

کنترل بیولوژیک آفاتوکسین

سید رضا فانی محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی یزد
محمد مرادی دکترای بیماری شناسی گیاهی

آفاتوکسین ها عموماً توسط دو گونه قارچی مرتبط با هم شامل *flavus Aspergillus* و *parasiticus* A در انواع محصولات مختلف کشاورزی و یا فرآورده های آنها تولید شده و برای سلامتی انسان و دام خطرناک می باشند. از بین روشهای مختلف مورد استفاده برای مدیریت آلودگی محصولات به آفاتوکسین، مناسب ترین و موفق ترین روش کنترل بیولوژیک بوده است. توانایی کنترل آلودگی های آفاتوکسینی توسط میکروارگانیسم های مختلف همچون باکتریها، مخمرها و استرین های قارچی غیرتوکسینزای A. *flavus* مورد آزمایش قرار گرفته است. از بین آنها کاربرد نژادهای غیرتوکسینزای A. *flavus* بیشترین موفقیت مزرعه ای را در کاهش آفاتوکسین در پنبه، بادام زمینی، ذرت و پسته از خود نشان داده است. نژادهای غیرتوکسینزایی که در خاک استفاده شدند همان محل اکولوژیکی را تسخیر می کنند که نژادهای توکسینزا بصورت طبیعی در آن وجود دارند. بنابراین، این نژادها توانایی رقابت و جایگزینی با نژادهای توکسینزا را دارند. در این مقاله پیشرفتهای اخیر در کنترل بیولوژیک آلودگی های آفاتوکسین بررسی می شود.

مقدمه

روش های مختلفی ممکن است برای کنترل آفاتوکسین در محصولات مختلف کشاورزی از جمله پسته مورد استفاده قرار گیرد، که می توان به کنترل بیولوژیک، کنترل زراعی، غربال فیزیکی پسته های آلوده از سالم و کنترل حشراتی که باعث آسیب به پوست سبز می شوند اشاره نمود. از میان آنها، به نظر می رسد کنترل بیولوژیک امید بخش ترین گزینه برای مدیریت آفاتوکسین قبل و بعد از برداشت می باشد.

توانایی عوامل بیوکنترل در کاهش آفاتوکسین

۱. باکتری ها

چندین گونه متفاوت باکتری توانایی بازدارندگی از رشد قارچ اسپرژیلوس و تولید آفاتوکسین را در شرایط آزمایشگاهی از خود نشان داده اند. در اغلب موارد، باکتری ها در شرایط آزمایشگاهی خوب عمل نموده و تولید آفاتوکسین و رشد قارچ را به شدت کاهش می دهند، ولی در باغ و یا مزرعه به دلیل دشواری انتقال سلولهای باکتری به مکانهای آلوده به اسپرژیلوس، این میکروارگانیسم ها نمی توانند از تکثیر قارچ اسپرژیلوس جلوگیری کنند ضمن اینکه شرایط خشک باغی نیز تاثیر آنها را کاهش می دهد.

۲- مخمرها

برخی از مخمرهای ساپروفیت هم به عنوان عوامل امیدوارکننده بیوکنترل اسپرژیلوس مطرح شده اند. این مخمرها نیز همانند باکتری ها، قادر به بازدارندگی مطلوب رشدی در شرایط آزمایشگاهی بودند و برای بررسی تاثیر آنها در کاهش آفاتوکسین نیاز به آزمایشات بیشتری تحت شرایط مزرعه ای است.

۳-نژادهای غیرتوکسینزای اسپرژیلوس

بزرگترین موفقیت تا به امروز در کنترل بیولوژیک آفاتوکسین هم در مرحله قبل از برداشت و هم در مرحله بعد از برداشت، از طریق کاربرد نژادهای غیرتوکسینزای A. *flavus* حاصل شده است. در بسیاری از آزمایشات مزرعه ای، بویژه در مورد بادام زمینی و پنبه، کاهش های قابل توجهی در آلودگی به آفاتوکسین بین ۷۰ تا ۹۰ درصد بدون هیچ گونه ابهام و تناقضی مشاهده شده است و چند سالی است که دو محصول تجاری از نژادهای غیرتوکسینزا توسط آژانس حفاظت محیط زیست ایالات متحده (EPA) به عنوان آفت کش بیولوژیک جهت کنترل آلودگیهای آفاتوکسینی در پنبه و بادام زمینی در چندین ایالت از آمریکا ثبت شده است. این راهبرد برپایه کاربرد نژادهای غیرتوکسینزا استوار است که با نژادهای توکسینزای طبیعی بر سر استفاده از مواد غذایی میزبان رقابت می کنند. بنابراین برای اینکه نژادهای مفید در رقابت پیروز باشند بایستی در محیطهای کشاورزی و در زمانی که محصولات برای آلوده شدن با نژادهای توکسینزا حساس هستند، از نظر جمعیتی غالب باشند. در ایالات متحده استفاده از نژاد ۳۶AF به عنوان یک عامل مفید در کاهش آفاتوکسین در مزارع پنبه، ذرت، بادام زمینی و باغات پسته استفاده شده و نتایج بسیار خوبی به دست آمده است. به طور مثال در مزارع بادام زمینی بعد از برداشت محصول، آلودگی بادام زمینی به آفاتوکسین ۱۰ برابر کاهش نشان داده است و بعد از انبارداری این مقدار

کاهش به ۲۴ برابر رسیده است. این نتایج نشان می‌دهد اثرات کنترل کنندگی نژادهای غیرتوکسین‌زا علاوه بر مزرعه به باغ نیز منتقل می‌شود. نظر به اینکه کاربرد نژادهای غیرتوکسین‌زای اسپرژیلوس موفقیت بزرگی را در کنترل آلودگیهای آفاتوکسینی از خود نشان داده است، مطالعات مشابهی نیز در چندین کشور دیگر انجام شده است. در آفریقا در مزارع ذرت و در استرالیا و چین در مزارع بادام زمینی کاهش آفاتوکسین به میزان بالای ۹۰ درصد مشاهده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد استرین‌های غیرتوکسین‌زا می‌تواند در مناطق مختلف اکولوژیکی-کشاورزی به منظور کنترل آلودگیهای آفاتوکسینی مورد استفاده قرار گیرد. عموماً "برای تولید انبوه نژاد های غیرتوکسین‌زا از بستر های مختلفی همچون دانه گندم و برنج مورد استفاده قرار می‌گیرد. و پس از تولید انبوه آنها را بر روی سطح خاک به نسبت های ۲ تا ۱۰ گرم در متر مربع در زمان های حساس به آلودگی و یا قبل از ان پخش می‌نمایند. این امر موجب تولید اسپور فراوان بر روی دانه های گندم و یا برنج شده و در خاک و یا محل های دیگر پراکنده شده و باعث کاهش آلودگی به آفاتوکسین در محصولات می‌شوند.

نتیجه

بسیاری از موجودات برای تعیین کارایی آنها در کاهش آلودگیهای آفاتوکسینی مورد کاوش قرار گرفته‌اند. موفقیت‌آمیزترین مورد در کنترل بیولوژیک تاکنون، استفاده از نژادهای غیرتوکسین‌زای *flavus A* در خاک است، یعنی مکانی که در رقابت با نژادهای توکسین‌زا، آنها را بصورت طبیعی محروم کرده و از صحنه خارج می‌کنند. برای آنکه ممانعت رقابتی مؤثر باشد، این نژادهای مفید بایستی در مقطع زمانی در محیط کشاورزی غالب باشند که محصولات به آلودگی به استرین‌های توکسین‌زا حساس هستند. بنابراین سه فاکتور اصلی و مقدماتی در کارایی این راهبرد تاثیرگذار است. اولین عامل اینکه نژادهای بیوکنترل به درستی و واقعا علیه نژادهای توکسین‌زا در خاک قابل رقابت باشند. دومین عامل، فرمولاسیون این عوامل بیوکنترل است که بایستی توانایی انتقال و پخش کردن کنیدیهای عوامل بیوکنترل را به شکل مؤثر در خاک داشته باشند. تنظیم زمان مناسب در استفاده از عوامل بیوکنترل نیز اهمیت زیادی دارد به گونه ای که نژادهای غیرتوکسین‌زا در زمان حساسیت محصول به آلودگی، به سطوح بالای جمعیتی برسند.

با توجه به موفقیت‌آمیز بودن کاربرد نژادهای غیرتوکسین‌زا در مدیریت آفاتوکسین در محصولات مختلف و شرایط اقلیمی متفاوت و با عنایت به اینکه آلودگی به آفاتوکسین یکی از مهم‌ترین دغدغه‌های صادرات و امنیت غذایی پسته در کشور محسوب می‌گردد، استفاده از این روش مورد توجه محققین کشور نیز قرار گرفت و برای مطالعه اولیه، طرح‌های تحقیقاتی به این منظور تعریف و با حمایت وزارت جهاد کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان یزد آغاز گردید. به طور کلی، نمونه برداری از میوه و خاک باغات پسته با همکاری محققان همکار در استان‌های کرمان، خراسان رضوی، سمنان، قم، اصفهان، یزد و مرکزی آغاز گردید و بیش از ۲۰۰ نمونه به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه برای جداسازی با استفاده از محیط‌های کشت عمومی و اختصاصی، خالص‌سازی و تعیین ویژگی‌های قارچ‌های به دست آمده با استفاده از روش‌های کشتی و آنالیز دستگاهی، آزمون‌های متعددی با دقت بالا انجام گرفت.

در طی این آزمایشات بیش از ۵۰۰ جدایه قارچی به دست آمد که بعد از غربال نمودن این جدایه‌ها بیش از ۶۰ نژاد غیرتوکسین‌زا به دست آمد و غیرتوکسین‌زایی آنها با روش‌های تجزیه دستگاهی دقیق از جمله HPLC مورد تایید قرار گرفت.

این جدایه‌ها برای آزمایش‌های بیشتر و توانایی کنترل آفاتوکسین انتخاب شده و در آزمایشات اولیه مورد استفاده قرار گرفتند. در آزمایش‌های اولیه و بررسی توانایی کاهش آفاتوکسین در شرایط آزمایشگاهی، این جدایه‌ها با یک جدایه توکسین‌زای قوی مخلوط شده و توان بازدارندگی از تولید توکسین توسط ۶۰ نژاد غیرتوکسین‌زا مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج به دست آمده امیدوارکننده بوده و نشان‌دهنده توان بالقوه این جدایه‌ها در کنترل آفاتوکسین می‌باشد. آزمایشات تکمیلی در حال انجام بوده و برای آزمایش‌های مزرعه‌ای نیز برنامه‌هایی در نظر گرفته شده که در آینده به انجام خواهد رسید. حمایت کامل دستگاه‌های دولتی و ارگان‌های خصوصی در این راستا می‌تواند به تسریع امر و عملی شدن این روش در باغات پسته کشور در آینده نزدیک کمک فراوانی نماید.

- Abbas, H.K., Zablotowicz, R.M., Bruns, H.A., Abel, C.A., ٢٠٠٩. Biocontrol of aflatoxin in corn by inoculation with non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* isolates. *Biocontrol Sci. Technol.*, ١٩(٥):٤٣٧–٤٤٩.
- Bhatnagar, D., Cary, J.W., Ehrlich, K., Yu, J., Cleveland, T.E., ٢٠٠٩. Understanding the genetics of regulation of aflatoxin production and *Aspergillus flavus* development. *Mycopathologia*, ١٩٢(٣):١٥٥–١٩٩.
- Brown, R.L., Cotty, P.J., Cleveland, T.E., ١٩٩١. Reduction in aflatoxin content of maize by atoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. *J. Food Prot.*, ٥٤(٨):٩٢٣–٩٢٩.
- Cardwell, K.F., Henry, S.H., ٢٠٠٤. Risk of exposure to and mitigation of effect of aflatoxin on human health: a West African example. *J. Toxicol. Toxin Rev.*, ٢٣(٢&٣):٢١٧–٢٤٧.
- Chang, P.K., ٢٠٠٣. The *Aspergillus parasiticus* protein aflJ interacts with the aflatoxin pathway-specific regulator aflR. *Mol. Gen. Genomics*, ٢٦٨(٩):٧١١–٧١٩.
- Cotty, P.J., ١٩٨٩. Virulence and cultural characteristics of two *Aspergillus flavus* strains pathogenic on cotton. *Phytopathology*, ٧٩(٧):٨٠٨–٨١٤. [doi:١٠.١٠٩٤/Phyto-٧٩-٨٠٨] Cotty, P.J., ١٩٩٠. Effect of atoxigenic strains of *Aspergillus flavus* on aflatoxin contamination of developing cottonseed. *Plant Dis.*, ٧٤(٣):٢٣٣–٢٣٥.
- Cotty, P.J., ١٩٩٤. Influence of field application of an atoxigenic strain of *Aspergillus flavus* on the populations of *A. flavus* infecting cotton bolls and on the aflatoxin content of cottonseed. *Phytopathology*, ٨٤(١١):١٢٧٠–١٢٧٧.
- Criseo, G., Racco, C., Romeo, O., ٢٠٠٨. High genetic variability in non-aflatoxigenic *A. flavus* strains by using Quadruplex. *Int. J. Food Microbiol.*, ١٢٥(٣):٣٤١–٣٤٣.
- Dorner, J.W., ٢٠٠٤. Biological control of aflatoxin contamination of crops. *J. Toxicol. Toxin Rev.*, ٢٣(٢&٣):٤٢٥–٤٥٠.

Dorner, J.W., 2008. Management and prevention of mycotoxins in peanuts. *Food Addit. Contam.*, 25(2):203–208.

Dorner, J.W., Cole, R.J., Blankenship, P.D., 1992. Use of a biocompetitive agent to control preharvest aflatoxin in drought stressed peanuts. *J. Food Prot.*, 55(11):888–892.

Dorner, J.W., Cole, R.J., Blankenship, P., 1998. Effect of inoculum agents on preharvest aflatoxin contamination of peanuts. *Biol. Control*, 12(3):171–176.

Ehrlich, K.C., Cotty, P.J., 2004. An isolate *Aspergillus flavus* used to reduce aflatoxin contamination in cottonseed has a defective polyketide synthase gene. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 65(4):473–478.

Pitt, J.I., Hocking, A.D., 2006. Mycotoxins in Australia: biocontrol of aflatoxin in peanuts. *Mycopathologia*, 162(3): 233–243.

Yin, Y., Yan, L., Jiang, J., Ma, Z., 2008. Biological control of aflatoxin contamination of crops, Journal of Zhejiang University SCIENCE B, 9(10): 787-792.