

بررسی اثر باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس

بر کاهش اثرات مضر آفلاتوکسین B1 در جیره جوجه‌های گوشتی

- منصوره عبدالملکی
دانشجو دکتری تغذیه طیور دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا
- علی اصغر ساکی (نویسنده مسئول)
استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان.
- محمد یوسف علیخانی
استاد گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۸۳۱۳۹۷۷۵

Email: drakisaki@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.123443.1776

چکیده

در این مطالعه به منظور بررسی اثر پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس در کاهش اثرات مضر آفلاتوکسین B1 از ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه (نر و ماده) سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل (۲×۲×۲) با ۸ تیمار، ۴ تکرار و تعداد ۱۵ قطعه در هر تکرار استفاده شد. فاکتورها شامل جنسیت (خروس و مرغ)؛ ۲) آفلاتوکسین B1 در دو سطح (صفر و ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم)؛ ۳) پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس در دو سطح (صفر و ۱۰^۱ واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی-لیتر) بودند. عملکرد، فعالیت آنزیم‌های کبدی، ایمنی و برخی شاخص‌های خونی تحت تاثیر جنسیت قرار نگرفتند ($P > 0.05$). جوجه‌هایی که جیره حاوی آفلاتوکسین B1 خورده بودند، کاهش وزن و مصرف خوراک معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند ($P < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی در کل دوره تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). فعالیت آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز افزایش معنی‌داری در تیمار آفلاتوکسین B1 نشان دادند ($P < 0.05$). تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و درصد هماتوکریت و هموگلوبین در گروه آفلاتوکسین B1 نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری کاهش یافتند ($P < 0.05$). کم‌ترین عیار پادتن علیه بیماری نیوکاسل و گلبول قرمز گوسفند و همچنین کم‌ترین ضخامت پوست در پاسخ به فیتوهماگلوترین در گروه آفلاتوکسین B1 مشاهده شد ($P < 0.05$). با توجه به نتایج، مکمل کردن باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس به جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 توانست عملکرد را بهبود بخشد و فعالیت آنزیم‌های کبدی و پاسخ ایمنی را در مقایسه با جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 افزایش دهد ($P < 0.05$).

واژه‌های کلیدی: جوجه‌های گوشتی، آفلاتوکسین B1، باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس، عملکرد، پارامترهای خونی و پاسخ ایمنی

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 124 pp: 213-228

Effects of Bacillus amyloliquefaciens on performance, blood parameters, immune status and reduction of adverse effects of aflatoxin in broiler chickensBy: Mansoureh Abdolmaleki¹ Aliasghar Saki^{2*} and Mohammad yousef Alikhani³^{1,2}Department of animal science, faculty of agriculture, Bu-Ali Sina university, Hamedan, Iran.³Department of Microbiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Corresponding author: Aliasghar aki , Email address: alisaki34@yahoo.com

Received: October 2018**Accepted: December 2018**

A study was conducted to evaluate the effects of Bacillus amyloliquefaciens on adverse effects of aflatoxin B1 in broiler chickens. A total of 480 1-d-old broiler Ross 308 (male and female) were completely randomized disigne with a $2 \times 2 \times 2$ factorial arrangements (sex and feed additives) with 4 replicates of 15 birds. Factors includes sex (male and female); probiotic (control, 108 cfu/mL B. amyloliquefaciens); aflatoxin (control, 500 AFB1 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Performance, the activity of liver enzymes, immune and some blood parameters were not affected by sex ($p > 0.05$). Body weight and feed intake of aflatoxin B1 group were significantly decreased compared other ($p < 0.05$). There was no significantly drffenece in feed conversion ratio compared with other groups during total period ($p > 0.05$). Activity of liver enzymes including aspartate amino transferase, alanine amino transferase, alkaline phosphatase and lactate dehydrogenase were significantly increased in aflatoxin B1 group ($p < 0.05$). The counts of red blood cells and withe blood cells, hematocrite and hemoglobin percentages were significantly decreased in aflatoxin B1 group compared with other ($p < 0.05$). The aflatoxin B1 group has shown the lowest of antibody production against newcastle disease and sheep blood red cell also, the lowest of skin thickness in responding to phytohaemagglutinin ($p < 0.05$).

In conclusion, the supplementation of B. amyloliquefaciens to contaminated food could be improved performance and increased the activity of liver enzyme and immune response in broilers.

Key words: broiler chickens, aflatoxin B1, B. amyloliquefaciens, performance, blood parameters and immune.**مقدمه**

همکاران، a,b، ۲۰۱۵، ۲۰۱۴، ۲۰۱۳). لازم به ذکر است که قرار گرفتن انسان در معرض مایکوتوکسین‌ها نه تنها با مصرف غذاهای گیاهی آلوده بلکه انتقال مایکوتوکسین‌ها و متابولیت‌های آن‌ها در محصولات می مانند بافت‌های حیوانی، شیر و تخم‌مرغ‌ها نیز ایجاد می‌شود (CAST، ۲۰۰۲). علاوه بر این مایکوتوکسین‌ها سالانه باعث ضررهای اقتصادی زیادی از جمله تلفات انسانی و حیوانی، هدر رفتن تولیدات دامی، علوفه‌ها، مواد غذایی و غیره می‌شوند (Mohamed، ۲۰۱۱). در میان ۴۰۰ نوع مایکوتوکسین شناخته شده، آفلاتوکسین B1^۱، آفلاتوکسین B2^۲، آفلاتوکسین

مایکوتوکسین‌ها گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها و کپک‌ها هستند که خطر جدی برای سلامتی انسان‌ها و حیوانات دارند. رشد قارچ و تولید مایکوتوکسین ممکن است در حین برداشت محصولات و یا در طول ذخیره‌سازی تحت شرایط نامناسب دما و رطوبت رخ دهد (Bryden، ۲۰۱۲). آلودگی مایکوتوکسین به‌طور گسترده در مواد غذایی با منشأ گیاهی بویژه غلات، میوه‌ها، فندق، بادام‌زمینی، دانه‌ها، علوفه و دیگر مواد غذایی کشاورزی رخ می‌دهد که برای مصرف انسان‌ها و حیوانات استفاده می‌شوند (Guan و همکاران ۲۰۱۱، Wu و

¹ Aflatoxin B1² Aflatoxin B2

اما پیشنهاد شده است که آفلاتوکسین به جای برقراری پیوند کوالانسی از طریق اتصال فیزیکی به ترکیبات دیواره سلولی باکتری (پلی ساکاریدها و پپتیدوگلیکانها) متصل می شود (Elsanhoty, 2014). گزارش شده است که *Pseudomonas aeruginosa* N17-1 پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در محیط کشت نوترینت برات توانست AFB1، AFB2 و آفلاتوکسین M1⁵ را به ترتیب ۸۲/۸، ۴۶/۸ و ۳۱/۹ درصد کاهش دهد (Sangare و همکاران، ۲۰۱۴). مشخص شده است که برخی از گونه های باسیلوس نیز مانند باسیلوس سوبتیلیس (Farzaneh و همکاران، ۲۰۱۲) و باسیلوس لیکنی فرمیس (Petchkongkaew و همکاران، ۲۰۰۸) در کاهش اثرات آفلاتوکسین موثر بوده اند. سیاه مشته و همکاران (۲۰۱۷) سویه باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس را از خاک جدا کردند که توانست آفلاتوکسین B1 را کاهش دهد. Chang و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس قادر به کاهش فعالیت اکرآتوکسین بود. Xu و همکاران (۲۰۱۶) سویه ای از باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس را از خاک جدا کردند که به طور موثری فعالیت کاهندگی زیرالنون را نشان داد

Gao و همکاران (۲۰۱۱) باسیلوس سوبتیلیس ANSB060 را از روده ماهی جدا کردند که قادر به حذف آفلاتوکسین بود و آفلاتوکسین B1، آفلاتوکسین M1 و آفلاتوکسین G1 را به ترتیب به میزان ۸۱/۵، ۶۰ و ۸۰ درصد کاهش داد. همین طور ANSB060 فعالیت ضد میکروبی علیه *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium*، نشان داد و به شرایط محیط روده مقاوم بود. علاوه بر این، اثرات محافظتی مکمل باسیلوس سوبتیلیس ANSB60 در جیره های مرغ های تخم گذار و جوجه های گوشتی آلوده به آفلاتوکسین در شرایط مزرعه به خوبی مورد تایید

G1³ و آفلاتوکسین G2⁴ مهمترین مایکوتوکسین ها در مواد خوراکی و غذایی به شمار می روند. به علت اثرات سمی آفلاتوکسین B1، از سوی آژانس بین المللی تحقیقات سرطان در گروه یک عامل سرطانزا در انسان دسته بندی شده است (IRAC، ۲۰۰۲؛ Corcuera و همکاران، ۲۰۱۲). روش های فیزیکی و شیمیایی زیادی برای حذف یا غیرفعال سازی مایکوتوکسین ها در منابع آمده است (Stove، ۲۰۱۳). با این حال این روش ها محدودیت هایی در رابطه با مسائل ایمنی، از بین رفتن ارزش غذایی و طعم و مزه غذا دارند که با راندمان محدود و افزایش هزینه ها متقارن شده است. در سال های اخیر، استفاده از عوامل جذب مایکوتوکسین برای باند شدن با مایکوتوکسین ها در دستگاه گوارش حیوان و سپس کاهش قابلیت زیستی و سمیت آن ها، در برنامه های صنعتی خوراک نویدبخش بوده است. روش های زیستی بر اساس فعالیت میکروارگانیسم ها بر مایکوتوکسین ها است و مکانیسم فعالیت آن ها بر اساس رقابت با مواد مغذی، فضا، اثر متقابل و آنتی بیویز است (Fazeli و همکاران، ۲۰۰۹). در میان باکتری ها، باکتری های اسیدلاکتیک مهم ترین میکروارگانیسم های پروبیوتیکی در ارتباط با دستگاه گوارش انسان ها هستند. آن ها به دلیل اثرات مفید در سلامت انسان ها به طور گسترده ای در صنعت خوراک استفاده می شوند. یکی از اثرات شناخته شده محافظت علیه توکسین های موجود در خوراک ها مانند آمین های حلقوی هتروسیکلیک، اسید آمینه پیرولیزات، هیدروکربن های آروماتیک پلی سیکلیک و مایکوتوکسین ها هستند (Topcu و همکاران، ۲۰۱۰). باکتری های اسیدلاکتیک از جمله برخی گونه های پروبیوتیکی مورد مطالعه قرار گرفته و برخی سویه ها توانایی زیادی برای باند شدن با آفلاتوکسین در محیط کشت آلوده دارند (El-Nezami و همکاران، ۱۹۹۸)، اگر چه مکانیسم عمل لاکتوباسیل ها بر آفلاتوکسین هنوز روشن نشده است

⁵ Aflatoxin M1

³ Aflatoxin G1

⁴ Aflatoxin G2

میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) استفاده شد. و میزان آفلاتوکسین B1 به روش (Shotwell و همکاران، ۱۹۶۶) اندازه‌گیری شد. مقدار ۶/۷ گرم برنج آلوده حاوی ۵۰۰ میکروگرم آفلاتوکسین B1 در کیلوگرم خوراک بود (هر گرم برنج حاوی ۷۵ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B1 بود). در طول دوره ۴۲ روزه پرورش در پایان هر مرحله پرورشی (آغازین، رشد و پایانی) خوراک مصرفی و وزن جوجه‌ها به صورت میانگین در هر واحد آزمایشی اندازه‌گیری و محاسبه شد. در سن ۴۲ روزگی از هر پن یک قطعه پرنده (نر و ماده) به صورت تصادفی انتخاب و از ورید بال با استفاده از سرنگ حاوی اتیلن‌دی‌آمین تراستیک اسید^۸ در حدود ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد. تعداد گلبول‌های قرمز خون^۹ با استفاده از لام هماتوسایتمتر و میکروسکوپ نوری، درصد هماتوکریت^{۱۰} با استفاده از لوله‌های مویینه هماتوکریت و هموگلوبین^{۱۱} با استفاده از روش سیانومت هموگلوبین و توسط کیت تجاری (زیست شیمی، ایران) تعیین گردید (Khan, ۲۰۰۸؛ Natt و Herrick, ۱۹۵۲). در سن ۴۲ روزگی از هر پن یک پرنده به صورت تصادفی انتخاب و به میزان یک و نیم سی‌سی خون از سیاهرگ زیر بال گرفته و به لوله بدون ماده ضد انعقاد جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کبدی ریخته و سانتریفیوژ شد. سرم جدا گردید و نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری به آزمایشگاه منتقل شدند و با استفاده از کیت‌های بیونیک شرکت بیونیک با دستگاه Analyzer Chemistry Analyzer Roche Hitachi 912 ساخت کشور ژاپن اندازه‌گیری شد.

ارزیابی پاسخ ایمنی بر اساس روش Corrier و Doleach (۱۹۹۰) انجام شد. در ۴۰ روزگی به دو پرنده از هر پن میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول فیتوهماگلوتنین^{۱۲} (غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و ۰/۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به ترتیب بین پرده

قرار گرفته است (Ma و همکاران، ۲۰۱۲؛ Fan و همکاران، ۲۰۱۳).

در این مطالعه باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس از دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی جداسازی و به‌عنوان سویه دارای پتانسیل پروبیوتیکی معرفی شد. پس از بررسی توانایی این سویه در جذب آفلاتوکسین B1 در شرایط آزمایشگاه مشخص شد که قادر است پس از ۴ و ۲۴ ساعت به ترتیب ۵۸/۳۳ و ۷۵ درصد سم را در مایع-رویی کاهش دهد. هدف از این مطالعه بررسی توانایی این سویه پروبیوتیکی در کاهش اثرات مضر آفلاتوکسین B1 و اثر آن بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی در شرایط موجود زنده بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش تعداد ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در دو جنس نر و ماده در یک آزمایش فاکتوریل (۲×۲×۲) در قالب طرح کاملاً تصادفی با هشت تیمار و چهار تکرار (هر تکرار شامل ۱۵ قطعه جوجه گوشتی) ۱ تا ۴۲ روزگی مورد بررسی قرار گرفتند. فاکتورها شامل (۱) جنسیت (خروس و مرغ) (۲) آفلاتوکسین B1 در دو سطح (صفر و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) (۳) پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس در دو سطح (صفر و ۱۰^۹ واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی‌لیتر (cfu/ml^۶) بودند. جیره‌ها بر پایه ذرت و سویا و بر اساس نیازهای سویه راس ۳۰۸ و با استفاده از نرم افزار جیره نویسی UFFAD^۷ تنظیم گردیدند. مواد تشکیل دهنده و ترکیب جیره پایه در جدول ۱ ارائه شده است. پرندگان در طول دوره به آب و خوراک دسترسی آزاد داشتند.

برای تولید آفلاتوکسین B1 از یک ویال استاندارد -PTCC- *Aspergillus parasiticus* 5286 (تهیه شده از بانک

⁸ Ethylen diamine tetra acetic acid

⁹ Red blood cell

¹⁰ Packed Cell Volume

¹¹ Hemoglobine

¹² Phytohaemagglutinin

⁶ Colony count unit

⁷ User friendly feed formulation

و افزایش وزن در کل دوره پرورشی معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و آفلاتوکسین B1 موجب کاهش معنی‌دار و پروبیوتیک موجب افزایش معنی‌دار خوراک مصرفی و افزایش وزن نسبت به تیمار شاهد شدند. اثر اصلی آفلاتوکسین B1 بر ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار اما اثر اصلی پروبیوتیک بر ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). اثر متقابل آفلاتوکسین B1 و پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس بر افزایش وزن و خوراک مصرفی کل دوره معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و در مقایسه میانگین تیمارها نشان داده شد که تیمارهای آفلاتوکسین B1 + شاهد خروس و آفلاتوکسین B1 + شاهد مرغ کم‌ترین افزایش وزن و خوراک مصرفی را نسبت به سایر تیمارها داشتند ($P < 0.05$). و نیز مقدار خوراک مصرفی و افزایش وزن در تیمارهای پروبیوتیک + آفلاتوکسین B1 + شاهد‌های مرغ و خروس مشابه تیمارهای شاهد و پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس + شاهد مرغ و خروس بود ($P > 0.05$).

جدول ۳ اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های خون‌شناسی را در ۴۲ روزگی نشان می‌دهد. میزان هموگلوبین در خروس‌ها به‌طور معنی‌داری بالاتر از مرغ‌ها بود ($P < 0.05$). میزان هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول قرمز و گلبول سفید^{۱۶} در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B1 به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد و در 10^9 cfu/ml پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد پروبیوتیک بود ($P < 0.05$). اثر متقابل آفلاتوکسین B1 و پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس در رابطه با همه شاخص‌ها معنی‌دار بود و با مقایسه میانگین تیمارها مشخص شد که کم‌ترین درصد هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول قرمز و سفید در تیمارهای آفلاتوکسین B1 + شاهد‌های خروس و مرغ مشاهده گردید ($P < 0.05$). بین تیمارهای شاهد، پروبیوتیک باسیلوس

انگشت سوم و چهارم پای راست و چپ تزریق شد. ۲۴ ساعت پس از تزریق، میزان تورم حاصل اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری تورم با استفاده از میکرومتر دیجیتال انجام گرفت. (PHA -P, gibco., 10ml, 10576-015, USA). در روز ۲۷ به سه قطعه پرنده از هر پن مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند^{۱۳} ۵ درصد شسته شده در بافر فسفات استریل، از طریق عضله سینه تزریق گردید. سپس ۵ و ۱۰ روز پس از هر بار تزریق گلبول قرمز (۳۲ و ۳۷ روزگی)، از همان پرنده‌ها از طریق ورید بال حدود یک میلی‌لیتر خون گرفته شد. عیار پادتن تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند با روش هم‌آگلوتیناسیون میکروتیتر صورت گرفت (Wegmann و همکاران، ۱۹۶۶؛ Peterson و همکاران، ۱۹۹۹). واکسن نیوکاسل (B1) در ۷ روزگی از طریق قطره چشمی و در ۱۸ روزگی به‌صورت آشامیدنی (Avenieu) تجویز شد. یک هفته پس از واکسیناسیون از سه قطعه پرنده در هر پن مقدار یک میلی‌لیتر خون گرفته شد. نمونه‌های خون برای تعیین عیار آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل^{۱۴} به‌آزمایشگاه منتقل و با استفاده از روش ممانعت از هم‌آگلوتیناسیون^{۱۵} محاسبه شدند (Fu and Liu, ۱۹۹۷). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۴ (SAS, ۲۰۱۳) و رویه GLM انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی و در سطح خطای ۰/۰۵ انجام گردید.

نتایج

نتایج حاصل از اثرات اصلی و تیمارهای آزمایشی، بر صفات عملکردی در کل دوره پرورشی در جدول ۲ آورده شده است. جنسیت تحت تاثیر مقدار آفلاتوکسینی که در جیره استفاده شده بود قرار نگرفت ($P > 0.05$). اثر اصلی آفلاتوکسین B1 و پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس بر مقدار خوراک مصرفی

¹⁶ White blood cell

¹³ Sheep red blood cell

¹⁴ Newcastle disease

¹⁵ Hemagglutination inhibition

خروس فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز را به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها افزایش دادند ($P < 0.05$). فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار آفلاتوکسین B1 + شاهد خروس به طور معنی داری بیشتر از پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس + شاهد خروس بود اما با سایر تیمارها تفاوت معنی داری نداشت. نتایج حاصل از فاکتورهای ایمنی در جدول ۵ گزارش شده است. اثر اصلی جنسیت تحت تاثیر آنتی بادی تولید شده علیه ویروس بیماری نیوکاسل گلوبول قرمز گوسفند، و فیتوهمگلوتینین قرار نگرفت ($P > 0.05$). اثرات اصلی افزودنی در هر چهار فاکتور معنی دار بودند ($P < 0.05$) و میزان فاکتورها در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B1 به طور معنی داری کم تر و در 10^9 واحد تشکیل دهنده کلنی باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس به طور معنی داری بیشتر از شاهد بودند. اثر متقابل آفلاتوکسین B1 و پروبیوتیک بر میزان آنتی بادی تولید شده علیه بیماری نیوکاسل در روز ۱۴، گلوبول قرمز گوسفندی در روز ۳۷ و فیتوهمگلوتینین معنی دار بود ($P < 0.05$) در مقایسه میانگین، تیمارهای آفلاتوکسین B1 + شاهد های خروس و مرغ در روز ۱۴ آنتی بادی کمتری علیه بیماری نیوکاسل نسبت به سایر تیمارها تولید کردند ($P < 0.05$). بیشترین میزان تولید آنتی بادی علیه گلوبول قرمز گوسفندی در تیمار پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس مشاهده شد که تفاوت معنی داری با سایر تیمارها به جز تیمارهای آفلاتوکسین B1 + شاهد های مرغ و خروس نداشت ($P > 0.05$). در مقایسه میانگین تیمارها بین تیمارهای حاوی پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس و آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$).

بحث

در چند سال اخیر استفاده از باکتری های پروبیوتیک برای باند

آمیلولیکوفاسیانس و پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس + آفلاتوکسین B1 + شاهد های مرغ خروس اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P > 0.05$). اثر متقابل آفلاتوکسین B1 و جنس بر درصد هماتوکریت معنی دار بود لذا مقایسه سطوح فاکتورهای اصلی انجام نگرفت. اثر متقابل آفلاتوکسین B1، پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس و جنس بر درصد هماتوکریت معنی دار بود در مقایسه میانگین تیمارها شاهد خروس، پروبیوتیک + شاهد خروس و آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس + شاهد خروس درصد هماتوکریت بیشتری نسبت به سایر تیمارها نشان دادند ($P < 0.05$). فعالیت آنزیم های آسپارات آمینوترانسفراز^{۱۷}، آلانین آمینو-ترانسفراز^{۱۸}، لاکتات دهیدروژناز^{۱۹} و آلکالین فسفاتاز^{۲۰} تحت تاثیر جنسیت قرار نگرفتند. اثرات افزودنی و تیمار بر فعالیت این شاخص ها معنی دار بود ($P < 0.05$). فعالیت آنزیم های کبدی در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B1 بیشتر از سطح صفر آفلاتوکسین بود ($P < 0.05$). تعداد 10^9 cfu/ml پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس فعالیت آنزیم های کبدی را نسبت به شاهد کاهش داد ($P < 0.05$). اثر متقابل آفلاتوکسین B1 و پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس بر فعالیت آنزیم ها معنی دار بود ($P < 0.05$). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که فعالیت آسپارات آمینوترانسفراز در تیمار آفلاتوکسین B1 + شاهد مرغ تفاوت معنی داری با شاهد های مرغ و خروس نداشت ($P > 0.05$). فعالیت آلانین آمینوترانسفراز در تیمار آفلاتوکسین B1 + شاهد مرغ با تیمارهای شاهد خروس، پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس + شاهد مرغ و پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس + آفلاتوکسین B1 + شاهد خروس مشابه بود ($P > 0.05$). تیمارهای آفلاتوکسین B1 + شاهد های مرغ و

¹⁷ Aspartate amino transferase

¹⁸ Alanine amino transferase

¹⁹ Lactate dehydrogenase

²⁰ Alkaline phosphatase

است (Foldes و همکاران، ۲۰۰۰؛ Huwing و همکاران، ۲۰۰۱). Ahmed و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که سویه باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس پتانسیل پروبیوتیکی برای استفاده در خوراک جوجه‌های گوشتی را داشته و باعث بهبود عملکرد می‌شود. مکمل کردن گلوکومانان استریفه شده^{۲۱} (۰/۱، ۰/۵ درصد) در جیره‌هایی که به‌طور طبیعی به مایکوتوکسین‌ها آلوده بودند، کاهش وزن و مصرف خوراک را به‌طور قابل ملاحظه‌ای بهبود بخشید (Mohaghegh و همکاران، ۲۰۱۷).

چندین شاخص خونی با مصرف آفلاتوکسین‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرد. آزمایش‌های بسیاری نشان داده‌اند که میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در مواجهه با آفلاتوکسیکوزیس کاهش می‌یابد (Tung و همکاران، ۱۹۷۵). Oguz و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که آفلاتوکسین‌ها باعث کاهش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین می‌شوند. در آزمایش حاضر کمترین میزان گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت و هموگلوبین مربوط به گروه دریافت کننده آفلاتوکسین بود و افزودن پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس باعث افزایش گلبول‌های قرمز و سفید شد که مطابق با نتایج باقرزاده و همکاران (۲۰۱۲) بود. تغییر در پارامترهای خون‌شناسی می‌تواند در نتیجه کاهش سنتز پروتئین‌ها در اثر آفلاتوکسیکوزیس باشد.

کبد اندام اصلی است که در آلودگی آفلاتوکسینی مورد بررسی قرار می‌گیرد، زیرا آفلاتوکسین‌ها عمدتاً در کبد تجمع پیدا کرده و پس از جذب متابولیزه می‌شوند. فعالیت سرمی آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز، آسپارات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز به‌عنوان شاخص‌های سرولوژیکی حساس در آسیب‌های بافتی کبد و سیستم صفراوی، و غلظت سرمی پروتئین کل به‌عنوان شاخص سنتز پروتئین شناخته شده‌اند (Abdel-Wahhab و Aly،

شدن با آفلاتوکسین‌ها مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند برخی از سویه‌های باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس توانایی کاهش آفلاتوکسین‌ها، اکراتوکسین یا زیرانون را دارند (Chang و همکاران، ۲۰۱۵؛ Xu و همکاران ۲۰۱۶؛ Siahmoshteh و همکاران، ۲۰۱۷). در این مطالعه سویه باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس جدا شده از دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی به‌عنوان پروبیوتیک مورد توجه قرار گرفت و پس از بررسی توانایی باند باشدن با آفلاتوکسین B1 در آزمایشگاه، در شرایط مزرعه مورد استفاده قرار گرفت.

جوجه‌هایی که جیره حاوی ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B1 خورده بودند، در کل دوره پرورشی کاهش وزن و مصرف خوراک معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها نشان دادند. سرعت رشد کم و عملکرد ضعیف از نشانه‌های رایج آفلاتوکسیکوزیس در طیور می‌باشد. اثرات آفلاتوکسین‌ها بر روی کاهش وزن بدن و خوراک مصرفی و افزایش ضریب تبدیل غذایی احتمالاً به دلیل بی‌اشتهایی، بی‌میلی و جلوگیری از سنتز پروتئین‌ها و لیپیدها می‌باشد (Kana و همکاران، ۲۰۱۴؛ Dhanapal و همکاران، ۲۰۱۴) افزودن پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس به جیره حاوی آفلاتوکسین B1 توانست اثرات منفی آفلاتوکسین B1 بر روی عملکرد را تعدیل کرده، و اثری مشابه با جیره شاهد و جیره حاوی پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس داشته باشد. باقر زاده و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک بریوی باسیلوس لاتیروسپروس به خوراک آلوده بلدرچین‌های ژاپنی موجب بهبود افزایش وزن مشابه با گروه شاهد گردید.

بر اساس تحقیقات انجام شده، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های دیواره سلولی باسیلوس قادر به جذب و باند شدن با آفلاتوکسین هستند، این پتانسیل در شرایط موجود زنده و آزمایشگاه تایید شده

²¹ Esterified glucomanan

هنگام رونویسی در سطح mRNA و سپس جلوگیری از سنتز پروتئین می‌باشد. بررسی پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به صورت مخلوط (تیمارهای BLY^{۲۲} و Tox®) و جدا (تیمارهای B^{۲۳}، L^{۲۴} و Y^{۲۵})، توانستند در جذب آفلاتوکسین و جلوگیری از اثرات منفی آن بر سیستم ایمنی موثر باشند (Barati و همکاران، ۲۰۱۷). در این مطالعه پایین بودن تیترا آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل و گلوبول قرمز گوسفند و کاهش ضخامت پوست در پاسخ به فیتوهایماگلوتنین در تیمار آفلاتوکسین B1 حاکی از اثرات منفی آن بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی بود. افزودن پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس به جیره تا حدود زیادی بر اثرات منفی آفلاتوکسین B1 غلبه کرده و اثری مشابه با تیمارهای شاهد داشت. نتایج نشان دادند که باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس علاوه بر اثرات مفید آن در قالب پروبیوتیک، می‌تواند به‌عنوان یک عامل محافظتی بالقوه علیه سمیت آفلاتوکسین عمل کند و از این رو می‌تواند یک روش موثر تغذیه‌ای برای کاهش خطر وقوع اختلالات کبدی و کلیه به‌شمار می‌رود.

نتیجه‌گیری کلی

این مطالعه نشان داد که باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس، به‌عنوان یک پروبیوتیک جدا شده از دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی، علاوه بر اعمال اثرات مفید پروبیوتیکی توانست با آفلاتوکسین B1 در دستگاه گوارش باند شود و اثرات مضر آن را بر عملکرد، فعالیت آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های خونی و پاسخ ایمنی کاهش دهد.

(۲۰۰۵). نتایج نشان داد که در تیمار آفلاتوکسین B1 + شاهد خروس افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های کبدی از جمله آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، و لاکتات دهیدروژناز نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد. از سوی دیگر مصرف پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس باعث کاهش معنی‌دار سطوح این آنزیم‌ها شد که اثر آن با تیمارهای شاهد و پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس + آفلاتوکسین B1 مشابه بود. برخی گزارش‌ها ثابت کردند که سطوح بالای آفلاتوکسین B1 (۲۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم) باعث کاهش معنی‌دار پروتئین کل سرم و افزایش معنی‌دار فعالیت آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در حیوانات شد (Abdel-Wahhab و Aly، ۲۰۰۵؛ Oguz و همکاران، ۲۰۰۰؛ Bagherzhade و همکاران، ۲۰۱۲). تغییرات در نتایج نشان می‌دهند که تغییر در پروتئین کل، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز ارتباط نزدیکی با غلظت آفلاتوکسین‌ها در جیره دارد. این اطلاعات بیان می‌کنند که تغذیه جیره حاوی آفلاتوکسین B1 باعث آسیب اکسیداتیو و پراکسیداسیون چربی در جوجه‌های گوشتی می‌شود که ممکن است علت اصلی آسیب بافتی کبد و تغییرات بیوشیمیایی سرم باشد. در این مطالعه پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس توانست اثرات منفی آفلاتوکسین B1 را بر افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی به‌طور معنی‌داری کاهش دهد.

آفلاتوکسین‌ها تضعیف‌کننده‌های سیستم ایمنی هستند که حساسیت پرندگان را به عوامل بیماری‌زای دیگر مانند قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و پروتوزوها افزایش می‌دهند (Lawal و Bolu، ۲۰۱۴). Afzali و Devogowda (۲۰۰۴) به این نتیجه رسیدند که مهمترین عوارض آفلاتوکسیکوزیس در طیور اختلال در سیستم ایمنی است که تلفات زیادی به دنبال دارد. آفلاتوکسین سنتز پروتئین را مهار کرده و به کمتر شدن تولید آنتی‌بادی می‌انجامد. کاهش پروتئین کل سرم به علت نقص انتقال اسید آمینه در

²² Bacillus subtilis JQ 618 strain +Lactobacillus strains + Saccharomyces cerevisiae 's cell wall

²³ Bacillus subtilis JQ 618 strain

²⁴ Lactobacillus strains

²⁵ Saccharomyces cerevisiae 's cell wall

جدول ۱- ترکیب مواد تشکیل دهنده و مقدار مواد مغذی محاسبه شده در جیره بر حسب درصد

پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)	رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)	آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)	
۵۴/۶۲	۵۱/۳۹	۵۱/۰۵	ذرت
۳۴/۶۱	۳۶/۷۷	۳۵/۶۰	کنجاله سویا (۴۴ درصد)
۰/۰۰	۲/۰۰	۵/۰۰	گلوتن ذرت
۶/۵۰	۵/۱۵	۳/۰۳	روغن
۰/۹۲	۱/۰۰	۱/۱۱	صدف
۱/۴۹	۱/۷۳	۱/۹۸	دی کلسیم فسفات
۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	مکمل ویتامین و مینرال
۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۰	نمک
۰/۰۳	۰/۱۰	۰/۲۸	ال-لیزین
۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۹	دی-ال متیونین
۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۱۰	ال- ترئونین
۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۶۷	ماسه
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	مجموع
			مقادیر محاسبه شده
۳۲۰۰	۳۱۰۰	۳۰۰۰	انرژی (Kcal/kg)
۱۹/۵	۲۱/۵	۲۳	پروتئین خام (%)
۱/۰۲	۱/۱۵	۱/۲۸	لیزین (%)
۰/۸۰	۰/۸۷	۰/۹۵	متیونین+سیستین (%)
۰/۷۸	۰/۸۷	۰/۹۶	کلسیم (%)
۰/۳۹	۰/۴۳۵	۰/۴۸	فسفردر دسترس (%)
۲۱۵/۳۹	۲۲۱/۴۹	۲۰۷/۸۴	DCAB

Dietary Cation-Anion Balance :DCAB

* پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس به صورت آشامیدنی استفاده شد.

به ازای هر کیلوگرم جیره: ۸۴۰۰ واحد بین المللی ریتینول استات، ۱۸۰۰ واحد بین المللی کوله کلسیفرول، ۱۲/۵ واحد بین المللی دی ال-آلفا توکوفرل، ۱/۷۶ میلی گرم منادیون سدیم بای سولفات، ۰/۱۲ میلی گرم بیوتین، ۱/۲ میلی گرم تیامین، ۳/۲ میلی گرم ریبولوین، ۶/۴ میلی گرم کلسیم دی پنتوتات، ۱/۹۷ میلی گرم پیریدوکسین، ۲۸ میلی گرم نیکوتینیک اسید، ۰/۰۱ میلی گرم سیانو کوبالامین، ۳۲۰ میلی گرم کولین کلراید، ۰/۳۸ میلی گرم فولیک اسید، ۶۰ میلی گرم سولفات منگنز، ۸۰ میلی گرم سولفات آهن، ۵۱/۷۴ میلی گرم اکسید روی، ۸ میلی گرم سولفات مس، ۰/۸ میلی گرم کلراید ید، ۰/۲ میلی گرم سلنات سدیم.

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی.

کل دوره پرورشی (۱-۴۲ روزگی)			گروه‌ها
ضریب تبدیل غذایی	افزایش وزن	خوراک مصرفی	جنسیت
	گرم	گرم	
۱/۹۹	۲۳۷۸/۱۶	۵۴۲۸/۷۱	مرغ
۱/۹۷	۲۴۱۴/۰۰	۵۳۰۸/۶۱	خروس
			آفلاتوکسین
۱/۹۲ ^b	۲۵۹۱/۶۹ ^a	۵۶۵۹/۴۵ ^a	شاهد
۲/۰۴ ^a	۲۲۰۰/۴۷ ^b	۵۰۷۷/۸۷ ^b	۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم
			پروبیوتیک
۲/۰۲	۲۲۴۸/۰۶ ^b	۵۱۱۸/۰۱ ^b	شاهد
۱/۹۴	۲۵۴۴/۱۰ ^a	۵۶۱۹/۳۱ ^a	10 ⁹ cfu/ml
۰/۰۲۶۶	۱۹/۲۹۵۶	۶۰/۵۴۱۲	SEM ¹
			تیمارها
۱/۹۲	۲۶۰۱/۸۳ ^a	۵۷۰۰/۶ ^a	شاهد خروس
۲/۰۹	۲۵۶۰/۴۲ ^a	۵۵۷۷/۳ ^a	شاهد مرغ
۲/۱۵	۱۹۱۷/۸۵ ^b	۴۶۶۹/۶ ^b	آفلاتوکسین B1 + شاهد خروس
۲/۰۹	۱۹۱۲/۱۴ ^b	۴۵۲۴/۵ ^b	آفلاتوکسین B1 + شاهد مرغ
۱/۹۲	۲۶۳۵/۲۸ ^a	۵۷۵۶/۷ ^a	پروبیوتیک + شاهد خروس
۱/۹۲	۲۵۶۹/۲۳ ^a	۵۶۰۳/۱ ^a	پروبیوتیک + شاهد مرغ
۱/۹۶	۲۵۰۱/۰۴ ^a	۵۵۸۷/۹ ^a	آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک + شاهد خروس
۱/۹۷	۲۴۷۰/۸۷ ^a	۵۵۲۹/۵ ^a	آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک + شاهد مرغ
۰/۰۵۳۲	۳۸/۵۹۱۲	۱۲۱/۰۸۲۵	SEM
			P مقادیر
۰/۰۰۴۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	آفلاتوکسین B1
۰/۰۵۵۹	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	پروبیوتیک
۰/۰۶۰۸	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	آفلاتوکسین B1 * پروبیوتیک
۰/۶۷۹۳	۰/۲۰۷۶	۰/۱۷۹۸	جنس
۰/۷۷۷۰	۰/۵۲۱۳	۰/۸۳۳۳	آفلاتوکسین B1 * جنس
۰/۶۱۷۲	۰/۶۵۸۹	۰/۸۷۱۴	پروبیوتیک * جنس
۰/۷۱۱۳	۰/۹۹۸۷	۰/۷۳۶۹	آفلاتوکسین B1 * پروبیوتیک * جنس

* حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۵ درصد است. SEM¹: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های خون‌شناسی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

گروه‌ها	هماتوکریت (%)	گلبول قرمز (number×10 ⁶ /mm ³)	گلبول سفید (number×10 ³ /mm ³)	هموگلوبین (g/dl)
جنسیت				
مرغ	۳۰/۸۷ ^b	۲/۲۴	۲۱۰۰۰/۰۰	۷/۵۲ ^b
خروس	۳۴/۴۵ ^a	۲/۳۶	۲۱۱۶۶/۷	۸/۲۷ ^a
آفلاتوکسین				
شاهد	۳۴/۳۳ ^a	۲/۵۳ ^a	۲۲۸۷۵/۰ ^a	۸/۱۸ ^a
۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم	۳۱/۰۰ ^b	۲/۰۷ ^b	۱۹۲۹۱/۷ ^b	۷/۶۱ ^b
پروبیوتیک				
شاهد	۳۱/۱۲ ^b	۲/۱۰ ^b	۱۹۳۳۳/۳ ^b	۷/۶۶ ^b
10 ⁹ cfu/ml	۳۴/۲۱ ^a	۲/۵۰ ^a	۲۲۸۳۳/۳ ^a	۸/۱۴ ^a
SEM ¹	۰/۳۰۸۴	۰/۰۶۰۷	۴۴۵/۴۸۳۶	۰/۰۹۸۹
تیمارها				
شاهد خروس	۳۷/۰۰ ^a	۲/۵۸ ^a	۲۱۸۳۳/۰۰ ^a	۸/۵۷ ^a
شاهد مرغ	۳۲/۰۰ ^b	۲/۴۸ ^a	۲۲۰۰۰/۰۰ ^a	۷/۸۰ ^b
آفلاتوکسین B1 + شاهد	۲۸/۱۷ ^c	۱/۷۳ ^b	۱۶۸۳۳/۰۰ ^b	۲/۵۰ ^{bc}
خروس				
آفلاتوکسین B1 + شاهد	۲۷/۳۳ ^c	۱/۶۰ ^b	۱۶۶۶۷/۰۰ ^b	۶/۷۷ ^c
مرغ				
پروبیوتیک + شاهد خروس	۳۶/۱۷ ^a	۲/۵۸ ^a	۲۴۰۰/۰۰ ^a	۸/۵۳ ^a
پروبیوتیک + شاهد مرغ	۳۲/۱۷ ^b	۲/۴۷ ^a	۲۳۶۶۷/۰۰ ^a	۷/۸۳ ^{ab}
آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک + شاهد خروس	۳۶/۵۰ ^a	۲/۵۳ ^a	۲۲۰۰۰/۰۰ ^a	۸/۵۰ ^a
آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک + شاهد مرغ	۳۲/۰۰ ^b	۲/۴۳ ^a	۲۱۶۶۷/۰۰ ^a	۷/۶۸ ^{abc}
SEM	۰/۶۱۶۹	۰/۱۲۱۳	۹۱۰/۹۶۷۱	۰/۱۹۸۲
P value				
آفلاتوکسین B1	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۹
پروبیوتیک	<۰/۰۰۰۱	۰/۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳۵
آفلاتوکسین	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۲۵۸	۰/۰۰۳۵
B1* پروبیوتیک	<۰/۰۰۰۱	۰/۲۰۸۳	۰/۷۹۹۱	<۰/۰۰۰۱
جنس	۰/۰۴۱۹	۰/۹۶۱۹	۰/۸۹۸۷	۰/۸۸۳۵
آفلاتوکسین B1* جنس	۰/۱۳۴۳	۰/۹۶۱۹	۰/۷۹۹۱	۰/۹۷۶۶
پروبیوتیک* جنس	۰/۰۱۰۸	۰/۸۸۶۰	۰/۸۹۸۷	۰/۷۹۲۱
آفلاتوکسین B1* پروبیوتیک* جنس				

* حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۵ درصد است. SEM¹: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم جوجه‌ها گوستی در ۴۲ روزگی

گروه‌ها	آسپارات آمینوترانسفراز	آلانین آمینوترانسفراز	لاکتات دهیدروژناز	آلکالین فسفاتاز
جنسیت	(IU/l)			
مرغ	۲۳۸/۱۷	۳/۸۲	۲۳۷/۵	۸۱۳۳/۸
خروس	۲۲۳/۸۳	۴/۰۱	۲۳۳۰/۹	۸۰۷۷/۷
آفلاتوکسین				
شاهد	۱۹۹/۳۳ ^b	۳/۳۷ ^b	۱۹۵۰/۰ ^b	۷۴۷۳/۸ ^b
۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم	۲۶۲/۶۲ ^a	۴/۴۵ ^a	۲۷۵۸/۴ ^a	۸۱۳۷/۷ ^a
پروبیوتیک				
شاهد	۲۹۰/۲۵ ^a	۴/۳۳ ^a	۲۷۹۷/۶ ^a	۸۵۲۷/۲
10 ⁹ cfu/ml	۱۷۱/۷۵ ^b	۳/۵۰ ^b	۱۹۱۰/۸ ^b	۷۶۸۴/۳
SEM ¹	۱۳/۶۷۹۶	۰/۱۶۶۳	۱۱۹/۴۶۹۸	۳۴۵/۵۷۳۸
تیمارها				
شاهد خروس	۲۳۶/۰۰ ^{abc}	۳/۶۳ ^{bc}	۱۸۳۳/۳ ^b	۷۴۸۳/۳ ^{ab}
شاهد مرغ	۲۱۷/۰۰ ^{bc}	۳/۰۳ ^c	۲۱۵۰/۰ ^b	۷۱۲۴/۷ ^{ab}
آفلاتوکسین B1 + شاهد خروس	۳۶۰/۰۰ ^a	۵/۶۰ ^a	۳۶۳۳/۳ ^a	۱۰۳۱۰/۷ ^a
آفلاتوکسین B1 + شاهد مرغ	۳۴۸/۰۰ ^{ab}	۵/۰۵ ^{ab}	۳۵۷۳/۷ ^a	۹۱۹۰/۰ ^{ab}
پروبیوتیک + شاهد خروس	۱۹۰/۰۰ ^c	۳/۰۰ ^c	۱۹۵۰/۰ ^b	۶۷۸۳/۳ ^b
پروبیوتیک + شاهد مرغ	۱۵۴/۳۳ ^c	۳/۰۶ ^{bc}	۱۸۶۶/۷ ^b	۸۵۰۳/۷ ^{ab}
آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک + شاهد خروس	۱۶۶/۶۷ ^c	۳/۸۰ ^{bc}	۲۰۹۳/۳ ^b	۷۷۳۳/۳ ^{ab}
آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک + شاهد مرغ	۱۷۶/۰۰ ^c	۳/۳۸ ^c	۱۷۳۳/۳ ^b	۷۷۱۶/۷ ^{ab}
SEM	۲۷/۳۵۹۲	۰/۳۳۲۷	۲۳۸/۹۳۹۶	۶۹۱/۱۴۷۶
P value				
آفلاتوکسین B1	۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۲	۰/۰۱۹۹
پروبیوتیک	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۱۰۳۸
آفلاتوکسین B1 * پروبیوتیک	۰/۰۰۴۴	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۰۲	۰/۰۲۷۸
جنس	۰/۴۶۹۵	۰/۴۴۹۲	۰/۷۸۶۳	۰/۹۱۰۱
آفلاتوکسین B1 * جنس	۰/۵۱۱۲	۰/۲۲۱۶	۰/۴۳۸۳	۰/۲۱۹۴
پروبیوتیک * جنس	۰/۹۵۲۷	۰/۱۱۶۱	۰/۳۱۵۵	۰/۱۲۳۰
آفلاتوکسین B1 * پروبیوتیک * جنس	۰/۶۳۰۱	۰/۱۸۵۰	۰/۸۸۴۶	۰/۶۲۴۷

* حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۵ درصد است. SEM¹: خطای استاندارد میانگین‌ها.

Abdel-Wahhab, M.A.; Aly, S.E. (2005). Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *Journal of Applied Toxicology*. 25:218–223.

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر عیار پادتن تولید شده علیه واکسن نیوکاسل، آنتی بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند و افزایش ضخامت پوست در اثر چالش با فیتوهماکلوتین در جوجه‌های گوشتی

گروه‌ها	ND ¹ 14	ND32	SRBC ² 32	SRBC37	PHA ³
جنسیت					
مرغ	۲/۳۹۶	۱/۸۷	۲/۰۰	۳/۹۲	۰/۴۷
خروس	۲/۴۰۰	۱/۹۲	۲/۰۴	۴/۱۴	۰/۴۷
آفلاتوکسین					
شاهد	۲/۸۳ ^a	۲/۳۵ ^a	۲/۴۲ ^a	۴/۶۰ ^a	۰/۵۸ ^c
۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم	۱/۹۶ ^b	۱/۴۴ ^b	۱/۶۲ ^b	۳/۴۵ ^b	۰/۳۷ ^b
پروبیوتیک					
شاهد	۲/۰۰ ^b	۱/۵۰ ^b	۱/۶۴ ^b	۳/۵۶ ^b	۰/۳۵ ^b
10 ⁹ cfu/ml	۲/۷۹ ^a	۲/۲۹ ^a	۲/۳۹ ^a	۴/۵۰ ^a	۰/۵۹ ^a
SEM ¹	۰/۱۱۳۴	۰/۰۵۷۰	۰/۱۳۰۱	۰/۱۸۲۲	۰/۰۳۱۹
تیمارها					
شاهد خروس	۲/۶۶۷ ^a	۲/۰۰ ^b	۲/۱۷ ^a	۴/۴۲ ^a	۰/۵۳ ^a
شاهد مرغ	۲/۶۶۷ ^a	۲/۰۰ ^b	۲/۲۵ ^a	۴/۵۰ ^a	۰/۴۸ ^a
آفلاتوکسین B1 + شاهد خروس	۱/۳۳۳ ^b	۱/۰۰ ^c	۱/۱۷ ^b	۲/۶۷ ^b	۰/۱۸ ^b
آفلاتوکسین B1 + شاهد مرغ	۱/۳۳۳ ^b	۱/۰۰ ^c	۱/۰۰ ^b	۲/۶۷ ^b	۰/۲۱ ^b
پروبیوتیک + شاهد خروس	۳/۰۰۰ ^a	۲/۷۵ ^a	۲/۶۷ ^a	۵/۰۰ ^a	۰/۶۶ ^a
پروبیوتیک + شاهد مرغ	۳/۰۰۰ ^a	۲/۶۷ ^a	۲/۵۸ ^a	۴/۵۰ ^a	۰/۶۵ ^a
آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک + شاهد خروس	۲/۶۰۰ ^a	۱/۹۲ ^b	۲/۱۷ ^a	۴/۵۰ ^a	۰/۵۳ ^a
آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک + شاهد مرغ	۲/۵۸۳ ^a	۱/۸۳ ^b	۲/۱۷ ^a	۴/۰۰ ^a	۰/۵۵ ^a
SEM	۰/۲۲۶۸	۰/۱۱۴۱	۰/۲۶۰۲	۰/۳۶۴۴	۰/۰۶۳۷
مقادیر P					
آفلاتوکسین B1	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۴	<۰/۰۰۰۱
پروبیوتیک	۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۲۲	<۰/۰۰۰۱
آفلاتوکسین B1 * پروبیوتیک	۰/۰۱۰۸	۰/۳۱۷۱	۰/۰۸۸۹	۰/۰۲۳۴	۰/۰۳۰۳
جنس	۰/۹۷۹۶	۰/۶۱۲۶	۰/۸۲۳۷	۰/۳۸۷۰	۰/۹۹۲۷
آفلاتوکسین B1 * جنس	۰/۹۷۹۶	۱/۰۰	۰/۸۲۳۷	۰/۹۳۶۶	۰/۵۳۹۳
پروبیوتیک * جنس	۰/۹۷۹۶	۰/۶۱۲۶	۱/۰۰	۰/۳۰۸۹	۰/۸۴۷۱
آفلاتوکسین B1 * پروبیوتیک * جنس	۰/۹۷۹۶	۱/۰۰	۰/۶۵۶۷	۰/۹۳۶۶	۰/۸۰۴۲

* حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۵ درصد است. SEM⁴ = خطای استاندارد میانگین‌ها
 ND¹: عیار پادتن تولید شده علیه واکسن نیوکاسل، SRBC²: آنتی بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند؛ PHA³: فیتوهماکلوتین.

منابع

- Afzali, N., and Devegowda, G. (2004). The effect of graded levels of dietary aflatoxin on certain biochemical parameters in broiler breeders. WPC 2004, XXII World's Poultry Congress. Istanbul, Turkey.
- Ahmed, S.T., Islam, M., Mun, H-S., Sim, H-J., Kim, Y-J., and Yang, C-J. (2014). Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* as a probiotic strain on growth performance, cecal microflora, and fecal noxious gas emissions of broiler chickens. *Poultry Science*. 93: 1963–1971.
- Bagherzadeh Kasmani, F.; Karimi Torshizi, M.A.; Allameh, A. and Shariatmadari, F. (2012). A novel aflatoxin-binding *Bacillus* probiotic: Performance, serum biochemistry, and immunological parameters in Japanese quail. *Poultry Science*. 91: 1846–1853.
- Barati, M., Chamani, M., Mousavi, S.N., Hoseiniand, S.A., and Taj Abadi Ebrahimi, M. (2018). Effects of biological and mineral compounds in aflatoxin-contaminated diets on blood parameters and immune response of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*. 46 (1): 707–713.
- Bryden, W.L. (2012). Mycotoxin contamination of the feed supply chain: implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science Technology*. 173(1-2): 134-158.
- Cao, H., Liu, D.L., Mo, X.M., Xie, C.F., and Yao, D.L. (2011). A fungal enzyme with the ability of aflatoxin B₁ conversion: purification and ESI-MS/MS identification. *Microbiology Research*. 166: 475–483.
- Chang, X., Wu, Z., Wu, S., Dai, Y., and Sun, C. (2015). Degradation of ochratoxin A by *Bacillus amyloliquefaciens* ASAG1. *Food additives and contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure and risk assessment*. 32: 564–57.
- Corcuera, L.A., vettorazzi, A., Arbillaga, L., Gonzalez-Penas, E., and Lopez De Cerain, A. (2012). An approach to the toxicity and toxicokinetics of aflatoxin B₁ and ochratoxin after simultaneous oral administration to fasted F344 rats. *Food Chemistry Toxicology* 50: 3440-3446.
- Corrier, D.E., and Deloach, J.R. (1990). Evaluation of Cell Mediated Cutaneous Basophile Hypersensitivity in Young Chickens by an Interdigital Skin Test. *Poultry Science*. 69: 403-408.
- Council for Agricultural Science and Technology (CAST) (2002). Mycotoxins: risks in plant, animal, and human systems. Ames, IA: Council for Agricultural Science and Technology.
- Dhanapal, S.K., Rao, S., Govindaraju, P.K.P., Hukkeri, R., and Mathesh, K. (2014). Ameliorative efficacy of citrus fruit oil in aflatoxin-cosis in broilers: A growth and biochemical study. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 38: 207–211.
- El-Nezami, H., Kankaanpaa, P., Salminen, S. and Ahokas J. (1998). Physicochemical alterations enhance the ability of dairy strains of lactic acid bacteria to remove aflatoxin from contaminated media. *Journal of Food Protection*. 61:466-468.
- Elsanhoty, R.M., Salam, S.A., Ramadan, M.F. and Badr, F.H. (2014). Detoxification of aflatoxin M₁ in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria. *Journal of food control*. 43: 129-134.
- Fan, Y., Zhao, L., Ji, C., Li, X., Jia, R., Xi, L., Zhang, J., and Ma, Q. (2015). Protective Effects of *Bacillus subtilis* ANSB060 on serum biochemistry, histopathological changes and antioxidant enzyme activities of broilers fed moldy peanut meal naturally contaminated with aflatoxins. *Toxins*. 7(8):3330-43.
- Fan, Y., Zhao, L., Ma, Q., Li, X., Shi, H., Zhou, T., zhang, J., and Ji, C. (2013). Effects of *Bacillus subtilis* ANSB060 on growth performance, meat quality and aflatoxin residues in broilers fed moldy peanut meal naturally contaminated with aflatoxins. *Food*

- Chemistry Toxicology*. 59:748-53.
- Fazeli, M.R., Hajimohammadali, M., Moshkani, A., Samadi, N., Jamalifar, H., and Khoshayand, M.R. (2009). Aflatoxin B1 binding capacity of autochthonous strains of lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection*. 72(1):189-92.
- Földes, T., Banhegyi, I., Herpai, Z., Varga, L., and Szigeti, J. (2000). Isolation of Bacillus strains from the rhizosphere of cereals and in vitro screening for antagonism against phytopathogenic, food-borne pathogenic and spoilage micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology*. 89:840 – 846.
- Fu, X.Q. and Liu, Z.J. (1997). Microhemagglutination inhibition (HI) test. Page 97 in handbook of Poultry Diseases Detection. X.Q. Fu and Z.J. Liu, ed. *China Agriculture University Press, Beijing, China*.
- Gao, X., Ma, Q., Zhao, L., Lei, Y., Shan, Y., and Ji, C. (2011). Isolation of Bacillus subtilis: screening for aflatoxins B1, M1, and G1 detoxification. *European Food Research Technology*. 232(6):957-62.
- Guan, S., Yin, Y., Zhou, T., Xie, M., Ruan, Z., and Young, J.C. (2011). Microbial strategies to control aflatoxins in food and feed. *World Mycotoxin Journal*. 4:413-424.
- Huwig, A., Freimund, S., Käppeli, O., and Dutler, H. (2001). Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*. 122:179-188.
- IARC. (2002). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Some traditional herbal medicine, some mycotoxins, naphthalene and styrene. No 82. IARC, Lyon, France
- Kana, J.R., Ngoula, F., Tchoffo, H., Tadondjou, C.D., Sadjo, Y.R., Tegua, A., and Gbemenou, J. B. (2014). Effect of biocharcoals on hematological, serum biochemical and histological parameters in broiler chickens fed aflatoxin B1-contaminated diets. *Journal of Animal Science Advances*. 4(7): 939-948
- Lawal, M., and Bolu, S. A. (2014). Effects of gallic acid (isolated from grape rind) on serum biochemistry, histology and haematology of Aspergillus flavus challenged broilers. *Ethiopian Journal of Environmental Studies and Management*. 7: 840-849.
- Ma, Q.G., Gao, X., Zhou, T., Zhao, L.H., Fan, Y., Li, X.Y, Lie, Y.P., Ji, C., and Zhang, J.Y. Protective effect of Bacillus subtilis ANSB060 on egg quality, biochemical and histopathological changes in layers exposed to aflatoxin B1. *Poultry Science*. 91(11):2852-7.
- Mohaghegh, A., Chamania, M., Shivazada, M., Sadeghia, A.A., and Afzalib, N. (2017). Effect of esterified glucomannan on broilers exposed to natural mycotoxin-contaminated diets. *Journal of Applied Animal Research*. 45:285-291.
- Mohamed, E.Z., (2011). Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemistry Society*. 15(2): 129-44.
- Natt, M.P., and Herrick, C.A. (1952). A new diluent for counting the erythrocytes and leukocytes for chickens. *Poultry Science*. 31: 735-738.
- Oguz, H.; Keçeci, T.; Birdane, Y.O.; Önder, F.; and Kurtoglu, V. (2000). Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *Research Veterinary Science*. 69:89-93.
- Petchkongkaew, A., Taillandier, P., Gasaluck, P., and Lebrihi, A. (2008). Isolation of Bacillus spp. from Thai fermented soybean (Thua-nao): screening for aflatoxin B1 and ochratoxin A detoxification. *Journal of Applied Microbiology* 104(5):1495-502.
- Peterson, A. L., Qureshi, M. A., Ferket, P. R. and Fuller, J. C. (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.

- Sangare, L., Zhao, Y., Folly, Y.M.E, Chang, J., Li, J., Selvaraj, J.N., Xing, F., Zhou, L., Wang, Y., and Liu, Y. (2014). Aflatoxin B1 degradation by a *Pseudomonas* strain. *Toxins* 6(10):3028-40.
- SAS Institute. (2013) SAS User's Guide: Statistics. Version 9/2th SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Shotwell, O.L., Hesseltine, C.V., Stubblefield, R.D. and Sorenson, W.G. (1966). Production of aflatoxin on rice. *Applied and Environmental of Microbiology*. 14: 425-428.
- Siahmoshteh, F., Siciliano, I., Banani, H., Hamidi-Esfahani, Z., Razzaghi-Abyaneh, M., Gullino ML., and Spadaro, D. (2017). Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens* in the control of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxins production on pistachio. *International Journal of Food Microbiology*. 254: 47-53.
- Stoev, S.D. (2013). Food safety and increasing hazard of mycotoxin occurrence in foods and feeds. *Critical Review Food Science and Nutrition*. 53(9):887-901.
- Tung, HT., Cook, F.W., Wyatt, R.D., and Hamilton, P.B. (1975). The anemia caused by aflatoxin. *Poultry Science*. 54: 1962-1969.
- Topcu, A., Bulat, T., Wishah, R., and Boyac I.H. (2010). Detoxification of aflatoxin B1 and patulin by *Enterococcus faecium* strains. *International Journal of Food Microbiology*. 139: 202-205.
- Wang, J.S., Luo, H., Billamf, M., Wang, Z., Guan, H., Tang, L., Goldston, T., Afriyie-Gyawu, E., Lovett, C., Griswold, J., Brattin, B., Taylor, R. J., Huebner, H. J., and Phillips, T.D. (2005). Short-term safety evaluation of processed calcium montmorillonite clay (NovaSil) in humans. *Food Additives and Contaminants*. 22:270-279.
- Wegmann, T., and Smithies, O. (1966). A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies. *Transfusion*. 6:67-75.
- Wu, L., Liao, P., He, L.Q., Ren, W., Yin, J., Duan, J., and Li, Tiejun. (2015a). Growth performance, serum biochemical profile, jejunal morphology, and the expression of nutrients transporter genes in deoxynivalenol (DON)-challenged growing pigs. *BMC Veterinary Research*. 11:144e54.
- Wu, Li., Liao, Peng., He, L.Q., Feng, Z., Ren, W., Yin, J., Yin, J., Duan, J., Li, T., and Yin, Y. (2015b). Dietary L-Arginine supplementation protects weanling pigs from deoxynivalenol-induced toxicity. *Toxins*. 7:1341e54.
- Wu, L., Wang, W., Yao, K., Zhao, T., Yin, J., Li, T.N., Yang, L., He, L.Q., Yang, X.I., Zhang, H.G., Wang, Q., Huang, R., and Yin, Y.G (2013). Effects of dietary arginine and glutamine on alleviating the impairment induced by deoxynivalenol stress and immune relevant cytokines in growing pigs. *Plos One*. 8 (7): 1-7.
- Wu, M., Xiao, H., Ren, W., Yin, J., Hu, J., Duan, J., Liu, G., Tan, B., Xiong, X., Oladele, A., Adeola, K.Y., Yin, Y., and Li, T.U. (2014). An NMR-based metabolomic approach to investigate the effects of supplementation with glutamic acid in piglets challenged with deoxynivalenol. *Plos One*. 9 (12): 1-15.
- Xu, J., Wang, H., Zhu, Z., Ji, F., Yin., X, Hong, Q., and Shi, J. (2016). Isolation and characterization of *Bacillus amyloliquefaciens* ZDS-1: exploring the degradation of zearalenone by *Bacillus* spp. *Food Control*. 68: 244-250.
- Yehia RS. Aflatoxin detoxification by manganese peroxidase purified from *Pleurotus ostreatus*. *Braz J Microbiol* 2014;45(1):127e33.
- Yin, Y., Yan, L., Jiang, J., and Ma, Z. (2008). Biological control of aflatoxin contamination of crops. *Journal of Zhejiang University Science*. 9(10): 787-92.