



تولیات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

صفحه‌های ۱۴۰-۱۳۱

تأثیر افزودن پروبیوتیک پروتکسین به جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین بر عملکرد بلدرچین ژاپنی

مجید آفتابی^۱، فرزاد باقرزاده کاسمانی^{۲*}، قاسم جلیوند^۳، مهران مهری^۲، محمدمیر کریمی ترشیزی^۲

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۲. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۳. استادیار، گروه علوم طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۲/۰۵

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۰۹/۲۴

چکیده

تأثیر پروتکسین در کاهش تأثیرات منفی تغذیه جیره‌های حاوی آفلاتوکسین B₁ بر عملکرد، پاسخ ایمنی، کیفیت گوشت و فلور میکروبی ایلئوم با استفاده از ۳۲۰ قطعه بلدرچین ژاپنی هفت‌روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار (جیره شاهد (بدون افزودنی)، جیره حاوی ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B₁، جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروتکسین، جیره حاوی ۲/۵ میلی‌گرم آفلاتوکسین B₁+۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروتکسین)، چهار تکرار و ۲۰ پرنده در هر تکرار بررسی شد. مصرف خوراک در پرندگانی که با جیره حاوی پروبیوتیک تغذیه شدند، بالاتر از پرندگان گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). افزایش وزن پرندگانی که جیره حاوی آفلاتوکسین دریافت کردند، کمتر از پرندگان تیمارهای دیگر بود (P<۰/۰۵). پاسخ ایمنی هومورال در بلدرچین‌های گروه آفلاتوکسین و پروبیوتیک به ترتیب کمتر و بیشتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). ضخامت پوست ۴۸ ساعت پس از چالش با دی‌نیتروکلروبنزن در پرندگان تغذیه‌شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین کمتر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). غلظت مالون‌دی‌آلدئید (۳۰ روز بعد از انجماد) در گوشت پرندگانی که با جیره آلوده به آفلاتوکسین تغذیه شدند، بیشتر از سایر پرندگان بود (P<۰/۰۵). جمعیت اشریشیاکلی و باکتری‌های اسیدلاکتیک در پرندگانی که با جیره حاوی پروتکسین و یا آفلاتوکسین+پروتکسین تغذیه شدند، از دو گروه دیگر به ترتیب کمتر و بیشتر بود (P<۰/۰۵). براساس نتایج پژوهش حاضر، افزودن پروبیوتیک پروتکسین به جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین B₁ موجب بهبود پاسخ ایمنی و جمعیت میکروبی روده در بلدرچین ژاپنی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: آفلاتوکسیکوزیس، ایمنی، بلدرچین ژاپنی، پروبیوتیک، مالون‌دی‌آلدئید.

مقدمه

آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* هستند. برای پیش‌گیری از تأثیر آفلاتوکسین‌ها ابتدا باید تولید آنها را در مواد خوراکی مهار کرد و در صورت عدم موفقیت، جذب آنها را در دستگاه گوارش طیور کاهش داد. توانایی میکروارگانیسم‌ها، به‌خصوص باکتری‌ها، برای تجزیه آفلاتوکسین‌ها و یا کاهش جذب آنها در دستگاه گوارش مطالعه شده است (۱). از میان باکتری‌ها، باکتری‌های اسیدلاکتیک برای کاهش قابلیت دسترسی آفلاتوکسین‌ها مناسب تشخیص داده شده است (۱۳).

پروبیوتیک‌ها افزودنی‌های خوراک حاوی میکروارگانیسم‌های زنده طبیعی غیربیماری‌زا و غیرسمی هستند که در صورت مصرف از طریق بهبود سلامت کانال گوارش، سلامت عمومی میزبان را تقویت می‌کنند. تأثیر مفید پروبیوتیک‌ها بر بهبود عملکرد، تقویت سیستم ایمنی، تعادل فلور میکروبی روده، خواص آنتی‌اکسیدانی و آفلاتوکسین‌زدایی آنها در خوراک طیور گزارش شده است (۱ و ۲۰). پلی‌ساکاریدها و پپتیدوگلیکان‌های دیواره سلولی باکتری‌های موجود در پروبیوتیک توانایی اتصال به آفلاتوکسین B_1 را دارند (۹).

گزارش‌های اندکی در زمینه تأثیر پروبیوتیک‌ها بر خنثی‌سازی آفلاتوکسین‌ها و تعدیل تأثیرات منفی آنها در طیور وجود دارد. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر پروبیوتیک پروتکسین بر عملکرد، پاسخ ایمنی، فلور میکروبی ایلئوم و کیفیت گوشت در بلدرچین‌های ژاپنی تغذیه‌شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی هفت‌روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی، چهار تیمار شامل جیره شاهد (بدون

افزودنی)، جیره حاوی ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 ، جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروتکسین و جیره حاوی ۲/۵ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 + ۱۵۰ میلی‌گرم پروتکسین را در چهار تکرار و ۲۰ پرند در هر تکرار دریافت کردند. جیره پایه براساس احتیاجات توصیه‌شده برای بلدرچین ژاپنی (۱۴) تنظیم شد (جدول ۱). در طول دوره آزمایش، شرایط محیطی برای همه گروه‌های آزمایشی یکسان بود و پرندگان به‌صورت آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند.

به‌منظور تولید آفلاتوکسین B_1 از یک ویال استاندارد *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* PTCC-5286 (تهیه‌شده از گنجینه میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) استفاده شد. اسیدیته نهایی این محیط در حد ۵/۶ تنظیم شد. سپس این محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱۵ اینچ بر مترمربع در داخل اتوکلاو استریل شد. سوپه قارچ فوق روی محیط کشت سابوردکستروز آگار کشت داده شد و به مدت پنج روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شد. در مرحله بعد کونیدی‌های قارچی از سطح پرگنه‌ها جدا و به لوله‌های آزمایش منتقل شدند. به هر یک از لوله‌های محیط کشت حاوی اسپور قارچ، مقداری آب مقطر استریل به همراه چند قطره Tween-20 اضافه شد و پس از تهیه سوسپانسیون یکنواخت اسپور قارچ، میزان اسپور موجود در هر میلی‌لیتر آب مقطر با لام هموسایتومتر شمارش شد. به‌منظور تولید انبوه قارچ و افزایش میزان سم از فلاسک‌های یک لیتری استفاده شد. به این ترتیب که در هر فلاسک مقدار ۱۵۰ گرم برنج به همراه ۱۵۰ میلی‌لیتر آب ریخته و به‌خوبی مخلوط شد. فلاسک‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱۵ اینچ بر مترمربع اتوکلاو و سپس خنک شدند.

تولیدات دامی

تأثیر افزودن پروبیوتیک پروتکسین به جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین بر عملکرد بلدرچین ژاپنی

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره پایه

مقدار در جیره (درصد)	مواد خوراکی
۴۷/۹۷	ذرت
۳۵	کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین)
۹/۰۴	گلوتن
۲/۱۸	برنج ^۱
۱/۶۰	روغن گیاهی
۱/۴۴	دی کلسیم فسفات
۱/۲۶	پودر صدف
۰/۳۴	ال-لیزین هیدروکلراید
۰/۳۰	بی کرینات سدیم
۰/۲۵	مکمل ویتامینه ^۲
۰/۲۵	مکمل معدنی ^۳
۰/۱۵	نمک
۰/۱۴	دی-ال-متیونین
۰/۰۸	ال - ترئونین
۱۰۰	جمع
	آنالیز ترکیب شیمیایی
۲۹۵۰	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)
۲۵	پروتئین خام (درصد)
۱/۴۰	لیزین (درصد)
۱/۰۵	متیونین + سیستین (درصد)
۰/۹۰	کلسیم (درصد)
۰/۴۵	فسفر غیر فیتاته (درصد)
۱/۰۰	ترئونین (درصد)
۰/۲۶	تریپتوفان (درصد)
۲۴۰	تعداد کاتیون-آنیون (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم)

۱. در تیمارهای دارای آفلاتوکسین، از برنج آلوده شده به آفلاتوکسین B1 (حاوی ۱۱۴/۶۸ ppm) استفاده شد.

۲. مکمل ویتامینه این موارد را در هر کیلوگرم جیره تأمین کرد: ویتامین A (از vitamin A acetate) ۱۱۵۰۰ IU، کوله کلسیفرول ۲۱۰۰ IU، ویتامین E (از DL- α -tocopheryl acetate) ۲۲ IU، ویتامین B₁₂ ۰/۶۰ mg، ریوفلاوین ۴/۴ mg، نیکوتین آمید ۴۰ mg، کلسیم پنتوتنات ۳۵ mg، منادیون (منادیون دی-متیل پیریمیدینول) ۱/۵۰ mg، فولیک اسید ۰/۸۰ mg، تیامین ۳ mg، پیریدوکسین ۱۰ mg، بیوتین ۱ mg، کولین کلراید ۵۶۰ mg، اتوکسی کوئین ۱۲۵ mg

۳. مکمل معدنی این موارد را در هر کیلوگرم جیره تأمین کرد: منگنز (از MnSO₄·H₂O) ۶۵ mg، روی (از ZnO) ۵۵ mg، آهن (از FeSO₄·7H₂O) ۵۰ mg، مس (از CuSO₄·5H₂O) ۸ mg، ید [از Ca(IO₃)₂·H₂O] ۱/۸ mg، سلنیم ۰/۳۰ mg، کبالت (Co₂O₃) ۰/۲۰ mg، مولیبدن ۰/۱۶ mg

تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند پنج درصد شسته‌شده در بافر فسفات استریل تزریق شد. چهارده روز پس از تزریق، یک میلی‌لیتر خون از طریق ورید بال پرنده‌ها گرفته شد و سرم آن جدا گردید. سرم به‌دست‌آمده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شدند. برای تعیین عیار آنتی‌بادی تولیدشده علیه گلبول قرمز گوسفند از روش هم‌آگلوتیناسیون میکروتیتر استفاده شد (۱۶). واکسن نیوکاسل در ۲۱ روزگی از طریق قطره چشمی تجویز شد. سه هفته بعد از واکسیناسیون از سه قطعه پرنده از هر گروه آزمایشی از طریق ورید بال خون گرفته شد. پس از جداشدن سرم از لخته خون، عیار پادتن تولیدشده علیه ویروس واکسن نیوکاسل با روش ممانعت از آگلوتیناسیون اندازه‌گیری شد (۲۲). در ۴۰ روزگی سه پرنده از هر واحد آزمایشی پس از علامت‌گذاری با رنگ‌های گوناگون، به‌وسیله چالش پوست با ۰/۱ میلی‌لیتر دی‌نیتروکلروبنزن ۰/۱ درصد (حاوی یک میلی‌گرم دی‌نیتروکلروبنزن در میلی‌لیتر مخلوط استون و روغن زیتون با نسبت ۴:۱) چالش داده شدند. در این روش، ناحیه‌ای نسبتاً بدون پر با مساحت تقریبی چهار سانتی‌متر مربع در طرف راست بدن برای چالش با دی‌نیتروکلروبنزن انتخاب شد. به‌منظور بررسی میزان واکنش، ضخامت پوست پیش از چالش و ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از چالش با میکرومتر الکترونیکی با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. میانگین افزایش ضخامت پوست در هر پرنده از اختلاف ضخامت قبل و بعد از هر چالش به‌دست آمد. هر عدد اندازه‌گیری‌شده که میانگینی از سه تکرار از ناحیه مشخص شده بود، به‌عنوان میانگین هر پرنده درون هر واحد آزمایشی در نظر گرفته شد (۲۵).
بررسی تأثیر آفلاتوکسین B₁ و مواد افزودنی بر اکسیداسیون چربی، در سه مرحله انجام شد و در هر مرحله میزان مالون‌دی‌آلدئید در یک گرم از مخلوط گوشت

پس از آن در زیر دستگاه هود در شرایط کاملاً استریل مقدار ۶/۵×۱۰^۶ الی ۷/۵×۱۰^۶ اسپور در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون فارچی به‌داخل فلاسک‌ها تلقیح شد. فلاسک‌ها به‌مدت پنج روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور مجهز به مخلوط‌کن قرار داده شدند. برای جلوگیری از تولید مقادیر بیشتر آفلاتوکسین، ابتدا برنج‌های آلوده در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت در داخل آون خشک و سپس به‌طورکامل آسیاب شدند. برای استخراج آفلاتوکسین، ۱۰ گرم آرد برنج آلوده با ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول ۵۵ درصد در یک ازلن اضافه و روی شیکر کاملاً مخلوط شدند. برای استخراج و حذف چربی موجود در برنج از ۱۰۰ میلی‌لیتر هگزان نرمال استفاده شد. پس از عمل سانتریفوژ در ۲۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت پنج دقیقه، فاز متانولی-آبی به‌آرامی از سایر فازها جدا شد. برای استحصال بهتر آفلاتوکسین برنج، از ۱۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم برای حلالیت بیشتر استفاده شد. فاز کلروفرمی حاوی آفلاتوکسین، برای آب‌گیری و حذف ناخالصی‌های احتمالی، از روی صافی پوشیده‌شده از سولفات سدیم (Na₂SO₄) بدون آب عبور داده شد. سپس فاز کلروفرمی حاوی آفلاتوکسین در دستگاه تبخیر در خلاء به‌آرامی تبخیر شدند و آفلاتوکسین باقیمانده در ته ظرف با مقدار معینی کلروفرم مخلوط گردید و تا زمان سنجش میزان آفلاتوکسین در یخچال نگهداری شد. برای آنالیز کمی و کیفی آفلاتوکسین B₁ از روش کروماتوگرافی لایه‌نازک استفاده شد (۱۹).
در پایان دوره پرورش در ۴۲ روزگی، بعد از اعمال سه ساعت گرسنگی، جوجه‌های هر گروه آزمایشی با ترازوی الکترونیکی توزین شدند. در طول دوره آزمایش تعداد و وزن تلفات و تاریخ تلفات به‌طور دقیق ثبت شد و در تصحیح افزایش وزن ضریب تبدیل استفاده شد.
در سن ۲۸ روزگی در عضله سینه دو پرنده از هر تکرار

تولیدات دامی

نتایج و بحث

مصرف خوراک پرندگانی که با جیره حاوی پروبیوتیک تغذیه شدند از سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0/05$) (جدول ۲). کمترین افزایش وزن در پرندگانی مشاهده شد که با جیره حاوی آفلاتوکسین تغذیه شدند و از این نظر با سایر پرندگان تفاوت داشتند ($P < 0/05$). تفاوتی از نظر افزایش وزن در پرندگانی که جیره حاوی آفلاتوکسین B_1 + پروتکسین دریافت کردند با پرندگان مربوط به تیمار شاهد مشاهده نشد. اثر تیمارهای آزمایشی بر ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار نبود.

از نشانه‌های رایج آفلاتوکسیکوزیس در طیور عملکرد ضعیف و سرعت رشد کم است. نقصان در افزایش وزن به ضرر اقتصادی و افزایش شیوع بیماری‌ها در گله‌های طیور می‌انجامد. میزان افزایش وزن جوجه‌های گوشتی با افزایش سطح آفلاتوکسین جیره کاهش می‌یابد. به ازای هر میلی‌گرم افزایش آفلاتوکسین در هر کیلوگرم جیره جوجه‌های گوشتی، سرعت رشد پنج درصد کاهش می‌یابد (۸). همچنین افزودن پروبیوتیک‌های پروتکسین و فرماکتو به جیره بلدرچین ژاپنی، موجب بهبود عملکرد می‌شود (۲۴). افزایش مصرف خوراک در اثر استفاده از پروبیوتیک‌ها مشاهده شده است (۱۵).

سینه و ران تعیین شد. در مرحله اول و دوم به ترتیب از گوشت تازه و گوشت نگهداری شده به مدت سه روز در یخچال و در مرحله سوم از گوشت نگهداری شده به مدت یک ماه در برودت ۲۰- درجه سلسیوس استفاده شد (۲).

در ۴۲ روزگی، از محتویات ایلئوم دو قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی یک گرم نمونه برای کشت میکروبی برداشته شد. یک گرم نمونه به نه میلی‌لیتر بافر فسفات استریل اضافه و سپس سری‌های رقت تهیه و عمل کشت به روش شمارش قطره‌ای انجام شد. شمارش جمعیت باکتریایی کل روی محیط کشت پلیت کانت آگار (لیوفیلکم، ایتالیا)، باکتری‌های اسیدلاکتیک روی محیط کشت ام‌آراس آگار (لیوفیلکم، ایتالیا) و شمارش اشریشیاکلی روی محیط کشت مک‌کانکی آگار (لیوفیلکم، ایتالیا) بعد از انکوبه کردن هوازی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت انجام شد.

داده‌ها با رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (۱۷) برای مدل ۱ تجزیه و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ($P < 0/05$) مقایسه شدند.

$$X_{ij} = \mu + \delta_j + E_{ij} \quad (1)$$

در این رابطه: X_{ij} مقدار مشاهده شده، μ میانگین جامعه، δ_j اثر تیمار و E_{ij} اثر خطای آزمایش است.

جدول ۲. اثر آفلاتوکسین B_1 و پروتکسین بر عملکرد بلدرچین ژاپنی

تیمار	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز)	افزایش وزن (گرم/پرنده/روز)	ضریب تبدیل
شاهد	۱۳/۹۷ ^b	۴/۱۵ ^a	۳/۴۰
آفلاتوکسین	۱۳/۸۷ ^b	۳/۸۷ ^b	۳/۵۷
پروبیوتیک	۱۴/۹۷ ^a	۴/۵۰ ^a	۳/۳۲
آفلاتوکسین + پروبیوتیک	۱۴/۲۰ ^b	۴/۱۵ ^a	۳/۴۰
SEM	۰/۱۴۹	۰/۰۶۸	۰/۰۳۵
P-value	۰/۰۱۸	۰/۰۰۲	۰/۰۶۸

a-b در هر ستون، تفاوت ارقام با حروف نامشابه معنی‌دار است ($P < 0/05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

پرندهگان تغذیه شده با جیره حاوی آفلاتوکسین + پروتکسین و پرندهگان شاهد مشاهده نشد. افزایش ضخامت پوست ۱۲ و ۴۸ ساعت پس از چالش با دی نیتروکلروبنزن در پرندهگانی که با جیره حاوی آفلاتوکسین تغذیه شدند، کمتر از پرندهگان گروه شاهد بود ($P < 0/05$).

آفلاتوکسین B_1 با ایجاد آسیب های شدید کبدی و اختلال در توسعه بورس فابریسیوس از تولید ایمونوگلوبولین ها می کاهد و ایمنی هومورال را تحت تأثیر قرار می دهد. آفلاتوکسین ها با جلوگیری از سنتز پروتئین ها موجب کاهش تولید پادتن در بدن پرنده می شوند و پاسخ به واکسن را کاهش می دهند (۶). افزودن ۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 به جیره جوجه های گوشتی باعث کاهش معنی دار عیار پادتن تولید شده علیه ویروس نیوکاسل در مقایسه با گروه شاهد شد (۲۱). وجود یک میلی گرم آفلاتوکسین در کیلوگرم جیره جوجه های گوشتی باعث کاهش معنی دار عیار پادتن بر علیه ویروس نیوکاسل در یک و سه هفته بعد از واکسیناسیون شد (۱۸).

تأثیرات آفلاتوکسین ها بر مصرف خوراک و افزایش وزن بدن احتمالاً ناشی از بی اشتهایی و جلوگیری از سنتز پروتئین ها و چربی هاست. آفلاتوکسین ها با آسیب به واکنش های کبدی عملکرد و سلامت پرندهگان را تحت تأثیر قرار می دهند. مواد جاذب سم که به جیره های آلوده به آفلاتوکسین افزوده می شوند، مانع جذب آن در دستگاه گوارش پرنده می شوند و با اتصال به سم آن را دفع می کنند (۱۲). پلی ساکاریدها و پپتیدوگلیکان های دیواره سلولی باکتری های پروبیوتیک با آفلاتوکسین B_1 پیوند برقرار می کنند (۹).

عیار پادتن تولید شده علیه ویروس نیوکاسل و گلوبول قرمز گوسفند در ۴۲ روزگی، در پرندهگانی که با جیره حاوی آفلاتوکسین تغذیه شدند، کمتر از پرندهگان سایر تیمارها بود ($P < 0/05$). پرندهگانی که جیره حاوی پروتکسین را دریافت کردند، بالاترین عیار پادتن تولید شده علیه ویروس نیوکاسل و گلوبول قرمز گوسفند را در مقایسه با پرندهگان سایر تیمارها داشتند ($P < 0/05$). تفاوتی از نظر میزان تولید آنتی بادی بین

جدول ۳. اثر آفلاتوکسین B_1 و پروتکسین بر پاسخ سیستم ایمنی

افزایش ضخامت پوست در اثر چالش با دی نیتروکلروبنزن (میلی متر)		آنتی بادی تولید شده علیه گلوبول قرمز گوسفند (\log_2)		عبار پادتن تولید شده علیه واکسن نیوکاسل (\log_2)	گروه های آزمایشی
(۴۸ ساعت)	(۲۴ ساعت)	(۱۲ ساعت)	(\log_2)		
۱/۴۸ ^a	۰/۸۳	۰/۲۷ ^{ab}	۳/۰۱ ^b	۲/۱۸ ^b	شاهد
۱/۱۲ ^c	۰/۶۲	۰/۰۸ ^c	۲/۲۶ ^c	۱/۴۳ ^c	آفلاتوکسین
۱/۲۷ ^b	۰/۸۹	۰/۳۰ ^a	۳/۴۲ ^a	۳/۰۸ ^a	پروبیوتیک
۱/۳۵ ^b	۰/۸۰	۰/۱۷ ^{bc}	۲/۹۶ ^b	۲/۱۵ ^b	پروبیوتیک + آفلاتوکسین
۰/۰۳۶	۰/۰۴۵	۰/۰۲۸	۰/۰۱۳	۰/۱۶۰	SEM
< ۰/۰۰۱	۰/۱۷۷	۰/۰۰۸	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	P-value

a-c در هر ستون، تفاوت ارقام با حروف نامشابه معنی دار است ($P < 0/05$).

تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

تأثیر افزودن پروبیوتیک پروتکسین به جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین بر عملکرد بلدرچین ژاپنی

دی‌نیتروکلروبنزن در مقایسه با گروه شاهد کاهش می‌دهد (۱۸)، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در مطالعه‌ای دیگر، افزودن ۰/۰۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ به جیره جوجه‌های گوشتی باعث کاهش معنی‌دار ضخامت پوست در ناحیه چالشی با دی‌نیتروکلروبنزن شد و غلظت سم تأثیری در کاهش ضخامت پوست نداشت (۲۵).

غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گوشت تازه (روز صفر) پرندگان تغذیه‌شده با جیره پروبیوتیک کمتر از پرندگان گروه آفلاتوکسین بود (P<۰/۰۵) (جدول ۴). غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گوشت نگهداری‌شده به مدت سه روز در یخچال در پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی آفلاتوکسین و آفلاتوکسین+پروتکسین بیشتر از غلظت آن در گوشت پرندگان مربوط به گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). در روز ۳۰ نگهداری گوشت در فریزر، تفاوتی از نظر غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گوشت پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی آفلاتوکسین+پروتکسین و پرندگان شاهد مشاهده نشد.

افزودن ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین به جیره جوجه‌های گوشتی، عیار پادتن تولیدشده بر علیه گلبول قرمز گوسفند را در ۳۲، ۳۷، ۴۲ و ۴۷ روزگی در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد و با افزایش غلظت سم، میزان کاهش عیار پادتن بیشتر بود (۲۵). کاهش تولید پادتن ممکن است باعث حساسیت بیشتر در مقابل بیماری‌های باکتریایی ویروسی، قارچی و انگلی شود.

برای ارزیابی ایمنی با واسطه سلولی از آزمایش‌هایی مانند افزایش حساسیت تیپ تأخیری پوست به دی‌نیتروکلروبنزن و فیتوهماگلوآنتی‌جین P- استفاده می‌شود. افزایش حساسیت پوست به ترکیبات مذکور ناشی از فعالیت لنفوسیت T است و از مشخصات فعالیت لنفوسیت B نیست. در آزمایش حاضر، میزان افزایش ضخامت پوست در پرندگانی که با جیره حاوی آفلاتوکسین B₁ تغذیه شدند، از سایر گروه‌ها کمتر بود. در همین رابطه گزارش شده است که افزودن یک میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین به جیره جوجه‌های گوشتی، ضخامت پوست را ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از چالشی با

جدول ۴. اثر آفلاتوکسین B₁ و پروبیوتیک پروتکسین بر مقدار مالون‌دی‌آلدئید در مخلوط گوشت سینه و ران بلدرچین (میکروگرم در گرم) در روزهای صفر و سه نگهداری در یخچال (۴°C) و روز ۳۰ ذخیره‌سازی در فریزر (۲۰°C-)

سن جوجه (روز)			تیمار
۳۰	۳	۰	
۱/۴۱ ^b	۰/۲۱ ^b	۰/۱۱ ^{ab}	شاهد
۱/۹۲ ^a	۰/۳۱ ^a	۰/۱۵ ^a	آفلاتوکسین
۱/۱۳ ^c	۰/۲۳ ^b	۰/۰۹ ^b	پروبیوتیک
۱/۵۴ ^b	۰/۳۴ ^a	۰/۱۴ ^a	پروبیوتیک+آفلاتوکسین
۰/۰۸۰	۰/۰۱۹	۰/۰۰۸	SEM
<۰/۰۰۱	۰/۰۱۳	۰/۰۳۱	P-value

SEM: خطای معیار میانگین

a-c: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

پرنندگان گروه‌های دیگر بود ($P < 0/05$). جمعیت باکترهای اسیدلاکتیک و کل جمعیت باکتریایی در پرنندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی آفلاتوکسین کمتر از پرنندگان تیمارهای دیگر بود ($P < 0/05$). بالاترین جمعیت باکترهای اسیدلاکتیک و کل جمعیت باکتریایی در ایلنوم پرنندگان تغذیه‌شده با جیره پروبیوتیک مشاهده شد ($P < 0/05$).

باکتری‌های پروبیوتیک با استقرار در جایگاه‌های موجود در مخاط روده، از طریق ممانعت رقابتی سد فیزیکی محکمی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا تشکیل و با تغییر اکوسیستم میکروبی روده، جمعیت باکتری‌های اشریشیاکلی را کاهش می‌دهند. از نظر تئوری پروبیوتیک‌ها تأثیرات مفید خود را با کاهش اسیدیته حفره روده با تولید اسیدلاکتیک، اثر آنتاگونیستی مستقیم روی میکروب‌های بیماری‌زا، رقابت برای اتصال به جایگاه‌های استقرار با باکتری‌های بیماری‌زا، بهبود عملکرد سیستم ایمنی، رقابت برای مواد مغذی و سایر عوامل رشد با میکروب‌های بیماری‌زا، اعمال می‌کنند (۵).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی بلدرچین ژاپنی می‌تواند روش کارآمدی برای حذف یا کاهش تأثیر زیانبار آفلاتوکسین B₁ بر عملکرد، سیستم ایمنی، اکسیداسیون گوشت و فلور میکروبی ایلنوم باشد.

اکسیداسیون لیپیدها از مشکلات اصلی صنعت غذاست که به افت کیفیت، ترشیدگی و انباشته‌شدن ترکیبات سمی در غذا می‌انجامد. مالون‌دی‌آلدئید در اثر اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع تولید می‌شود (۱۰). آفلاتوکسین‌ها از تولیدکنندگان رادیکال‌های آزاد هستند و تغییر در غلظت مالون‌دی‌آلدئید بافت یا خون می‌تواند شاخص وقوع پراکسیداسیون لیپیدها در اثر رادیکال‌های آزاد باشد. افزودن ۶۰ میکروگرم آفلاتوکسین به هر کیلوگرم جیره بلدرچین میزان مالون‌دی‌آلدئید پلاسما را در مقایسه با شاهد افزایش می‌دهد (۳).

آفلاتوکسین‌ها با آسیب‌رساندن به مجرای گوارشی، کبد و پانکراس، هضم و جذب مواد مغذی و متابولیسم چربی‌ها را مختل می‌کنند. در نتیجه، میزان جذب ویتامین‌هایی چون C، E و A که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند نیز کم می‌شود و اکسیداسیون داخل بافت‌ها به‌طور غیرطبیعی افزایش می‌یابد (۷). همچنین، آفلاتوکسین‌ها موجب کاهش در سطح سرولوپلاسمین و ترانسفرین تولیدشده در کبد می‌شوند که با تغییر سطح آهن و مس به اختلال در سیستم دفاعی مقابله‌کننده با پراکسیداسیون چربی می‌انجامد (۱۱).

جمعیت باکتری اشریشیاکلی در ایلنوم پرنندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی پروبیوتیک و آفلاتوکسین+پروتکسین کمتر از پرنندگان شاهد بود ($P < 0/05$) (جدول ۵). جمعیت این باکتری در ایلنوم پرنندگان گروه آفلاتوکسین بیشتر از

جدول ۵. اثر آفلاتوکسین B₁ و پروبیوتیک بر جمعیت میکروبی ایلنوم ($\log \text{CFU g}^{-1}$)

تیمار	اشریشیاکلی	باکتری‌های اسید لاکتیک	کل جمعیت باکتریایی
شاهد	۶/۴۴ ^b	۷/۶۳ ^c	۸/۵۴ ^c
آفلاتوکسین	۶/۶۴ ^a	۷/۱۸ ^d	۸/۳۵ ^d
پروبیوتیک	۵/۹۶ ^c	۷/۹۰ ^a	۸/۷۲ ^a
آفلاتوکسین+پروبیوتیک	۶/۰۲ ^c	۷/۷۶ ^b	۸/۶۵ ^b
SEM	۰/۰۷۴	۰/۰۷۰	۰/۰۳۷
P-value	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

SEM: خطای معیار میانگین

a-d: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/05$).

تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

منابع

1. Bagherzadeh Kasmani F, Karimi Torshizi MA, Allameh AA and Sharitmadari F (2012) A novel aflatoxin-binding *Bacillus* probiotic: performance, serum biochemistry and immunological parameters in Japanese quail. *Poultry Science*. 91(8): 1846-1853.
2. Botsoglou NA, Fletouris DJ, Papageorgiou GE, Vassilopoulos VN, Mantis AJ and Trakatellis AG (1994) Rapid, sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue food and feed stuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42: 1931-1937.
3. Citil M, Gunes V, Atakisi O, Ozcan A, Tuzcu M and Dogan A (2005) Protective effect of L-carnitine against oxidative damage caused by experimental chronic aflatoxicosis in quail (*Coturnix coturnix*). *Acta Veterinaria Hungarica*. 53(3): 319-324.
4. Collins AR (2004) The comet assay for DNA damage and repair principles, applications and limitations. *Molecular Biotechnology*. 26(3): 249-261.
5. Collins MD and Gibson GR (1999) Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 69(5): 1052-1057.
6. Corrier DE (1991) Mycotoxicosis: mechanism of immunosuppression. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 30: 71-87.
7. Decoudu S, Cassand P, Daubeze M, Frayssinnet J and Narbonne JF (1992) Effect of vitamin A dietary intake on *in vitro* and *in vivo* activation of aflatoxin B₁. *Mutation Research*. 269: 269-278.
8. Dersjant-Li Y, Verstegen MWA and Gerrits WJJ (2003) The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisin in diets on growing pigs and poultry. *Nutrition Research Review*. 16: 223-239.
9. Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanpää PE, Salminen S and Ahokas JT (2001) Surface binding of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 3086-3091.
10. Kalaiselvi T and Panneerselvam C (1998) Effect of L-carnitine on the status of lipid peroxidation and antioxidants in aging rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 9: 575-581.
11. Kohen R and Nyska A (2002) Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicological Pathology*. 30: 620-650.
12. Li JJ, De-Cheng S and Xiao-Ou S (2010) Binding capacity for aflatoxin B₁ by different adsorbent. *Agricultural Sciences in China*. 9: 449-456.
13. Mokoena MP, Chelule PK and Gqaleni N (2006) The toxicity and decreased concentration of aflatoxin B₁ in natural lactic acid fermented maize meal. *Journal of Applied Microbiology*. 100: 773-777.
14. NRC (1994) *Nutrient Requirements of Poultry*. National Academy Press, Washington, DC.
15. Patterson JA and Burkholder KM (2003) Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*. 82(4): 627-631.
16. Peterson AL, Qureshi MA, Ferket PR and Fuller JC (1999) Enhancement of cellular and

- humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of β -hydroxy- β -methylbutyrate. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 21(2): 307-330.
17. SAS Institute (2001) SAS Users Guide Statics. Version 8.2. ed. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.
 18. Shivachandra SB, Sah RL, Singh SD, Kataria JM and Manimaran K (2003) Immunosuppression in broiler chicken fed aflatoxin and inoculated with fowl adenovirus serotype-4 (FAV-4) associated with hydropericardium syndrome. *Veterinary Research Communication*. 27: 39-51.
 19. Shotwell OL, Hesseltine CV, Stubblefield RD and Sorenson WG (1966) Production of aflatoxin on rice. *Applied and Environmental Microbiology*. 14: 425-428.
 20. Sohail ZU Rahman A, Ijaz MS, Yousaf K, Ashraf T, Yaqub H, Zaneb H and Rehman H (2011) Single or combined effects of mannan-oligosaccharides and probiotic supplements on the total oxidants, total antioxidants, enzymatic antioxidants, liver enzymes, and serum trace minerals in cyclic heat-stressed broilers. *Poultry Science*. 90: 2573-2577.
 21. Tessari ENC, Oliveira CAF, Cardoso ALSP, Ledoux DR and Rottinghaus GR (2006) Effect of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ on body weight, antibody titres and histology of broiler chicks. *British Poultry Science*. 47(3): 357-364.
 22. Thayer SG and Beard CW (1998) Serological procedures. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens, 4th ed., Pennsylvania, USA: American Association of Avian Pathologists.
 23. Todar K (2007) Online Textbook of Bacteriology. Available at <http://textbookofbacteriology.net/e.coli.html>. University of Wisconsin-Madison, Department of Bacteriology. Madison, USA.
 24. Vahdatpour T, Nikpiran H, Babazadeh D, Vahdatpour S and Jafargholipour MA (2011) Effects of Protexin®, Fermacto® and combination of them on blood enzymes and performance of Japanese quails (*Coturnix Japonica*). *Annals of Biological Research*. 2: 283-291.
 25. Verma J, Johri TS, Swain BK and Ameena S (2004) Effect of graded levels of aflatoxin and their combination on the performance and immune response of broilers. *British Poultry Science*. 45(4): 512-518.