980; Khashabi and Tayebi, 1980; Tayebi, 1984).

ولی در مورد آلودگی ذرت به آفلاتوکسین بررسی قابل توجه و مستندی در ایران صورت نگرفته است. دانه ذرت بویژه از نظر چربی، پروتئین، کربوهیدرات‌ها و نمک‌های بعضی عناصر به گونه ایست که در دما و رطوبت مناسب محیط بسیار مطلوبی جهت رشد قارچ *Aspergillus* و تولید آفلاتوکسین می‌باشد (Asevedo *et al.*, 1993)

وجود آفلاتوکسین در ذرت از کشورهای ایالات متحده آمریکا (Gorman & Kang, 1991)، آمریکای جنوبی (Asevedo *et al.*, 1993)، آفریقا (Rheeder *et al.*, 1990; Setamou *et al.*, 1997) و هندوستان (Bilgrami *et al.*, 1992) گزارش گردیده است. اگرچه در بعضی سال‌ها میزان آلودگی کم بوده ولی بروز بحران جدی در صادرات ذرت این کشورها را سبب گردیده است. استرس خشکی، درجه حرارت بالا و آسیب ناشی از حشرات از جمله عوامل افزایش آلودگی می‌باشند (Wallin, 1986).

این پژوهش به منظور بررسی آلودگی ذرت به آفلاتوکسین و قارچ مولد آن درمزارع ذرت منطقه شرق مازندران با دمای ۳۸-۱۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی اغلب بیش از ۸۰٪ که محیط مناسبی را برای بیوسنتز آفلاتوکسین فراهم می‌سازد انجام یافت.

روش بررسی

نمونه برداری

ابتدا ارقام Sc704, Ksc711, Ksc 647, Ksc 604, Ksc 301 ذرت در پلات‌های مربع شکل به ابعاد ۵×۵ متر و در چهار تکرار کشت گردید و هرهیبرید در ۵ خط به‌طول ٤ متر و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

در ۱۵ کپه کشت شد. رقم 711 در سال دوم بعلت عدم کاشت آن در ایران حذف گردید. نمونه برداری در اواخر شهریور انجام گرفت و از هر پلات ۱۰ عدد آن بطور تصادفی و از اضلاع شمالی، جنوبی، شرقی و غربی برداشت گردید و به این ترتیب از هر رقم ٤ تکرار که هر تکرار شامل ۱۰ عدد بلال بود حاصل شدکه در نتیجه برای ۵ رقم ذرت در سال ۱۳۷٦ مجموعا" ۲۰ نمونه ۱۰ عددی و برای ٤ رقم در سال ۱۳۷۷ مجموعا" ۱٦ نمونه ۱۰ عددی نمونه برداری گردید.

پس از دانه‌گیری نمونه‌ها، دانه‌ها آسیاب و سپس با الک مناسب (۱٦ مش) الک گردیده و پس از اختلاط کامل پنجاه گرم از آن دقیقا" توزین و جهت اندازه‌گیری افلاتوکسین آماده شد.

تجزیه شیمیایی

عصاره‌گیری از نمونه‌های ذرت و پالایش عصاره‌ها به روش"رومر" (Romer. 1975) انجام گردید و ردیابی آفلاتوکسین در نمونه‌های خالص سازی شده با استفاده از روش کروماتوگرافی روی لایه نازک(Thin Layer Chromatography) انجام شد.

صفحات سیلیکاژل مورد استفاده صفحات سیلیکاژل ٦۰ مرک بدون اندیکاتور فلورسنت، حلال بالا برنده مخلوط کلروفرم: استون (حجمی ۱: ۹) و تانک حلال اشباع بوده‌است.

جهت حذف مواد مزاحم و در واقع یک پالایش تکمیلی صفحات سیلیکاژل پس از نمونه‌گذاری با محلول نمونه و محلول استاندارد، ابتدا در تانک محتوی دی اتیل اتر کاملا" بی آب قرار داده شده و پس از رسیدن اتر به خط نشانه روی صفحه سیلیکاژل، صفحه در محل تاریک خشک و سپس کروماتوگرافی در تانک محتوی حلال بالا برنده ادامه یافته است. پس از آن تحت تابش پرتو ماوراء بنفش با طول موج ۳٦۵ نانومتر و مقایسه با نمونه استاندارد افلاتوکسین‌ها شناسائی، تائید و آنگاه میزان آنها طبق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$A=\frac{S.Y.V}{W.Z}$$

که در آن:

A= مقدار افلاتوکسین در نمونه(ppb)

حجم محلول افلاتوکسین استاندارد همگن با حجم نمونه روی صفحه سیلیکاژل =S (میکرو لیتر)

غلظت افلاتوکسین استاندارد (میلی لیتر/ میکرو گرم)=Y

حجم حلال نهائی برای نمونه (میکرو لیتر)=V

وزن موثر (گرم)=W

حجم نمونه روی صفحه سیلیکاژل (میکرو لیتر)=Z

تائید افلاتوکسین

جهت تائید افلاتوکسین روی صفحه سیلیکاژل از دو روش یکی اسپری صفحه با محلول آبی ۵۰٪ اسید سولفوریک و تغییر رنگ فلورسنت آبی افلاتوکسین به رنگ زرد و نیز از کروماتوگرافی روی لایه نازک در دو بعد استفاده شده است که در هر دو بعد Rf نمونه مساوی Rf افلاتوکسین استاندارد بوده است.

شناسائی قارچ

پس از دانه‌گیری بلال‌ها از هر نمونه ۲۰۰ بذر که اکثراً دارای آسیب ناشی از تغذیه حشرات و یا واجد لکه‌های سفید و تغییر رنگ بودند انتخاب گردید. بذور با استفاده از کلرور جیوه یک در هزار ضد عفونی سطحی شده و پس از شستشو و خشک نمودن، ۱۰۰ عدد بذر روی محیط PDA و یک صد عدد روی کاغذ صافی مرطوب کشت گردید. تشتک‌های پتری حاوی بذور به مدت ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوباسیون و سپس مورد بررسی قارچ شناسی قرار گرفت.

نتیجه و بحث

از مجموع ۲۰ نمونه ذرت مورد بررسی در سال ۷۶ رقم Ksc 301 دارای ۲۹/۱۷ppb آفلاتوکسین B_1 و ۴۷٪ بذوربه قارچ *A.flavus* آلوده بوده‌اند. (جدول ۱) و از مجموع ۱۶ نمونه مورد بررسی در سال ۷۷، ارقام Ksc 301 دارای ۱۵ ppb آفلاتوکسین B_1 و ۴۶٪ آلودگی به قارچ مولد توکسین، رقم Ksc647 دارای ۳۵ ppb آفلاتوکسین B_1 و ۴۳٪ آلودگی قارچی بود. در رقم اخیر آلودگی به آفلاتوکسین B_2 به میزان ۸/۷۵ ppb نیز مشاهده گردید و رقم Ksc 604 دارای ۱۷/۵ ppb افلاتوکسین B_1 و آلودگی قارچ برابر ۱۶٪ بوده است.

جدول ۱، میزان آلودگی پنج رقم ذرت در مزرعه به آفلاتوکسین B_1 و B_2 (ppb) و قارچ *A. flavus* (%) در سال‌های ۷۶ و ۷۷

Table 1. Aflatoxin B_1, B_2 (ppb) and *Aspergillus flavus* (%) contamination of five cutivars of corn in field condition during 1997-1998.

Year	Ksc 301		Ksc 604		Sc704		Ksc 647		Ksc711	
	Af. B_1 ppb	A.fl %	Af. B_1 ppb	A.fl %	Af. B_1 Ppb	A.fl %	Af. B_1 ppb	A.f l. %	Af.B_1 ppb	A.fl. %
1997	29.17	47	ND		ND		ND		ND	
1998	15	46	17.5	16	ND	7	35*	43	ND	

* رقم Ksc 647 دارای ۸/۷۵ ppb افلاتوکسین B_2 نیز بوده است.

- درسال ۱۳۷۷ رقم Ksc711 بعلت عدم توصیه کاشت در ایران کشت نگردید.

ND = None Detected.
Af. = Aflatoxin.
A.fl.= *A. flavus*.

از مجموع نمونه‌های بررسی شده در سال ۱۳۷۶ ، در رقم Ksc 301 آلودگی به آفلاتوکسین و نیز قارچ مولد آن مشاهده گردیده است. در سال ۱۳۷۷ نیز تولید آفلاتوکسین با وجود قارچ مولد آن در نمونه‌های ذرت هم سو می‌باشد، که این مطلب بیوسنتز آفلاتوکسین را در شرایط مطلوب بوسیله قارچ مولد آن کاملا" توجیه می‌نماید. بنابر این با توجه به مقاومت قابل توجه مولکول آفلاتوکسین به تجزیه حرارتی که دمای ۲۶۹-۲۶۸ درجه سلسیوس برای آفلاتوکسین B_1 و ۲۴۵-۲۴۴ درجه سلسیوس برای آفلاتوکسین B_2 می‌باشد (Goldblatt, 1969). از طرف دیگر مشکلات توکسین زدایی علاوه بر هزینه گزاف در اکثر موارد سبب تغییر رنگ، طعم و بوی ماده غذائی می‌گردد. بنا براین بنظر می‌رسد موثرترین روش جهت کنترل آفلاتوکسین ذرت، دستیابی به هیبریدهای مقاوم به قارچ اسپرژیلوس فلاووس و هم چنین جلوگیری از آسیب دیدگی دانه‌های ذرت بوسیله آفات و اقداماتی جهت جلوگیری از رشد قارچ و تولید توکسین می‌باشد (Lillehoj *et al.*, 1979; Scott and Zummo, 1988; Widstrom *et al.*, 1987).

نتایج حاصله از این بررسی نشان میدهد که با توجه به شرایط مزارع ذرت بویژه از نظر دما و رطوبت از اواسط تیرماه (زمان تقریبی خوشه بندی ذرت) تا اواخر شهریور ماه، زمان برداشت رقم دیر کاشت Ksc301 ، رشد قارچ و بیوسنتز آفلاتوکسین کاملا" امکان پذیر بوده و مقادیر آن نیز قابل توجه است.

سپاسگزاری

از همکاری و مساعدت بخش تحقیقات نهال و بذر قراخیل مازندران در نمونه‌برداری ذرت از مزرعه و همچنین تهیه آمار هواشناسی صمیمانه سپاسگزاریم.

نشانی نگارندگان: سرکار خانم مهندس جمیله طیبی، بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، صندوق پستی ۱٤٥٤، تهران. سرکار خانم دکتر منصوره میرابوالفتحی، بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، صندوق پستی ۱٤٥٤، تهران.