Archive of SID

بررسی افزودن آفلاتوکسین B_1 و اسانس ترکیبی پوسته بادام هندی و دانه کرچک بر تخمیر شکمبه‌ای جیره غذایی دام در شرایط آزمایشگاهی

- **ذبیح‌اله نعمتی***: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تبریز، اهر، ایران
- **مقصود بشارتی**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تبریز، اهر، ایران
- **امیر کریمی**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تبریز، اهر، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر آفلاتوکسین B1 بر تخمیر شکمبه‌ای جیره‌غذایی و امکان کاهش اثرات سوء آفلاتوکسین B1 بر تخمیر شکمبه‌ای در حضور افزودنی اسانس ترکیبی پوسته بادام هندی و دانه کرچک در شرایط آزمایشگاهی بود. این مطالعه شامل دو آزمایش بود. در آزمایش اول تیمارهای آزمایشی شامل جیره‌غذایی پایه همراه با سطوح مختلف آفلاتوکسین B1 به‌میزان ۰، ۰/۵، ۱ و۱/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند. تیمارهای آزمایشی در آزمایش دوم شامل جیره غذایی آلوده با آفلاتوکسین B1 (۱ میکروگرم در میلی‌لیتر) به‌همراه سطوح مختلف اسانس گیاهی به‌ترتیب به‌میزان ۰، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره‌غذایی بودند. میزان گاز تولیدی در ۲، ٤، ٦، ۸، ۱۲، ۲٤، ۳٦، ٤۸، ۷۲، ۹٦ و ۱۲۰ساعت بعد از عمل انکوباسیون انجام ثبت‌شد. داده‌های به‌دست آمده در یک طرح آماری کاملاً تصادفی با ۳ تکرار آنالیز گردید. نتایج نشان داد میزان گاز تولیدی بخش نامحلول و نرخ ثابت تولید گاز در گروه آفلاتوکسین با سطح ۰/۲ در مقایسه با گروه شاهد کم‌تر بود. بیش‌ترین گازتولیدی مربوط به تیمار شاهد و کم‌ترین گاز تولیدی مربوط به تیمار دریافت‌کننده بالاترین سطح آفلاتوکسین بود (P<۰/۰۵). افزودن آفلاتوکسین سبب کاهش فراسنجه‌های تخمینی شامل انرژی‌متابولیسم، انرژی‌خالص و قابلیت هضم ماده‌آلی در ماده خشک شد (P<۰/۰۵). اسانس دانه‌کرچک و بادام با افزایش تولیدگاز و فراسنجه‌های تخمینی سبب کاهش نسبی اثرات منفی آفلاتوکسین بر تخمیر شکمبه در شرایط آزمایشگاهی شد. می‌توان نتیجه‌گرفت آفلاتوکسین سبب کاهش قابلیت هضم و تخمیر شکمبه‌ای شد و افزودن اسانس سبب بهبود تخمیر شکمبه‌ای جیره‌غذایی آلوده به آفلاتوکسین در شرایط برون تنی شد.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین، اسانس گیاهی، بادام، تولید گاز و دانه کرچک

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: znnemati@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

آلودگی مواد خوراکی توسط قارچ‌های مختلف یک مساله مهم جهانی است. مایکوتوکسین‌ها به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط قارچ‌ها هستند که باعث بروز مسمومیت در حیوانات و انسان می‌شود. آفلاتوکسین در میان سموم قارچی از سمی‌ترین مایکوتوکسین‌ها است و توسط گونه‌های فلاووس چون آسپرژیلوس و پارازیتیکوس تولید می‌شود و شامل آفلاتوکسین B1، آفلاتوکسین B2، آفلاتوکسین G1 و آفلاتوکسین G2 می‌باشند (Lindemann و همکاران، ۱۹۹۳). آفلاتوکسین B_1 سمی‌ترین و فراوان‌ترین نوع آفلاتوکسین در طبیعت است و یکی از آلودگی‌های موجود در مواد خوراکی به‌ویژه در غلات می‌باشد (Azzoune و همکاران، ۲۰۱۶؛ Masod و همکاران، ۲۰۱۵). مصرف سم آفلاتوکسین توسط حیوانات منجر به کاهش راندمان رشد، کاهش تولید و عوارض بافت‌شناسی ازجمله آسیب‌های کبدی، سرکوب سیستم ایمنی و عدم مقاومت در برابر بیماری‌های عفونی می‌گردد (اسدزاده و همکاران، ۱۳۹۳؛ Moschini و همکاران، ۲۰۰۸). از روش‌های مختلف بیولوژیکی (باکتری، مخمر، قارچ و آنزیم)، شیمیایی (آمیناسیون و الکالیزاسیون) و فیزیکی (بنتونیت، کربن فعال و هیدرات سدیم کلسیم) برای کاهش اثرات مضر آلودگی‌های آفلاتوکسین در خوراک و تغذیه استفاده شده است (Samarajeewa و همکاران، ۱۹۹۰). ازجمله روش‌های ایمن خنثی‌سازی آفلاتوکسین روش بیولوژیکی می‌باشد. باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها با مکانیسم‌های متفاوتی سبب تجزیه آفلاتوکسین B1 می‌شوند (Verheecke و همکاران، ۲۰۱۶). میکروفلور شکمبه اولین خط دفاعی در برابر مایکوتوکسین‌ها هستند و بخشی از سیستم اولیه تبدیل زیستی مایکوتوکسین به ترکیبات با سمیت کم‌تر را تشکیل می‌دهند (Schollenberger و همکاران ۲۰۰۶)، به‌طوری‌که گزارش کردند نشخوارکنندگان در مقایسه با غیرنشخوارکنندگان کم‌تر در معرض مسمومیت خوراک‌ها با مایکوتوکسین‌ها هستند (Fink و همکاران، ۲۰۰۸). اما میکروفلور شکمبه توانایی نامحدود در تجزیه سموم قارچی ندارند. تعداد زیادی از مایکوتوکسین‌ها با اثر ضدباکتریایی، ضدپروتوزوایی و ضدقارچی محیط شکمبه را دستکاری کرده و سبب محدود کردن کارایی میکروفلورها در خنثی‌سازی مایکوتوکسین‌ها می‌شوند. براساس گزارشی آفلاتوکسین B1 در مایع شکمبه در شرایط *in vitro* به‌میزان ۴۲ درصد تجزیه می‌شود (Karlovsky و همکاران، ۱۹۹۹). با افزایش مقدار آفلاتوکسین B1 در شرایط *in vitro* فعالیت میکروبی در مایع شکمبه کاهش می‌یابد البته این تاثیر در جیره بر پایه علوفه خشک بیش‌تر از جیره غنی از ذرت می‌باشد (Jiang و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش کردند که افزودن سطوح ۰/۸۰ و ۰/۱ آفلاتوکسین B1 به مایع شکمبه گونه‌های مختلف حیوانات و خوراک آن‌ها می‌تواند تجزیه و هضم را تحت تاثیر قرار دهد (Upadhaya و همکاران، ۲۰۰۹). مصرف آفلاتوکسین B1 در سطوح بالاتر از ۲۰۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه در محیط کشت ثابت سبب کاهش نرخ ناپدید شدن ماده خشک و نیتروژن آمونیاکی می‌شود (Fehr و همکاران، ۱۹۷۰). هم‌چنین افزودن آفلاتوکسین B1 خصوصیات تخمیری شکمبه را تحت تاثیر قرار داده و به‌دنبال آن میزان تولید گاز، نیتروژن آمونیاکی و قابلیت هضم ماده خشک را کاهش داد، بنابراین باید آلودگی خوراک نشخوارکنندگان به آفلاتوکسین را کنترل و مدیریت کرد (Danesh mesgaran و همکاران، ۲۰۱۳). تجزیه‌پذیری آفلاتوکسین به‌واسطه اسانس‌ها، عصاره گیاهی و میکروارگانیسم‌ها توسط برخی محققین گزارش شده است (Adebo و همکاران، ۲۰۱۷؛ Iram و همکاران، ۲۰۱۶). اسانس‌های گیاهی مخلوطی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان و ترکیباتی فرار با ماهیت چربی‌دوست می‌باشند که از برخی گیاهان طی فرایند تقطیر با بخار و یا روش استفاده از حلال جدا می‌شوند. اسانس‌ها دارای خصوصیات ضدمیکروبی، ضدویروسی و ضدقارچی می‌باشند (Lopez و همکاران، ۲۰۰۷). این خصوصیات بسته به نوع گیاه از لحاظ عملکرد و شدت تأثیر متفاوت می‌باشند. بسیاری از مطالعات اثرات تحریکی و مهاری اسانس‌های گیاهی روی انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌ها تحت شرایط درون تنی (*in vitro*) و برون تنی (*in vivo*) را گزارش کردند (اسدزاده و همکاران، ۱۳۹۳؛ Castillejos و همکاران، ۲۰۰۶؛ Curtis، ۱۹۹۶). اسانس‌های گیاهی و متابولیت‌های ثانویه سازنده آن‌ها اغلب خاصیت ضدمیکروبی از خود را از طریق خاصیت آب‌گریزی (چربی دوستی) اعمال می‌کنند و در بین دو لایه چربی غشای پلاسمایی باکتری‌ها تجمع یافته و از آن‌جا خاصیت خود را اعمال می‌نمایند. برخی از آن‌ها نفوذپذیری غشاء را تغییر می‌دهند، برخی با پروتئین‌های غشاء واکنش نشان می‌دهند و بعضی دیگر مستقیماً با ترکیبات سیتوپلاسمی واکنش می‌دهند. اسانس‌های گیاهی پتانسیل بالای آنتی‌اکسیدانی دارند (Kamatou و همکاران، ۲۰۰۸) و در خنثی‌سازی آفلاتوکسین می‌تواند دخالت کند. اسانس‌های گیاهی حتی در غلظت بسیار کم در اواسط مرحله رشد، فعالیت ضدقارچی از خود نشان می‌دهند. به‌عنوان مثال، Deans و همکاران (۱۹۹۰) نشان دادند که ۱ الی ۱۰ میکرولیتر اسانس مرزنجوش در محیط کشت باعث کاهش رشد گونه قارچ‌های میله‌ای آسپرژیلوس فلاووس، نایگر، اوکراکوس، پارازتلیکوس و تریکودرما وایریده به‌میزان ۹۸ درصد شدند. ارزیابی مایکوتوکسین با روش *in vivo* مستلزم هزینه بالا و به‌خطر انداختن سلامتی حیوانات می‌باشد از این‌رو باید از روش *in vitro* برای ارزیابی روش‌های خنثی‌سازی سموم قارچی بهره گرفت. حدود ۲۵٪ کل دانه بادام هندی (*Anacardum accidentale*) را پوسته تشکیل می‌دهد و مایع حاصل از پوسته ترکیبی چسبنده، روغنی و به رنگ قهوه‌ای سوخته است که اسانس حاصل از

www.SID.ir

Archive of SID

آن غنی از لیپیدهای ایزوپرنوئید فنولی از قبیل اسیدآناکاردیک، کاردانول کاردول و متیل کاردول است. از فعالیت‌های بیولوژیکی ترکیبات اسانس پوسته بادام هندی می‌توان به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌بیوتیکی آن اشاره کرد (López و همکاران، ۲۰۱۲). دانه کرچک هم‌چنین دارای ترکیب فعال اسید ریسینولئیک است که اسانس آن دارای اثرات ضدمیکروبی و ضدالتهابی است. بنابراین این آزمایش به‌منظور بررسی تاثیر افزودن آفلاتوکسین B1 بر فعالیت تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمبه در شرایط *in vitro* و تاثیر اسانس پوسته بادام هندی و دانه کرچک بر کاهش اثرات منفی آفلاتوکسین بر میزان تخمیر جیره غذایی با علوفه یونجه بالا و تولید گاز انجام شد. هم‌چنین امکان کاهش اثرات سوء آفلاتوکسین B1 بر تخمیر شکمبه‌ای در حضور افزودنی اسانس گیاهی بادام هندی و دانه کرچک در شرایط آزمایشگاهی اهداف آزمایش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جیره آزمایشی و افزودنی‌ها: جیره مورد استفاده در این آزمایش جیره کاملاً مخلوط برای گاوهای شیری بود که ترکیبات و تجزیه شیمیایی آن در جدول ۱ آورده شده است. جیره پایه با استفاده از الک ۱ میلی‌متری آسیاب و به‌داخل شیشه‌های سرم ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. آفلاتوکسین در سطوح ۰، ۱، ۱/۵ و ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و اسانس گیاهی در سطوح ۰، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره پایه افزوده شد. تیمارهای آزمایشی آزمایش اول شامل ۱: جیره پایه (شاهد)، ۲: جیره پایه + ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر آفلاتوکسین B_1، ۳: جیره پایه+۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر آفلاتوکسین B_1 و ۴: جیره پایه + ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر آفلاتوکسین B_1 بودند. در آزمایش دوم اسانس گیاهی در سطوح ۰، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره غذایی پایه حاوی یک میکروگرم در میلی‌لیتر آفلاتوکسین افزوده شد. اسانس گیاهی مورد استفاده به‌عنوان یک محصول تجاری تهیه شد که شامل مخلوطی از دو دانه کرچک و پوسته بادام هندی بود. دانه کرچک با نام علمی *Ricinus communis* دارای ترکیب فعال اسید ریسینولئیک و پوسته بادام هندی (*Anacardum accidentale*) حاوی روغن آلکیل فنولیکی بود.

روش تهیه آفلاتوکسین: آفلاتوکسین مورد نیاز به‌روش Nemati و همکاران (۲۰۱۵) تهیه شد. برای این منظور یک ویال سویه استاندارد *Aspergillus Parasiticus NRLL 2999* تهیه و در محیط آزمایشگاهی درون شیشه‌ای تحت شرایط استریل بر روی محیط کشت دکستروز آگار حاوی سیب‌زمینی (potato dextrose agar) کشت گردید. سوسپانسیون اسپور قارچی حاوی $۶/۵\times۱۰^{۶}$ اسپور قارچی تهیه و مقدار دو میلی‌لیتر از آن به‌داخل فلاسک حاوی محیط کشت افزوده شد. سپس محیط کشت تلقیح شده به‌مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در داخل انکوباتور قرار داده شد. محیط کشت تهیه شده خشک شد سپس میزان آفلاتوکسین B_1 آن به‌روش کروماتوگرافی با عملکرد بالا اندازه‌گیری شد. آفلاتوکسین تولیدی در اتانول حل و به‌میزان نیاز به ویال‌ها افزوده شد.

جدول ۱: اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره غذایی مورد استفاده در تیمارهای آزمایشی (جیره پایه)

اجزای خوراکی	درصد
یونجه	۴۱/۶
جو	۱۱/۷۶
ذرت	۱۶/۳۲
کنجاله تخم پنبه	۴/۵۶
سبوس گندم	۱/۹۲
کنجاله سویا	۷/۴۴
فول فت	۲/۸۸
پودر چربی	۰/۴۸
کربنات کلسیم	۰/۳۳۶
نمک طعام	۰/۳۳۶
مکمل موادمعدنی ویتامینی	۱/۲
جوش شیرین	۰/۷۲
اکسیدمنیزیوم	۰/۰۹۶
مخمر	۰/۱۴۴
توکسین بایندر	۰/۰۶۲۴
استخوان	۰/۱۴۴
ملاس	۳/۷۸
تفاله چغندر	۳/۷۸
پنبه دانه	۲/۸۳
ترکیب شیمیایی جیره پایه	**درصد**
پروتئین خام	۱۷
الیاف نامحلول در شوینده خنثی جیره	۳۲/۴
الیاف نامحلول در شوینده خنثی علوفه	۲۱/۲
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی جیره	۲۲/۳
کربوهیدرات‌های غیرفیبری	۴۰/۸
کلسیم	۰/۹
فسفر	۱۰/۴
عصاره اتری	۳/۵

جیره پایه براساس احتیاجات NRC (۲۰۰۱) تنظیم شد.

اندازه‌گیری تولید گاز و پارامترهای تخمینی: به‌منظور اندازه‌گیری تولید گاز آزمایشگاهی از روش Fedorah و همکاران (۱۹۸۳) استفاده شد. در روش فوق، گاز تولیدی در هر ساعت در شیشه‌های حاوی مایع شکمبه و نمونه خوراک معرف میزان تولید گاز می‌باشد. مایع شکمبه ۲ ساعت بعد از وعده خوراک صبحگاهی از دو رأس گوسفند فیستولا گذاری شده، در یک بطری ۵۰۰ میلی‌گرم جمع‌آوری شد. سپس مایع شکمبه در داخل فلاکس آبی با دمای ۳۹ درجه سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. بافر تهیه شده به‌روش مکدوگال (McDougalla و همکاران، ۱۹۴۸) به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو

www.SID.ir

Archive of SID

قسمت بافر) مخلوط شد. سپس سطوح مختلف آفلاتوکسین B1 و اسانس به محتوی شیشه‌ها افزوده شد. به‌منظور تصحیح ماده خشک با منشاء مایع شکمبه تعداد ۳ عدد شیشه بدون آن‌که ماده غذایی ریخته‌شود و فقط دارای مایع شکمبه و بافر بودنددرنظر گرفته شدند.کل شیشه‌ها جهت‌اندازه‌گیری گاز تولیدی به‌داخل دستگاه انکوباتور شیکر با دور ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ درجه سلسیوس، منتقل شد و عمل قرائت و ثبت میزان گاز تولیدی ناشی از تخمیر مواد غذایی در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ساعت بعد از عمل انکوباسیون انجام گرفت.انرژی قابل متابولیسم،انرژی خام و قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک از روش Menke (۱۹۸۸) محاسبه شد:

ME (MJ/kg DM)=

$CF^2$۰/۰۰۰۲۸۶CP+۰/۰۰۵۷GP+۰/۱۳۶+۲/۲

NEL (MJ/kg DM)=

CF^2 ۰/۰۰۰۱۷۳CP+۰/۰۰۳۸GP+۰/۰۹۶+۰/۵۴

DOMD (%) =

CA۰/۰۳۸۷CP+۰/۰۴۹۲GP+۰/۹۰۴۲+۱۶/۴۹

اسیدهای چرب با زنجیر کوتاه از رابطه زیر محاسبه شد:

SCFA (mmol/ ۲۰۰mg DM)= ۰/۰۲۲۲GP- ۰/۰۰۴۲۵

که در این رابطه GP، CP، CF و CA به‌ترتیب گاز تولیدی در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، پروتئین خام،چربی خام و خاکستر خام در ماده خشک می‌باشد. به‌منظور اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز از روش استاندارد (Ørskov و McDonald، ۱۹۷۹) و رابطه زیر استفاده گردید: $Y= b (1-e^{(-ct)})$

که در این رابطه b پتانسیل تولید گاز، c نرخ ثابت تولید گاز، t زمان و y گاز تولیدی در زمان t بود.

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز آماری داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و رویه GLM برنامه آماری SAS (۲۰۰۲) آنالیز شدند مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود: $y_{ij}= \mu+T_i+e_{ij}$

که در آن y_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل، T_i اثر تیمار، e_{ij} خطای آزمایش است.برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

اثر آفلاتوکسین بر میزان تولید گاز در جدول ۲ نشان داده شده است. تیمار شاهد که حاوی جیره غذایی پایه و فاقد آفلاتوکسین بود از ساعت ۴ تا ۱۲۰ انکوباسیون بیش‌ترین حجم گاز تولیدی را نسبت به بقیه تیمارها داشت (p<۰/۰۵). در ساعت ۴ و ۸ انکوباسیون بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. از ساعت ۸ تا پایان زمان انکوباسیون کم‌ترین گاز تولیدی مربوط به تیمار حاوی بیش‌ترین سطح آفلاتوکسین (۱/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) بود. تیمارهای حاوی ۰/۵ (AF1) و ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر (AF2) آفلاتوکسین از ساعت ۸ تا ۱۲۰ اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند اما نسبت به تیمار آفلاتوکسین ۱/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر (AF3)، تولید گاز بیش‌تری داشتند (p<۰/۰۵). در پایان ۱۲۰ ساعت انکوباسیون بیش‌ترین گاز تولیدی مربوط به تیمار شاهد و کم‌ترین گاز تولیدی مربوط به تیمار AF3 بود (جدول ۲). پارامترهای تخمینی تولید گاز پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در جدول ۳آورده شده‌است.در تیمارهای حاوی آفلاتوکسین با کاهش گاز تولیدی میزان پارامترهای تخمینی شامل انرژی متابولیسم، انرژی خالص، قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). فراسنجه‌های تخمینی با افزایش سطح آفلاتوکسین بیش‌تر کاهش یافت. با کاهش تجزیه ماده آلی دیگر پارامترها کاهش یافت به‌طوری‌که پتانسیل و نرخ تولید گاز با افزودن آفلاتوکسین B1 نسبت به تیمار شاهد به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (جدول ۴). هم‌چنین میزان pH مایع شکمبه در انتهای دوره انکوباسیون در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد (P<۰/۰۵).

اثر اسانس گیاهی بر فراسنجه تولید گاز در جیره غذایی آلوده با آفلاتوکسین: اثر اسانس بر میزان تولید گاز در جیره‌های آلوده با آفلاتوکسین در جدول ۵ آورده شده است. افزودن اسانس به‌طورکلی سبب افزایش معنی‌داری در میزان گاز تولیدی گردید (p<۰/۰۵). از ساعت ۴ تا ۱۲۰ زمان انکوباسیون کم‌ترین میزان گاز تولیدی مربوط به تیمار حاوی آفلاتوکسین بود. در انتهای انکوباسیون بیش‌ترین نرخ تولید گاز مربوط به تیمار حاوی بیش‌ترین سطح اسانس گیاهی (E3) و کم‌ترین میزان مربوط به تیمار شاهد (حاوی آفلاتوکسین) مشاهده گردید.میزان تولید گاز در بین سطوح مختلف اسانس معنی‌دار و با افزایش سطح اسانس میزان تخمیر و گاز تولیدی افزایش یافت. افزودن اسانس به جیره در مقایسه با تیمار حاوی آفلاتوکسین سبب افزایش قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک گردید که به‌دنبال آن میزان تولید گاز، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص و اسیدهای چرب زنجیر کوتاه افزایش یافت (جدول ۶) (p<۰/۰۵). هم‌چنین مطابق داده‌های جدول ۷ پتانسیل و نرخ ثابت تولید گاز نیز تحت تاثیر اسانس به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (p<۰/۰۵). به‌طوری‌که با افزایش سطح اسانس گیاهی از ۰/۰۱ به ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم میزان نرخ ثابت تولید گاز از ۰/۰۳۹ به ۰/۰۴۶ و فراسنجه b (پتانسیل تولید گاز) از ۳۸۹ به ۸۶۸ میلی‌لیتر افزایش یافت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: اثر افزودن سطوح مختلف آفلاتوکسین بر میزان تولید گاز شکمبه در شرایط برون تنی

	زمان انکوباسیون								
تیمار	۴	۶	۸	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۲۰
شاهد	۱۱/۲۷	۴۰/۸۳	۹۹/۵۷^{a}	۱۷۸/۵۷^{a}	۲۹۱/۲۹^{a}	۳۶۵/۴۷^{a}	۳۹۴/۸۶^{a}	۴۱۴/۲۴^{a}	۴۲۹/۷۴^{a}
AF1	۱۱/۲۷	۳۹/۸۹	۸۹/۹۲^{b}	۱۵۱/۴۱^{b}	۲۴۵/۲۹^{b}	۳۲۷/۷۳^{b}	۳۶۱/۰۴^{b}	۳۷۷/۶۹^{b}	۳۸۹/۹۵^{b}
AF2	۱۲/۲۹	۴۰/۰۶	۸۷/۱۹^{bc}	۱۴۸/۵۱^{b}	۲۳۹/۲۹^{b}	۳۱۸/۵۱^{b}	۳۶۱/۱۳^{b}	۳۷۳/۶۸^{b}	۳۸۲/۱۸^{b}
AF3	۱۱/۶۱	۳۸/۳۵	۸۰/۵۳^{c}	۱۳۰/۰۷^{c}	۲۰۷/۲۹^{c}	۲۹۱/۹۵^{c}	۳۳۶/۴۵^{c}	۳۵۰/۸۸^{c}	۳۶۰/۱۵^{c}
SEM	۰/۴۵	۱/۰۴	۲/۲۷	۲/۹۷	۴/۶۵	۴/۱۵	۴/۶۳	۴/۸۸	۵/۴۶
P-Value	۰/۳۸۸۹	۰/۴۴۶۸	۰/۰۰۲۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

شاهد: جیره غذایی پایه و AF1، AF2 و AF3: به‌ترتیب شاهد همراه با ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میکروگرم آفلاتوکسین در میلی‌لیتر می‌باشد. میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰۵). SEM: میانگین اشتباه استاندارد. P Value: سطح احتمال معنی‌داری.

جدول ۳: اثر افزودن سطوح مختلف آفلاتوکسین بر pH مایع انکوباسیون و پارامترهای تخمینی تولید گاز

تیمار۱	تولید گاز	ME	NEL	DOMD	SCFA	pH
شاهد	۵۸/۲۸^{a}	۱۰/۱۸^{a}	۶/۱۹^{a}	۷۰/۴۳^{a}	۱/۲۸^{a}	۵/۲^{c}
AF1	۴۹/۰۶^{b}	۸/۹۷^{b}	۵/۳۱^{b}	۶۲۱۵/۰^{b}	۱/۰۹^{b}	۵/۳^{b}
AF2	۴۷/۸۵^{c}	۸/۸۲^{c}	۵/۲۳^{c}	۶۱/۰۵^{c}	۱/۰۷^{c}	۵/۴^{ab}
AF3	۴۱/۴۴^{d}	۷/۹۴^{d}	۴/۵۸^{d}	۵۵/۲۲^{d}	۰/۹۲^{d}	۵/۴^{a}
SEM	۰/۰۰۸	۰/۰۱۱	۰/۰۱۲	۰/۰۲۷	۰/۰۰۸	۰/۰۲۴

شاهد: جیره غذایی پایه و AF1، AF2 و AF3: به‌ترتیب شاهد همراه با ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میکروگرم آفلاتوکسین در میلی‌لیتر می‌باشد. GP: تولید گاز (میلی‌لیتر بر ۰/۲ گرم ماده خشک)، ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، NEL: انرژی خالص (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، DOMD: قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (گرم بر کیلوگرم ماده آلی در ماده خشک)، SCFA: اسیدچرب زنجیر کوتاه (میلی‌مول بر ۰/۲ گرم ماده خشک). میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰۵). SEM: میانگین اشتباه استاندارد.

جدول ۴: اثر افزودن سطوح مختلف آفلاتوکسین بر فراسنجه‌های تولید گاز

فراسنجه	تیمار				سطح معنی‌داری	
	شاهد	AF1	AF2	AF3	SEM	P value
نرخ ثابت تولید گاز، در ساعت (c)	۰/۰۳۷^{a}	۰/۰۳۵^{b}	۰/۰۳۴^{b}	۰/۰۳۱^{c}	۰/۲	<۰/۰۰۰۱
پتانسیل تولید گاز، میلی‌لیتر (b)	۴۳۱/۹۴^{a}	۳۹۶/۳۳^{b}	۳۹۱/۸۵^{c}	۳۷۱/۵^{d}	۱/۹	۰/۰۰۰۱

شاهد: جیره غذایی پایه و AF1، AF2 و AF3: به‌ترتیب شاهد همراه با ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میکروگرم آفلاتوکسین در میلی‌لیتر می‌باشد. میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰۵). SEM: میانگین اشتباه استاندارد. P Value: سطح احتمال معنی‌داری.

جدول ۵: اثر افزودن اسانس دانه کرچک و پوسته بادام بر قابلیت تخمیر میکروبی جیره غذایی آلوده با آفلاتوکسین در شرایط برون تنی

	زمان انکوباسیون								
تیمار	۴	۶	۸	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۲۰
شاهد	۱۲/۲۹^{b}	۴۰/۰۶^{c}	۸۷/۱۹^{d}	۱۴۸/۵۱^{d}	۲۳۹/۰^{d}	۳۱۸/۰^{d}	۳۶۱/۱۳^{c}	۳۷۴/۶۸^{c}	۳۸۲/۱۸^{c}
E1	۱۲/۲۹^{b}	۴۱/۰۸^{c}	۹۶/۱۶^{c}	۱۶۶/۰۲^{c}	۲۶۶/۸۳^{c}	۳۳۴/۵۶^{c}	۳۵۹/۱۳^{c}	۳۷۴/۳۶^{c}	۳۸۹/۲۷^{c}
E2	۴۷/۹۰^{a}	۱۰۴/۱۰^{b}	۱۷۵/۰۵^{b}	۲۴۰/۷۳^{b}	۳۳۶/۹۴^{b}	۴۲۴/۹^{b}	۴۷۲/۹^{b}	۵۲۰/۰۳^{b}	۵۶۰/۳^{b}
E3	۵۲/۷۶^{a}	۱۱۵/۳۷^{a}	۲۰۳/۲۰^{a}	۲۷۶/۰۸^{a}	۳۷۸/۷۷^{a}	۴۷۸/۲۶^{a}	۵۲۷/۸^{a}	۵۵۵/۹۸^{a}	۵۸۶/۵۱^{a}
SEM	۱/۶۵	۲/۵۲	۲/۳۵	۲/۲۷	۳/۶۵	۳/۳۴	۳/۸۸	۴/۴۱	۵/۴۳
Value-P	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

شاهد: جیره پایه حاوی ۱ میکروگرم آفلاتوکسین B1 در میلی‌لیتر، اسانس E1، E2 و E3 به‌ترتیب ۰/۰۱، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم اسانس دانه کرچک و بادام در کیلوگرم جیره غذایی. میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰۵). SEM: میانگین اشتباه استاندارد. P Value: سطح احتمال معنی‌داری.

جدول ۶: اثر افزودن اسانس دانه کرچک و پوسته بادام بر pH و فراسنجه‌های تخمینی تولید گاز

تیمار۱	GP	ME	NEL	DOMD	SCFA	pH
شاهد	۴۷/۸۵^{d}	۴۷/۷۵^{d}	۸/۸۶^{d}	۶۰/۹۷^{d}	۱/۰۵^{d}	۵/۴^{a}
E1	۵۳/۳۶^{c}	۵۳/۳۵^{c}	۹/۵۵^{c}	۶۶/۰۵^{c}	۱/۱۸^{c}	۵/۲^{c}
E2	۶۷/۳۸^{b}	۶۷/۳۸^{b}	۱۱/۴۶^{b}	۷۸/۶۸^{b}	۱/۴۹^{b}	۵/۴^{a}
E3	۷۵/۷۵^{a}	۷۵/۷۵^{a}	۱۲/۶۰^{a}	۸۶/۲۴^{a}	۱/۶۷^{a}	۵/۳^{ab}
SEM	۰/۰۲۵	۰/۰۲۰	۰/۰۰۴	۰/۰۲۰	۰/۰۰۴	۰/۰۲۷

شاهد: جیره پایه حاوی ۱ میکروگرم آفلاتوکسین B1 در میلی‌لیتر، اسانس E1، E2 و E3 به‌ترتیب ۰/۰۱، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم اسانس در کیلوگرم جیره غذایی. GP: تولید گاز (میلی‌لیتر بر ۰/۲ گرم ماده خشک)،ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)،NEL: انرژی خالص (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، DOMD: قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک (گرم بر کیلوگرم ماده آلی در ماده خشک)، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول بر ۰/۲ گرم ماده خشک). میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰۵). SEM: میانگین اشتباه استاندارد. P Value: سطح احتمال معنی‌داری.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷: اثر افزودن سطوح مختلف اسانس دانه کرچک و پوسته بادام به جیره غذایی بر فراسنجه‌های تولید گاز

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی				سطح معنی‌داری	
	شاهد	E1	E2	E3	SEM	P value
نرخ ثابت تولید گاز، در ساعت (c)	۰/۰۳۴^{d}	۰/۰۳۹^{c}	۰/۰۴۱^{b}	۰/۰۴۶^{a}	۰/۰۲	<۰/۰۰۰۱
پتانسیل تولید گاز، میلی‌لیتر (b)	۳۹۱/۸۳^{c}	۳۸۹/۸۴^{d}	۵۲۸/۱۴^{b}	۵۶۸/۵^{a}	۱/۳	۰/۰۰۰۱

شاهد: جیره پایه حاوی ۱ میکروگرم آفلاتوکسین B1 در میلی‌لیتر، اسانس E1، E2 و E3 به‌ترتیب ۰/۰۱، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم اسانس در کیلوگرم جیره غذایی. میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰۵). SEM: میانگین اشتباه استاندارد. P Value: سطح احتمال معنی‌داری.

بحث

pH شکمبه در شرایط طبیعی در دامنه ۶ الی ۶/۹ قرار دارد. با این‌حال مصرف جیره غذایی غنی از غلات و کربوهیدرات با تجزیه‌پذیری سریع سبب تولید مقادیر بیش‌تری از اسیدآلی و کاهش pH شکمبه می‌شود. هم‌چنین تغییر pH شکمبه به‌واسطه مایکوتوکسین‌ها به‌دلیل تغییر در فرایند جذب و تنوع میکروبی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. نتایج نشان می‌دهد افزودن آفلاتوکسین اثر معنی‌داری بر نرخ تولید گاز داشته و سبب کاهش آن شد. هروی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که استفاده از آفلاتوکسین سبب کاهش فراسنجه‌های تخمیری در شرایط آزمایشگاهی گردید که با نتایج این آزمایش موافق می‌باشد. در آزمایش مشابهی گزارش کردند هر مقدار آفلاتوکسین B1 افزایش یابد بالعکس میزان گاز تولیدی کاهش نشان می‌دهد (Danesh mesgaran و همکاران، ۲۰۱۳). محققین گزارش کردند که ۰/۴۲ میکروگرم آفلاتوکسین B1 در انکوباسیون با مایع شکمبه تجزیه شد (Upadhaya و همکاران، ۲۰۱۰). اما در مطالعه دیگری آفلاتوکسین B1 در ۳ ساعت انکوباسون با مایع شکمبه تجزیه نگردید (Kiessling و همکاران، ۱۹۸۴). افزودن سطوح ۱ یا ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از آفلاتوکسین B1 به مایع شکمبه گوسفند سبب تجزیه ۰/۱۰ در ۱۲ ساعت انکوباسیون در ۳۹ درجه سانتی‌گراد شد (Westlake و همکاران، ۱۹۸۹). در آزمایش حاضر افزودن آفلاتوکسین به محیط کشت سبب کاهش میزان اسید چرب کوتاه زنجیر تخمینی شد که مشابه آن گزارش کردند میزان تولید کل اسید چرب فرار در گروه آفلاتوکسین کاهش یافت (Jiang و همکاران، ۲۰۱۷). نسبت مولی پروپیونات و بوتیرات با افزایش میزان آفلاتوکسین B1 تحت تاثیر قرار نگرفت و نسبت مولی کل اسیدهای چرب فرار در علوفه خشک یونجه بیش‌تر از علوفه ریگراس بود. در آزمایشی Cook و همکاران (۱۹۸۶) نشان دادند مصرف ۲۰۰ تا ۸۰۰ گرم آفلاتوکسین B1 در هر کیلوگرم جیره گوساله سبب کاهش تحرک شکمبه گردید. آفلاتوکسین B1 احتمالاً با تاثیر منفی بر جمعیت میکروبی مایع شکمبه (Helferich و همکاران، ۱۹۸۶؛ Jiang و همکاران، ۲۰۱۴) و کاهش تحرک شکمبه (Cook و همکاران، ۱۹۸۶) سبب کاهش تخمیر شکمبه‌ای و هضم و گاز تولیدی می‌گردد. نتایج این آزمایش با یافته‌های برخی محققین مبنی بر افزایش تولید گاز در حضور اسانس گیاهی مطابقت ندارد (Chovis و همکاران، ۲۰۱۲؛ Hojjatpanah و همکاران، ۲۰۱۶). دیگر محققین در آزمایشی نشان دادند که اسانس‌های نعناع و رازیانه در سطح ۱۵۰ میلی گرم، مقدار تولید گاز از بخش قابل تخمیر سیلاژ ذرت را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش دادند (قربانی و وکیلی، ۱۳۹۳). اسانس گیاهی آویشن هم به‌عنوان افزودنی با تغییر تخمیر سیلاژ یونجه در نشخوارکنندگان در شرایط برون تنی سبب کاهش میزان گاز تولیدی نسبت به تیمار بدون افزودنی می‌شود (Aminipour وهمکاران، ۲۰۱۷). در آزمایشی دیگر استفاده از اسانس دارچین (Fraser و همکاران، ۲۰۰۷) و اسانس سیر باعث کاهش مقدار تولید گاز شد و با افزایش مقدار اسانس گیاهی میزان تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی کاهش یافت (Busquet و همکاران، ۲۰۰۵). مکانیسم اولیه عمل خاصیت ضدمیکروبی اسانس گیاهی، تخریب غشای پلاسمایی است که منجر به از دست‌رفتن محتویات سلولی و نهایتاً تحلیل و مرگ سلول می‌شود (DiPasqua و همکاران، ۲۰۰۷؛ Paparella و همکاران، ۲۰۰۸). دلیل افزایش تولید گاز در آزمایش حاضر حضور آفلاتوکسین بوده و اسانس افزوده شده با کاهش اثرات مهاری آفلاتوکسین سبب افزایش تخمیر شده است. آفلاتوکسین‌ها به‌دلیل سمی بودن با تاثیر نامطلوب علیه برخی از جمعیت میکروبی شکمبه باعث کاهش تولید گاز گردید که با یافته‌های محققین (Helferich و همکاران، ۱۹۸۶؛ Jiang و همکاران، ۲۰۱۴) مطابقت دارد. در تحقیقی انکوباسیون مایع شکمبه با دو نوع از آفلاتوکسین‌های B1 میکروفلور مایع شکمبه تحت تاثیر قرار نگرفت (Upadhaya و همکاران، ۲۰۰۹). آلودگی‌های آفلاتوکسین در جیره تغذیه شده توسط نشخوارکنندگان مشکلات بیش‌تری نسبت به دیگر مایکوتوکسین‌ها دارد زیرا میزان اندکی از آن‌ها توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تجزیه می‌شوند (Fink و همکاران، ۲۰۰۸). میزان تجزیه‌پذیری آفلاتوکسین B1 به نوع خوراک تغذیه شده به حیواناتی که مایع شکمبه از آن گرفته می‌شود بستگی دارد (Jiang و همکاران، ۲۰۱۲). داده‌های مربوط به سمیت آفلاتوکسین‌ها نشان داد که آن‌ها دارای حلقه سیکلوپنتن و بخشی از فوران در ساختار شیمیایی خود می‌باشند. در آفلاتوکسین B1 حضور پیوند دوگانه در انتهای حلقه فوران عامل کلیدی فعالیت‌های سمی و

www.SID.ir

Archive of SID

سرطان‌زا است (Wang و همکاران، ۲۰۱۱). افزودن اسانس به جیره در مقایسه با تیمار حاوی آفلاتوکسین سبب افزایش قابلیت هضم ماده آلی در ماده خشک گردید که به‌دنبال آن میزان تولید گاز، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص و اسیدهای چرب زنجیر کوتاه افزایش یافت (جدول ۶) ($p<۰/۰۵$). هم‌چنین مطابق داده‌های جدول ۷ پتانسیل و نرخ ثابت تولید گاز نیز تحت تاثیر اسانس به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). به‌طوری‌که با افزایش سطح اسانس گیاهی از ۰/۰۱ به ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم میزان نرخ ثابت تولید گاز از ۰/۰۳۹ به ۰/۰۴۶ و فراسنجه b (پتانسیل تولید گاز) از ۳۸۹ به ۸۶۸ میلی‌لیتر افزایش یافت. برای کاهش اثرات سمی مایکوتوکسین‌ها می‌توان از ترکیبات مختلف مانند ترکیبات فنلی و عصاره‌های گیاهی استفاده کرد (Dvoreska و همکاران، ۲۰۰۷). اسانس‌ها و عصاره‌های مختلف گیاهان مانند دارچین، نعناع، چای سبز و ریحان ممکن‌است به‌عنوان یک افزودنی سالم برای خوراک و حفاظت از آن در برابر آلودگی‌های آفلاتوکسین‌ها مورد استفاده قرار گیرد (Burt، ۲۰۰۴). اسانس‌ها از طریق اثرات مثبت ضدمیکروبی در مقابل گروه‌عمده‌ای از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها باعث‌بهبود تخمیر شکمبه می‌شوند. تجزیه آفلاتوکسین B1 توسط عصاره‌های گیاهی و میکروارگانیسم‌ها توسط برخی محققین مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Iram و همکاران، ۲۰۱۵؛ Iram و همکاران، ۲۰۱۶؛ Verheeke و همکاران، ۲۰۱۶). عصاره برخی گیاهان ازجمله بذر زنیان بیش‌ترین میزان مهار آفلاتوکسین B1 را دارد (Iram و همکاران، ۲۰۱۵). تجزیه آفلاتوکسین B1 غالباً از طریق فعالیت آنزیم‌های خارج‌سلولی رخ می‌دهد، احتمالاً از طریق تحریک آنزیم‌ها توسط اسانس، آفلاتوکسین B1 تجزیه گردیده‌است(Verheeke و همکاران، ۲۰۱۶). تغییر ساختار آفلاتوکسین یا سم‌زدایی آن به‌واسطه میکروارگانیسم‌ها، فرایندهای فیزیکی و شیمیایی (اشعه ماورا بنفش، اشعه گاما) و محصولات گیاهی را قبلاً گزارش کردند (Luo و همکاران، ۲۰۱۳؛ Samuel و همکاران، ۲۰۱۴). اسانس پوسته بادام هندی عمدتاً از اسیدآناکاردیک (۳-ان پنتا دسیل سالسیلیک اسید) کاردانول (۳-ان پنتادسیل فنل) کاردول (۵-ان پنتا دسیل رزورسینول) و متیل کاردول (۲-متیل-۵-ان-پنتادسیل رزورسینول) تشکیل شده (Orwa و همکاران، ۲۰۰۹) و فعالیت ضد قارچی، ضدسرطانی و ضدباکتریایی دارد (Kubo و همکاران، ۲۰۰۳). این اسانس احتمالاً از طریق ترکیبات آنتی‌اکسیدان باعث تغییر ساختار و خنثی‌سازی متابولیت‌های سمی آفلاتوکسین و کاهش اثرات ضد میکروبی آفلاتوکسین بر میکروارگانیسم‌های شکمبه سبب افزایش هضم و تخمیر جیره غذایی می‌شود. ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها وابسته به توانایی آن‌ها برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد، ممانعت از پراکسیداسیون دیواره لیپیدی، کیلات فلزی و تحریک فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌ها می‌باشد.

افزودن آفلاتوکسین B1 به جیره غذایی خصوصیات تخمیر جیره غذایی گاوشیری را تحت تاثیر قرار داده و سبب کاهش تولید گاز و تجزیه‌پذیری در شرایط آزمایشگاهی گردید.افزودن‌اسانس دانه کرچک و بادام به جیره غذایی به‌میزان ۰/۱ الی ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم سبب کاهش اثر مسمومیتی و مهاری آفلاتوکسین B1 بر تجزیه‌پذیری جیره غذایی می‌شود.

منابع

۱. **اسدزاده‌هروی، س؛ طهماسبی، ع.؛ ناصریان؛ ع. و ولی‌زاده، ر.، ۱۳۹۳.** اثر جاذب‌های آلی و معدنی آفلاتوکسین B1 بر قابلیت هضم و متغیرهای تخمیری شکمبه در شرایط برون‌تنی.نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران. جلد ۹، شماره ۴، صفحات ۴۱۳ تا ۴۲۳.

۲. **قربانی، ه. و وکیلی، س.ع.، ۱۳۹۳.** اثر مقادیر مختلف اسانس گیاهان نعناع و رازیانه بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ ذرت در شرایط برون تنی. ششمین کنگره علوم دامی ایران. دانشگاه تبریز.

۳. **مقصودلو، ف.، ۱۳۹۴.** تاثیر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های رزماری، رازیانه و زنیان به‌عنوان افزودنی بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم سیلاژ ذرت در شرایط برون تنی. پایان‌نامه دکتری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی گروه علوم دامی دانشگاه گنبدکاووس.

۴. **نعمتی، ذ.ا.؛ جانمحمدی، ح.؛ تقی‌زاده، ا.؛ ملکی‌نژاد، ح. و مقدم، غ.، ۱۳۹۴.** تاثیر جاذب طبیعی بنتونیت در کاهش اثرات منفی آفلاتوکسین B1 برعملکرد و سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی. تحقیقات تولیدات دامی. سال ۴، شماره ۳، صفحات ۶۷ تا ۷۷.

۵. **Adebo, O.; Njobeh, P.; Gbashi, S.; Nwinyi, O. and Mavumengwana, V., 2017.** Review on microbial degradation of aflatoxins. Critical reviews in food science, Vol. 57, pp: 3208-3217.

۶. **AminiPour, H.; Naserian, A.A.; Vakili, A.R. and Tahmasbi, A.M., 2017.** Effect of Essential Plant Oil Used as an Additive to Alter Silage Fermentation in Ruminant by In Vitro. Biosciences Biotechnology Research Asia, Vol. 14, pp: 145-152.

۷. **Azzoune, N.; Mokrane, S.; Riba, A.; Bouras, N.; Verheecke, C.; Sabaou, N. and Mathieu, F., 2016.** Quality Assurance Safety of Crops Foods: Contamination of common spices by aflatoxigenic fungi and aflatoxin B1 in Algeria. International journal of food microbiology. Vol. 8, pp: 137-144.

۸. **Burt, S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods, a review. International journal of food microbiology. Vol. 94, pp: 223-253.

۹. **Busquet, M.; Calsamiglia, S.; Ferret, A. and Kamel, C., 2005.** Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. Animal Feed Science and Technology. Vol. 123, pp: 597-613.

۱۰. **Castillejos, L.; Calsamiglia, S. and Ferret, A., 2006.** Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. Journal of Dairy Science. Vol. 89, pp: 2649-2658.

۱۱. **Chaves, A.V.; Baah, J.; Wang, Y.; McAllister, T.A. and Benchaar, C., 2012.** Effects of cinnamon leaf, oregano and sweet orange essential oils on fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of the Science of Food Agriculture. Vol. 92, pp: 906-915.

www.SID.ir

Archive of SID

۱۲. **Cook, W.; Richard, J.; Osweiler, G. and Trampel, D., 1986.** Clinical and pathologic changes in acute bovine aflatoxicosis: Rumen motility and tissue and fluid concentrations of anatoxins Bj and Mj. American journal of veterinary research. Vol. 47, 1817 p.

۱۳. **Curtis, J.L., 1996.** Effect of variety on the forage yield, ensiling characteristics, and nutritive value of alfalfa, and effects of cutting, stage of maturity, and silage additives on the preservation and nutritive value of alfalfa silage, Kansas State University.

۱۴. **Danesh Mesgaran, M.; Mojtahedi, M.; Vakili, S.A. and Hayati-Ashtiani, M., 2013.** Effect of aflatoxin B1 on in vitro rumen microbial fermentation responses using batch culture. Annual Review Research in Biology. Vol. 3.

۱۵. **Deans, S. and Svoboda, K.P., 1990.** The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. Flavour Fragrance Journal. Vol. 5, pp: 187-190.

۱۶. **Di Pasqua, R.; Betts, G.; Hoskins, N.; Edwards, M.; Ercolini, D. and Mauriello, G., 2007.** Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. Journal of agricultural food chemistry. Vol. 55, pp: 4863-4870.

۱۷. **Dvorska, J.E.; Pappas, A.C.; Karadas, F.; Speake, B.K. and Surai, P.F., 2007.** Protective effect of modified glucomannans and organic selenium against antioxidant depletion in the chicken liver due to T-2 toxin-contaminated feed consumption. Comparative Biochemistry Physiology Part C: Toxicology Pharmacology. Vol. 145, pp: 582-587.

۱۸. **Fedorah, P.M. and Hrudey, S.E., 1983.** A simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultures in serum bottles. Environmental Technology. Vol. 4, pp: 425-432.

۱۹. **Fehr, P. and Delage, J., 1970.** Effet de l'aflatoxine sur les fermentations dans le rumen. Acad science compt rend ser D.

۲۰. **Fink-Gremmels, J., 2008.** Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. Food Additives Contaminants. Vol. 25, pp: 172-180.

۲۱. **Fraser, G.R.; Chaves, A.; Wang, Y.; McAllister, T.; Beauchemin, K. and Benchaar, C., 2007.** Assessment of the Effects of Cinnamon Leaf Oil on Rumen Microbial Fermentation Using Two Continuous Culture Systems1. Journal of Dairy Science. Vol. 90, pp: 2315-2328.

۲۲. **Helferich, W.; Garrett, W.; Hsieh, D. and Baldwin, R., 1986.** Feedlot performance and tissue residues of cattle consuming diets containing aflatoxins. Journal of animal science. Vol. 62 ,pp: 691-696.

۲۳. **Hodjatpanah Montazeri, A.; Danesh Mesgaran, M.; Vakili, S.A. and Tahmasbi, A.M., 2016.** Effect of essential oils of various plants as microbial modifier to alter corn silage fermentation and in vitro methane production. Iranian Journal of Applied Animal Science. Vol. 6, pp: 67-78.

۲۴. **Iram, W.; Anjum, T.; Iqbal, M.; Ghaffar, A. and Abbas, M., 2015.** Mass spectrometric identification and toxicity assessment of degraded products of aflatoxin B1 and B2 by Corymbia citriodora aqueous extracts. Scientific reports. Vol. 5, 14672 p.

۲۵. **Iram, W.; Anjum, T.; Iqbal, M.; Ghaffar, A. and Abbas, M., 2016.** Structural elucidation and toxicity assessment of degraded products of aflatoxin B1 and B2 by aqueous extracts of Trachyspermum ammi. Frontiers in microbiology. Vol. 7, 346 p.

۲۶. **Jiang, Y.H.; Wang, P.; Yang, H.J. and Chen, Y., 2014.** The efficacy of bamboo charcoal in comparison with smectite to reduce the detrimental effect of aflatoxin B1 on in vitro rumen fermentation of a hay-rich feed mixture. Toxins. Vol. 6, pp: 2008-2023.

۲۷. **Jiang, Y.; Yang, H. and Lund, P., 2012.** Effect of aflatoxin B1 on in vitro ruminal fermentation of rations high in alfalfa hay or ryegrass hay. Animal feed science technology. Vol. 175, pp: 85-89.

۲۸. **Kamatou, G.; Makunga, N.; Ramogola, W. and Viljoen, A., 2008.** South African Salvia species: a review of biological activities & phytochemistry. Journal of ethnopharmacology. Vol. 119, pp: 664-672.

۲۹. **Karlovsky, P., 1999.** Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed and food production. Natural toxins. Vol. 7, pp: 1-23.

۳۰. **Kiessling, K.H.; Pettersson, H.; Sandholm, K. and Olsen, M., 1984.** Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. Applied environmental microbiology. Vol. 47, pp: 1070-1073.

۳۱. **Kubo, I.; Nihei, K.I. and Tsujimoto, K., 2003.** Antibacterial action of anacardic acids against methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Journal of agricultural food chemistry. Vol. 51, pp: 7624-7628.

۳۲. **Lindemann, M.; Blodgett, D.; Kornegay, E. and Schurig, G., 1993.** Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling/growing swine. Journal of animal science. Vol. 71, pp: 171-178.

۳۳. **López, C.; Lima, K.; Manno, M.C.; Tavares, F.; Fernandes Neto, D.; Jesus, M. and Viana, M., 2012.** Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. Vol. 64, pp: 1027-1035.

۳۴. **López, P.; Sánchez, C.; Batlle, R. and Nerín, C., 2007.** Development of flexible antimicrobial films using essential oils as active agents. Journal of agricultural food chemistry. Vol. 55, pp: 8814-8824.

۳۵. **Luo, X.; Wang, R.; Wang, L.; Wang, Y. and Chen, Z., 2013.** Structure elucidation and toxicity analyses of the degradation products of aflatoxin B1 by aqueous ozone. Food Control. Vol. 31, ,pp: 331-336.

۳۶. **Masood, M.; Iqbal, S.Z.; Asi, M.R. and Malik, N., 2015.** Natural occurrence of aflatoxins in dry fruits and edible nuts. Food Control. Vol. 55, pp: 62-65.

۳۷. **McDougall, E., 1948.** Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. Biochemical journal. Vol. 43, pp: 99-108.

۳۸. **Menke, K.H.; 1988.** Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Vol. 28, pp: 7-55.

۳۹. **Moschini, M.; Gallo, A.; Piva, G. and Masoero, F., 2008.** The effects of rumen fluid on the in vitro aflatoxin binding capacity of different sequestering agents and in vivo release of the sequestered toxin. Animal feed science technology. Vol. 147, pp: 292-309.

۴۰. **Nemati, Z.; Karimi, A. and Besharati, M., 2015.** Impact of Aflatoxin Contaminated Feed and Yeast Cell Wall Supplementation on Immune System in Broiler Chickens. In: Proceedings of International Conference on Innovations in Chemical & Agricultural Engineering. pp: 8-9.

۴۱. **Ørskov, E. and McDonald, I., 1979.** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. The Journal of Agricultural Science. Vol. 92, pp: 499-503.

۴۲. **Orwa, C.; Mutua, A.; Kindt, R.; Jamnadass, R. and Simons, A., 2009.** Agroforestree database: a tree species reference and selection guide version 4.0. World Agroforestry Centre ICRAF, Nairobi, KE.

۴۳. **Paparella, A.; Taccogna, L.; Aguzzi, I.; Chaves-Lopez, C.; Serio, A.; Marsilio, F. and Suzzi, G., 2008.** Flow cytometric assessment of the antimicrobial activity of essential oils against Listeria monocytogenes. Food Control. Vol. 19, pp: 1174-1182.

۴۴. **Samarajeewa, U.; Sen, A.; Cohen, M. and Wei, C., 1990.** Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. Journal of food protection. Vol. 53, pp: 489-501.

۴۵. **Samuel, M.S.; Sivaramakrishna, A. and Mehta, A., 2014.** Degradation and detoxification of aflatoxin B1 by *Pseudomonas putida*. International Biodeterioration Biodegradation. Vol. 86, pp: 202-209.

۴۶. **SAS. 2004.** Statistical Analysis System/STAT user guide, Version 9.1. 2. SAS Institute Inc Cary, NC.

۴۷. **Schollenberger, M.; Müller, H.M.; Rüfle, M.; Suchy, S.; Plank, S. and Drochner, W., 2006.** Natural occurrence of 16 Fusarium toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. Mycopathologia. Vol. 161, pp: 43-52.

۴۸. **Upadhaya, S.D.; Park, M. and Ha, J.K., 2010.** Mycotoxins and their biotransformation in the rumen: a review. Asian Australasian J of Animal Sciences. Vol. 23, pp: 1250-1260.

۴۹. **Upadhaya, S.D.; Sung, H.G.; Lee, C.H.; Lee, S.Y.; Kim, S.W.; Cho, K.J. and Ha, J.K., 2009.** Comparative study on the aflatoxin B1 degradation ability of rumen fluid from Holstein steers and Korean native goats. Journal of veterinary science. Vol. 10, pp: 29-34.

۵۰. **Verheecke, C.; Liboz, T. and Mathieu, F., 2016.** Microbial degradation of aflatoxin B1: current status and future advances. International j of food microb. Vol. 237, pp: 1-9.

۵۱. **Wang, F.; Xie, F.; Xue, X.; Wang, Z.; Fan, B. and Ha, Y., 2011.** Structure elucidation and toxicity analyses of the radiolytic products of aflatoxin B1 in methanol, water solution. J of hazardous materials. Vol. 192, pp: 1192-1202.

۵۲. **Westlake, K.; Mackie, R. and Dutton, M., 1989.** In vitro metabolism of mycotoxins by bacterial, protozoal and ovine ruminal fluid preparations. Animal Feed Science Technology. Vol. 25, pp: 169-178.

۵۳. **Yang, W.; Benchaar, C.; Ametaj, B.; Chaves, A.; He, M. and McAllister, T., 2007.** Effects of Garlic and Juniper Berry Essential Oils on Ruminal Fermentation and on the Site and Extent of Digestion in Lactating Cows1. Journal of dairy science. Vol. 90, pp: 5671-5681.

www.SID.ir