

استفاده از کیت تشخیصی جهت پیشگیری از ایجاد مسمویت سیانیدی در دام‌ها

• مهدی امیرصادقی (نویسنده مسئول)

استادیار، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۴ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۴

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۲۶۳۴۲۵۶۰۰۱

Email: m.amirsadeghi@areeo.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ AASRJ.2024.367943.1305

چکیده

استفاده از سورگوم علوفه‌ای به عنوان جایگزین مناسب ذرت با مصرف آب کمتر مورد اقبال بخش کشاورزی و دامداری قرار گرفته است؛ اما در کنار آن نگرانی‌های از جهت احتمال مسمویت دام‌ها با اسید پروسیک نیز وجود دارد. اسید پروسیک به عنوان یک ماده سمی شناخته می‌شود و در غلظت‌های بالا می‌تواند منجر به مرگ دام و ایجاد هزینه‌های سنگین اقتصادی برای دامداران شود. بنابراین، تعیین میزان اسید پروسیک قبل از مصرف این علوفه در جیره دام‌ها ضروری است. "روش معمول برای تعیین اسید پروسیک، انتقال گیاه از مزرعه به آزمایشگاه و تعیین مقدار اسید پروسیک با روش‌های استاندارد است که نه تنها همیشه این امکانات در دسترس نیستند بلکه فرایندی زمان‌بر و پرهزینه است. با توجه به اینکه اثر سمیت اسید پروسیک در زمان کوتاهی نمایان می‌شود و می‌تواند در کمتر از چند ساعت دام را زمین‌گیر یا تلف کند، نیاز به یک روش تشخیصی سریع و ساده که بتواند در اختیار بهره‌برداران قرار گیرد، احساس می‌شود. به این منظور، کیت تشخیصی لازم برای شناسایی اسید پروسیک در مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور تهیه گردید و عملکرد آن برای نمونه‌های آزمایشگاهی و مزرعه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. این کیت قابلیت استفاده آسان در مزرعه و دامداری بدون نیاز به تجهیزات خاص را داراست علاوه بر این کیت موجود قادر است در کارهای آزمایشگاهی مقدار عددی غلظت اسید پروسیک را نیز مشخص کند که برای محققین این حوزه کاربرد دارد.

واژه‌های کلیدی: اسید پروسیک، سورگوم، مسمومیت، کیت تشخیصی

بیان مسئله

در سال‌های اخیر مشکلات مربوط به تغییر اقلیم، اثرات خود را در کشور ما در حوزه‌های مختلف و به خصوص در بخش کشاورزی و دامپروری آشکارتر کرده است و نیاز به راه حل‌های مقابله با این تهدید به یک نیاز ضروری برای حفظ تولید تبدیل شده است. از سوی دیگر افزایش جمعیت انسانی کشور فشار زیادی بر زیرساخت‌های منابع طبیعی و کشاورزی وارد می‌کند. در این شرایط استفاده بهینه از آب و جایگزین کردن گیاهان و علوفه‌های کم‌آب‌بر به عنوان یک سیاست اصولی جهت فائق آمدن بر مشکلات در دستور کار وزارت جهاد کشاورزی قرار گرفته است. از جمله مهم‌ترین گیاهان زراعی که در صنعت دامپروری به کار می‌روند، یونجه و ذرت هستند. با این حال، تولید این محصولات به منابع آبی قابل توجهی نیاز دارد. در میان علوفه‌هایی که نیاز آبی کمتری دارند و می‌توانند به عنوان جایگزینی برای ذرت عمل کنند، سورگوم اهمیت ویژه‌ای یافته است. سورگوم به عنوان پنجمین گیاه زراعی در سطح جهانی برای تولید علوفه و دانه شناخته می‌شود. مزایای کشت سورگوم شامل مصرف بهینه آب است؛ این گیاه نسبت به ذرت، چهار برابر در مصرف آب اقتصادی‌تر عمل می‌کند و همچنین قادر است ماده خشک بیشتری تولید کند. در شرایط مناسب، سورگوم قابلیت برداشت دو یا حتی سه چین را در یک دوره کشت دارد. (Getachew et al., 2016). سورگوم علوفه‌ای در ۲ یا ۳ چین حدود ۱۱۰ تا ۱۳۰ تن در هکتار علوفه‌ی تر تولید می‌کند که ۲۵ تا ۳۰ درصد این مقدار ماده خشک است (کاویان و همکاران ۱۳۹۸).

در کنار تمام مزیت‌های که گیاه سورگوم دارد، به دلیل احتمال تشکیل غلظت‌های بالای اسید پروسیک در گیاه و در پی آن مسمومیت و تلف شدن دام در اثر مصرف مقدار بالای آن، می‌تواند خسارت سنگین اقتصادی به دامداران تحمیل کند (Al-Beiruty et al., 2020).

اگر چه ادعا شده است که ارقام جدید معرفی شده سورگوم دارای مقادیر کم‌خطر اسید پروسیک هستند، اما شرایط حاد و تنش‌زای محیطی می‌تواند مقدار اسید پروسیک را در این گیاه بالا ببرد. از

جمله این شرایط نامساعد می‌توان به سرمازدگی، بی‌آبی طولانی، آفت‌زدگی، ژنوتیپ گیاه، میزان عمر گیاه، میزان مصرف کودهای نیتروژن، فسفر و گوگرد، دما و نور، و برداشت زودهنگام سورگوم علوفه‌ای اشاره کرد که سبب افزایش چشم‌گیر میزان اسید پروسیک در این گیاه می‌شود (Wheeler et al., 1990). بنابراین باز هم اطلاع از وجود این ماده و مقدار حدودی آن در علوفه تحت تنش اهمیت خود را دارد.

روش‌های دقیق اندازه‌گیری اسید پروسیک شامل روش‌های آزمایشگاهی پیشرفته هستند که علاوه بر هزینه و امکانات خاص، زمان‌بر نیز هستند و عملاً برای کشاورز یا دامدار که تصمیم به استفاده از علوفه سورگوم در تغذیه دام خود را دارد، کاربردی نیستند. بنابراین نیاز به یک روش ساده، نسبتاً دقیق و ارزان برای تعیین اسید پروسیک موجود در علوفه سورگوم ضروری به نظر می‌رسد.

معرفی دستاورد

یون سیانید در تعداد زیادی از محصولات باغی و کشاورزی مانند انواع هسته‌های سیب، هلو، زردآلو، گیلان، بادام تلخ و ریشه کازاوا و برگ سورگوم یافت می‌شود، با این حال، لازم به ذکر است که بسیاری از این محصولات به عنوان علوفه برای دام‌ها مورد استفاده قرار نمی‌گیرند و یا مقادیر یون سیانید موجود در آن‌ها به حدی اندک است که هیچ خطری برای سلامتی دام‌ها ایجاد نمی‌کند.

سورگوم، گیاهی است که در سال‌های اخیر شاهد توسعه کشت و مصرف آن بوده‌ایم. این گیاه به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد خود، از جمله مصرف کم آب و مقاومت در برابر شرایط تنش‌زا، به عنوان یکی از علوفه‌های مورد ترویج در برنامه‌های جهاد کشاورزی شناخته می‌شود. از جمله محدودیت‌های استفاده از سورگوم احتمال حضور مواد ضد تغذیه‌ای مانند اسید پروسیک در آن است که بعضی از ارقام ممکن است به حدی بالا باشد که سبب ایجاد مشکل برای دام‌های مصرف‌کننده گردد (Haskins

(et al., 1988; Singh et al., 2017).

اثرات مسمومیت زایی آن نیز افزایش می یابد. در جدول شماره ۱، تاثیر مقادیر مختلف اسید پروسیک موجود در علوفه بر سلامتی دام، نشان داده شده است (Patel et al., 2013).

غلظت های مختلف اسید پروسیک در علوفه بر روی دام اثرات مختلفی دارند و به طور عادی با افزایش غلظت اسید پروسیک،

جدول شماره ۱: اثر سطوح مختلف اسید پروسیک در علوفه بر سلامتی دام

سطح خطر و اثر بر دام	میزان اسید پروسیک (میلی گرم در کیلوگرم)	
	در ماده خشک	در علوفه تازه
علوفه به طور عمومی بی خطر است و ایجاد مسمومیت نخواهد کرد.	۰-۵۰۰	۰-۱۰۰
بالقوه سمی محسوب می شود و علوفه باید به صورت محدود در جیره استفاده شود.	۵۰۰-۱۰۰۰	۱۰۰-۲۰۰
برای دام بسیار خطرناک است و معمولاً منجر به مرگ می شود. خشک کردن، سیلو کردن یا زمان دادن به علوفه تا رسیدن به بلوغ کامل می تواند غلظت اسید پروسیک را کاهش دهد. قبل از استفاده در جیره باید مورد آزمایش مجدد قرار گیرد.	>۱۰۰۰	>۲۰۰

پروسیک ارائه کند. بهترین گزینه، کیت تشخیصی اسید پروسیک است.

مقادیر بیش از دو میلی گرم سیانید به ازاء یک کیلوگرم وزن دام زنده، سبب تلف شدن دام در مدت کوتاهی می شود (Al-Beiruty et al., 2020) و با توجه به این که عمده مصرف سورگوم در تغذیه دام و به خصوص دام های سنگین است، بنابراین بی احتیاطی در این مورد و استفاده از سورگومی که بیش از حد مجاز سیانید داشته باشد، سبب وارد شدن خسارت سنگین به دامدار خواهد شد؛ در صورتی که با استفاده از کیت تشخیصی و با یک آزمون ساده، میتوان سمی بودن گیاه را تعیین و از روش های بازدارنده مناسب استفاده کرد.

کیت های تشخیصی لوازمی هستند که یک یا چند نوع واکنشگر اختصاصی بر روی آنها به گونه ای طراحی شده است که میتوانند جواب های مشابه به شرایط آزمایشگاهی را با سهولت بیشتر و صرف زمان و هزینه کمتر ارائه دهند.

یکی از انواع کیت های تهیه شده، کیت های کاغذی هستند که سطح کاغذ با یک یا چند ماده شیمیایی آغشته شده است و در مواجهه با ماده هدف، تغییر رنگ می دهند. از معروف ترین کیت های کاغذی میتوان به کاغذ های تعیین pH اشاره کرد که در محدوده های مختلف اسیدی یا بازی رنگ متفاوت ایجاد می کنند.

کیت کاغذی در آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور با

سیانید در بدن دام مستقیماً وارد جریان خون می شود و با آنزیم های داخل سلولی پیوند برقرار می کند. این پیوند ایجاد شده از نقل و انتقال اکسیژن به سلول ممانعت به عمل می آورند که در نتیجه حیوان در اثر خفگی ناشی از کمبود اکسیژن تلف می شود (Neilson et al., 2015).

معمولاً دامداران سنتی و صنعتی و کشاورزان و فلاحت پیشگان، دانش تخصصی در حوزه سم شناسی، شیمی، زیست شناسی و دام پزشکی ندارند و امکانات تخصصی آزمایشگاهی نیز به سهولت در اختیار ندارند که بتوانند امکان مسمومیت با اسید پروسیک را تعیین کرده و از بروز آن جلوگیری کنند و یا در صورت مسمومیت نسبت به درمان آن اقدام کنند، بنابراین استفاده از روشی که به سهولت قابل استفاده و آموزش باشد، مقبولیت زیادی خواهد داشت.

روش های مختلفی برای اندازه گیری سیانید وجود دارد که میتوان به روش های گاز کروماتوگرافی (G.C) و روش های رنگ سنجی (اسپکتروفوتومتری) اشاره کرد که علاوه بر هزینه بر بودن، زمان زیادی از لحظه برداشت گیاه تا انتقال آن به آزمایشگاه و انجام آزمایش و دریافت جواب صرف می شود که در صورت بالا بودن مقدار اسید پروسیک برای دام مسموم شده و دامدار دیگر سودی نخواهد داشت. بنابراین به یک ابزار کاربردی نیاز است که بتواند در محل و به سرعت جواب قابل اطمینانی در مورد حضور اسید

شرایط برداشت (رشد کامل گیاه، نداشتن تنش خشکی - سرمازدگی - آفت و ...) دارای اسید پروسیک نبودند.

به دست آمدن عدد صفر برای نمونه ها کاملاً منطقی است زیرا پدیده سیانوژنسیس یکی از مکانیزم های دفاعی گیاه محسوب میشود که فقط در شرایط خاص از قبیل هجوم آفت ها، تنش خشکی، سرمازدگی در گیاه ایجاد می شود و در صورتی که گیاه در شرایط معمولی رشد کرده باشد، این پدیده نیز اتفاق نخواهد افتاد و میزان تولید اسید پروسیک در گیاه در حد صفر می شود.

به طور کلی میتوان دستاوردهای تحقیق را در دو مورد خلاصه کرد: الف) استفاده از کیت جهت تعیین سمیت علوفه سورگوم در مزرعه به صورت کیفی:

با توجه به تغییر رنگ ایجاد شده و تفاوت قابل تشخیص آن با چشم در غلظت های مختلف اسید پروسیک، میتوان از کیت تهیه شده در مزرعه جهت تشخیص میزان سمیت احتمالی علوفه سورگوم استفاده کرد. میتوان میزان تغییر رنگ از رنگ زرد - به نارنجی - به نارنجی پر رنگ - و به قرمز آجری را به ترتیب به چهار دسته کاملاً بیخطر (۰) - کم خطر (+) - خطرناک (++) و کاملاً خطرناک (+++) تقسیم بندی نمود. (تصویر ۱) این تقسیم بندی به خصوص برای استفاده در جامعه هدف دامدار روستایی و عشایری، میتواند به صورت ساده مورد آموزش و استفاده قرار گیرد.

استفاده از مواد شیمیایی مناسب تهیه شد و کاربرد آن در حضور محلول های استاندارد اسید پروسیک بررسی شد. مشاهده شد که در محدوده غلظت های کمتر از ۶۰ میلی گرم در لیتر محلول استاندارد نمودار کاملاً خطی است و در غلظت های بالاتر از آن نمودار تقریباً به حالت خط صاف تبدیل می شود. (لازم به ذکر است که کارکردن با محلول اسید پروسیک یا همان اسید سیانیدریک بسیار خطرناک است و نیاز به تجهیزات ایمنی و دقت عمل بالایی دارد و مقادیر کم از بخارات اسید پروسیک میتواند خطر مرگ به همراه داشته باشد). همچنین این کیت ها جهت تعیین اسید پروسیک در نمونه های حقیقی نیز مورد استفاده قرار گرفت.

نمونه حقیقی (نمونه سورگوم دانشکده کشاورزی - دانشگاه تهران) به دو صورت خشک و تر مورد بررسی قرار گرفت. در نمونه های تر، بعد از گذشت ۴۰ ساعت مغایرت رنگ قابل تشخیص با چشم در نمونه اصلی با نمونه شاهد (ظرف بدون نمونه سورگوم) مشاهده نشد. دلیل مشاهده نشدن تفاوت رنگ در این است که میزان اسید پروسیک موجود در برگ گیاه سورگوم، بسیار پایین است و نمیتواند غلظت لازم برای تغییر رنگ کیت کاغذی را فراهم آورد. در روش آزمایشگاهی تعیین مقدار اسید پروسیک، این مطلب ثابت شد و برای نمونه ها میزان اسید پروسیک نمونه ها نزدیک به مقدار صفر به دست آمد.

به صورت مشابه برای نمونه های خشک نیز مقدار قابل اندازه گیری از اسید پروسیک حاصل نشد و با اطمینان میتوان گفت که نمونه ها در

			
بی خطر	کم خطر	خطرناک	کاملاً خطرناک
۰	+	++	+++

تصویر ۱ - تغییر در رنگ کیت تشخیصی در غلظت های مختلف اسید پروسیک

سرمازدگی و به خصوص برداشت گیاه در ارتفاع کم وجود داشته باشد، استفاده از کیت تشخیص اسید پروسیک توصیه می‌شود. گزارش شده است که بیشترین مقدار اسید پروسیک در مراحل اولیه رشد گیاه تشکیل می‌شود، که این مورد به خصوص در مورد چین دوم که ممکن است به دلایل تغییر فصل، گیاه در زمان زودتر و در ارتفاع کمتر چیده شود یا به صورت تازه خوری در جیره دام استفاده شود، باید مورد توجه قرار گیرد. جهت کار با کیت تهیه شده باید مقدار حدود ۱۰۰ گرم از برگ گیاه را به قطعات کوچک یک سانتی متری خرد کرده و آن را در کف یک ظرف قرار داد و سپس کیت کاغذی در بالای آن به طوری که با برگ خردشده در تماس نباشد، آویزان کرد (تصویر شماره ۲). بعد از بستن در ظرف به مدت ۶ تا ۸ ساعت، در صورت مشاهده تغییر رنگ کیت کاغذی به سمت قرمز آجری باید دانست که غلظت اسید پروسیک در گیاه بالا است و در مورد میزان مصرف سورگوم در جیره دام مدیریت لازم را انجام داد (خارج کردن دام‌ها از مزرعه سورگوم، قطع مصرف سورگوم توسط گله و یا استفاده از سورگوم در مقدار کم و مخلوط با سایر علوفه‌ها). همچنین لازم به ذکر است که سیلو کردن سورگوم علوفه‌ای، در کاهش اسید پروسیک آن بسیار مؤثر است و اغلب سیلوهای سورگوم تهیه شده، فاقد اسید پروسیک بوده و استفاده از آن خطری را متوجه دام نمی‌کند.

ب) استفاده از کیت جهت تعیین سمیت علوفه سورگوم در آزمایشگاه به صورت کمی:

از آنجایی که منحنی تغییرات میزان جذب اسید پروسیک بر روی کیت کاغذی تا غلظت‌های نزدیک به ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم خطی است، بنابراین میتوان از کیت تهیه شده، جهت تعیین مقدار اسید پروسیک در نمونه‌ها به صورت عددی نیز استفاده کرد. این روش به خصوص برای آزمایشگاه‌های که از امکانات و تجهیزات فنی کمتری برخوردارند، قابل استفاده است و دشواری‌هایی که سایر روش‌های تعیین مقدار اسید پروسیک به همراه دارند (مانند روش‌های کروماتوگرافی یا روش‌های یون سنجی) را ندارد و فقط به استفاده از کیت کاغذی و دستگاه اسپکترفوتومتر میتوان مقدار اسید پروسیک یک نمونه را با دقت قابل قبول اندازه‌گیری کرد. اسید پروسیک جذب شده بر روی کیت با استفاده از حجم معینی آب شستشو شده و شدت رنگ محلول آبی توسط دستگاه اسپکترفوتومتر اندازه‌گیری می‌شود و با استفاده از منحنی کالیبراسیون مقدار عددی اسید پروسیک تعیین می‌گردد.

توصیه ترویجی

اگر گیاه سورگوم در شرایط عادی رشد کند و در مرحله‌ای که رشد گیاه کامل است (مرحله دانه خمیری) برداشت شود، انتظار ایجاد مسمومیت با پروسیک اسید در آن بسیار پایین است اما اگر شرایط ایجاد تنش در گیاه وجود داشته باشد، مانند بی‌آبی طولانی، آفت زدگی، استفاده بیش از اندازه از کود و سموم شیمیایی،



تصویر شماره ۲- استفاده از کیت برای نمونه تر سورگوم علوفه‌ای

منابع

- shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time. *J. Exp. Bot.* 66, 1817–1832. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru526>
- Patel, P.A.S., Alagundagi, S.C., Salakinkop, S.R., 2013. The anti-nutritional factors in forages - A review. *Curr. Biot.* 6, 516–526.
- Singh, S., Bhat, B.V., Shukla, G.P., Gaharana, D., Anele, U.Y., 2017. Nutritional evaluation of different varieties of sorghum stovers in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 227, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.03.011>
- Wheeler, J.L., Mulcahy, C., Walcott, J.J., Rapp, G.G., 1990. Factors affecting the hydrogen cyanide potential of forage sorghum. *Aust. J. Agric. Res.* 41, 1093–1100. <https://doi.org/10.1071/AR9901093>
- کاویان، ع. کمالی، ر. یوسفی کلاریکلایی، ک. نوبری، ک. (۱۳۹۸) بررسی عملکرد، ترکیب شیمیایی و قابلیت هضم برون تنی سیلاژینج رقم سورگوم علوفه‌ای در استان گلستان. نشریه علوم دامی-شماره ۱۲۵-صفحات ۱۴۵-۱۵۴
- Al-Beiruty, R.Z.A., Cheyed, S.H., Hashim, M.H., 2020. Hazards of toxic hydrocyanic acid (HCN) in sorghum and ways to control it: A review. *Plant Arch.* 20, 2726–2731.
- Getachew, G., Putnam, D.H., De Ben, C.M., De Peters, E.J., 2016. Potential of Sorghum as an Alternative to Corn Forage. *Am. J. Plant Sci.* 07, 1106–1121. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.77106>
- Haskins, F.A., Gorz, H.J., Hill, R.M., 1988. Forage potential of sorghum and pearl millet. *J. Agric. Food Chem.* 36, 775–778.
- Neilson, E.H., Edwards, A.M., Blomstedt, C.K., Berger, B., Møller, B.L., Gleadow, R.M., 2015. Utilization of a high-throughput