



## کارایی پروبیوتیک و جاذب‌های سموم (آلی و معدنی) در کاهش اثرات آفاتوکسین بر عملکرد رشد، تغییرات بیوشیمیایی سرم خون و خصوصیات استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی

فرزانه خورشیدی<sup>۱</sup>، محمدمیر کریمی ترشیزی<sup>۲</sup>، حامد احمدی<sup>۲</sup>، هما آراک<sup>۱</sup>، ناهید مژگانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانش آموخته دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

<sup>۳</sup> بخش بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

doi 10.22059/jvr.2019.273836.2888

تاریخ دریافت: ۱۰ تیر ماه ۱۳۹۹، تاریخ پذیرش: ۲۲ شهریور ماه ۱۳۹۹

### چکیده

**زمینه مطالعه:** آفاتوکسین‌ها معمولاً در شرایط ذخیره اقلام غذایی تولید می‌شود و پس از تشکیل، از بین بردن آن‌ها دشوار است. رایج‌ترین راهبرد مقابله با این سموم استفاده از جاذب می‌باشد.

**هدف:** مقایسه کارایی جاذب‌های سموم قارچی با پروبیوتیک از نظر کاهش اثرات آفاتوکسین در جوجه‌های گوشتی.

**روش کار:** تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی به مدت ۱ روزه مطالعه شدند. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱. شاهد منفی (بدون آفاتوکسین و افزودنی) ۲. شاهد مثبت (۵۰۰ میکروگرم/کیلوگرم آفاتوکسین)، ۳. آفاتوکسین + پروبیوتیک ۴. آفاتوکسین + پلیمر ۵. آفاتوکسین + توکسین‌بایندر. در طی آزمایش عملکرد تولید و در پایان آزمایش فراسنجه‌های بیوشیمیایی و ایمنی در نمونه خون و شاخص‌های مربوط به ارزیابی درشتنی بررسی شدند.

**نتایج:** آفاتوکسین مصرف خوراک در ۱۰ روز ابتدایی آزمایش را کاهش داد ( $P < 0.05$ ). افزایش وزن بدن ۱۰-۱ روزگی تحت تأثیر آفاتوکسین کاهش یافت و تنها در گروه توکسین‌بایندر به سطح گروه شاهد منفی ارتقاء یافت ( $P < 0.05$ ). در گروه‌های پروبیوتیک و توکسین‌بایندر افزایش وزن بدن در ۲۴-۱۱ روزگی و کل آزمایش نسبت به گروه شاهد مثبت افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). تیمارها بر ضریب تبدیل غذایی اثر نداشتند. گروه شاهد مثبت در مقایسه با شاهد منفی کاهش معنی‌دار در میزان پروتئین تام، آلبومین، فسفر، منیزیم و روی سرم داشت ( $P < 0.05$ ). پروبیوتیک توانست اثرات زیان‌آور آفاتوکسین بر آلبومین سرم را جبران نماید ( $P < 0.05$ ). پلیمر توانست اثر آفاتوکسین بر کاهش سطح اسید اوریک سرم را جبران نماید ( $P < 0.05$ ). سطح منیزیم و روی سرم در گروه‌های دریافت کننده پروبیوتیک و پلیمر در قیاس با گروه شاهد مثبت افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). افزودنی‌ها در مقایسه با شاهد مثبت سطح فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز را افزایش دادند ( $P < 0.05$ ). افزودنی‌ها طول درشتنی را در مقایسه با شاهد مثبت افزایش دادند ( $P < 0.01$ ). گروه‌های دریافت کننده پروبیوتیک و یا پلیمر وزن استخوان درشتنی بالاتری نسبت به گروه شاهد مثبت داشتند ( $P < 0.01$ ). بالاترین استحکام استخوان در گروه پروبیوتیک مشاهده شد که با گروه‌های شاهد تفاوت معنی‌داری داشت. کاهش پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند توسط همه افزودنی‌ها در برابر شاهد مثبت افزایش یافت ( $P < 0.01$ ).

**نتیجه‌گیری نهایی:** افزودنی‌ها به طور نسبی برخی عوارض آفاتوکسین را کاهش دادند، وسعت تأثیر مشاهده شده بر شاخص‌های عملکردی، ایمنی، اسکلتی و بیوشیمیایی سرم به ترتیب مربوط به پروبیوتیک، پلیمر منقوش و توکسین‌بایندر بود.

**کلمات کلیدی:** آفاتوکسین، پروبیوتیک، پلیمر منقوش، توکسین‌بایندر، جوجه‌های گوشتی

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

**نویسنده مسئول:** محمدمیر کریمی ترشیزی، گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

پست الکترونیکی: karimitm@modares.ac.ir

## مقدمه

برای شناسایی و جذب مولکول الگو استفاده شود (۲۱). پروبیوتیک‌ها، افزودنی‌های خوراکی حاوی میکرو ارگانسیم‌های زنده طبیعی، غیربیماریزا و غیر سمی هستند که در صورت مصرف، از طریق بهبود سلامت مجرای گوارش، سلامت عمومی میزبان را تقویت می‌کنند. قابلیت پروبیوتیک‌ها در بهبود عملکرد، تقویت سیستم ایمنی، تعادل فلور میکروبی روده، خواص آنتی‌اکسیدانی و کاهش مضرات سموم قارچی در خوراک طیور توسط محققان مختلف گزارش شده است (۲۴، ۲۳، ۱۰). پلی‌ساکاریدها و پپتیدوگلیکان‌های دیواره سلولی باکتری‌های موجود در پروبیوتیک توانایی اتصال به آفاتوکسین B<sub>1</sub> را دارند (۱۹).

گلوکومانان توانایی بالایی در باند شدن به آفاتوکسین دارد. افزودن دیواره سلولی مخمر به خوراک طیور اثرات مضر آفاتوکسین‌ها بر عملکرد، شاخص‌های بیوشیمیایی، خون‌شناسی و سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد (۳۱). پیشنهاد شده که مانان اولیگوساکاریدهای جدا شده از دیواره سلول مخمر ساکارومایسس با مسدود کردن مکان‌های اتصال باکتری‌های پاتوژن در مخاط روده باریک، میزان صدمه به دیواره روده و در نتیجه میزان سرعت جایگزینی سلول‌های روده را کاهش و قابلیت استفاده از مواد مغذی را بهبود می‌بخشند (۹).

با توجه به محدودیت اطلاعات حاصل از بررسی مقایسه‌ای تأثیر افزودنی‌های غذایی بر کاهش اثرات نامطلوب میکوتوکسین‌ها در جیره‌های غذایی آلوده به این سموم قارچی، همچنین کارایی و امکان استفاده از پلیمرهای قالب مولکولی به عنوان جاذب‌های افزودنی، این آزمایش با بررسی صفات عملکردی، آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های بیوشیمیایی، استخوان درشت‌نی و سیستم ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی مبتلا به آفاتوکسیکوز تجربی با به کار بردن افزودنی‌های مورد مطالعه طراحی و اجرا شد.

## مواد و روش کار

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از ۲۴۰ قطعه جوجه یک روزه گوشتی مخلوط نر و ماده از سویه راس ۳۰۸ انجام شد. جوجه‌ها به پنج گروه آزمایشی با چهار تکرار تقسیم شدند و دسترسی به آب و دان در کل دوره پرورش کاملاً آزاد بود.

در اکثر مناطق دنیا، طیور در معرض غذاهای حاوی میکوتوکسین قرار دارند (۴۰). قارچ‌های *آسپرژیلوس*، *فوزاریوم* و *پنی‌سیلیوم*، سه جنس غالب در تولید میکوتوکسین‌ها هستند. آفاتوکسین، گروهی مشتق شده از فورانوگومارین‌ها است و از ترکیبات سمی و سرطان‌زای مهم در میان میکوتوکسین‌ها به‌شمار می‌رود. آفاتوکسین B<sub>1</sub> شایع‌ترین و از نظر بیولوژیکی، فعال‌ترین نوع آفاتوکسین است (۲۱). تغذیه جوجه‌های گوشتی با خوراک آلوده به آفاتوکسین موجب اختلال در عملکرد پرنده، سیستم ایمنی بدن و اندام‌هایی چون کبد، کلیه و قلب می‌شود (۳۳). با میزان ۱ و ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم آفاتوکسین در جیره‌ی غذایی جوجه‌های گوشتی، کاهش وزن بدن، کاهش مصرف خوراک و افت ضریب تبدیل خوراک مشاهده گردیده است (۴). مسمومیت با آفاتوکسین‌ها با تغییرات بیوشیمیایی خون، فراسنجه‌های خونی، پیامدهای پاتولوژیکی و فعالیت سیستم ایمنی مرتبط می‌باشد (۱۶). گزارش‌های متعدد حاکی از کاهش میزان پروتئین تام و آلبومین سرم در جانورانی است که در مواجهه با آفاتوکسین قرار گرفته‌اند (۷، ۲۸). طبق تحقیقات پیشین کاهش میزان گلوکز، پروتئین تام، کلسیم و فسفر سرم در شرایط آفاتوکسیکوز نشانه آسیب‌های کبدی توسط این سم است (۴۲).

حذف آفاتوکسین‌ها از خوراک‌های آلوده یکی از جنبه‌های مهم تحقیقات تغذیه‌ای است. روش‌های متنوع فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای از بین بردن آفاتوکسین‌ها به کار گرفته شده است (۳). تاکنون از ژئولیت طبیعی، بنتونیت، سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته، دیواره سلولی مخمر و زغال فعال برای کاهش سمیت آفاتوکسین‌ها در خوراک طیور استفاده شده است (۶). بخش انتهایی یون نامتقارن آلومینیوم موجود در ساختار آلومینوسیلیکاتی می‌تواند از طریق پیوند با گروه کربونیل آفاتوکسین B<sub>1</sub> سبب کاهش قابلیت دسترسی و مهار سمیت آن در جوجه‌ها شود (۳۲). افزودن جاذب معدنی به جیره غذایی طیور موجب کاهش معنی‌دار مسمومیت آفاتوکسینی شده و مصرف خوراک و وزن بدن جوجه‌ها را بهبود بخشیده است (۸). پلیمرهای قالب مولکولی به‌طور بالقوه می‌توانند به‌منظور سنجش و حذف توکسین‌ها استفاده شوند. تکنیک قالب مولکولی روشی است که به واسطه آن تک‌پارهای کوچک، مولکول الگو (مثلاً آفاتوکسین) را احاطه کرده و قالب‌گیری می‌کنند. قالب بدست آمده پس از خروج الگو می‌تواند

جدول ۱. اجزای تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره‌های پایه.

رشد	آغازی	اقلام جیره (درصد)
۵۶/۲۱	۵۲/۴۴	دانه ذرت
۳۶/۳۱	۳۸/۰۰	کنجاله سویا (۴۴ درصد)
۰/۵۰	۲/۴۷	کنجاله گلوتن
۳/۰۰	۲/۵۱	روغن سویا
۱/۰۱	۱/۱۰	سنگ آهک
۱/۶۵	۱/۹۳	دی کلسیم فسفات
۰/۵۰	۰/۵۰	مکمل معدنی و ویتامینی*
۰/۲۶	۰/۳۰	دی‌ال - متیونین
۰/۱۳	۰/۲۵	ال-لایزین
۰/۰۶	۰/۱۱	ال-ترئونین
۰/۲۳	۰/۲۰	نمک طعام
۰/۱۴	۰/۱۹	جوش شیرین
۱۰۰	۱۰۰	جمع
ترکیب شیمیایی		
۳۰۰۰	۲۹۵۰	انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)
۲۰/۸۰	۲۲/۶۱	پروتئین خام (درصد)
۱/۱۱	۱/۲۶	لایزین قابل هضم (درصد)
۰/۸۴	۰/۹۳	متیونین + سیستین قابل هضم (درصد)
۰/۷۴	۰/۸۴	ترئونین قابل هضم (درصد)
۰/۸۴	۰/۹۴	کلسیم (درصد)
۰/۴۲	۰/۴۷	فسفر در دسترس (درصد)
۰/۱۵	۰/۱۶	سدیم (درصد)

\* هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی حاوی ۴ میلیون واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۲۶۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین K<sub>3</sub>، ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B<sub>1</sub>، ۲۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین B<sub>2</sub>، ۵۴۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین، ۷۵۰۰ میلی‌گرم اسید پانتوتیک، ۱۲۸۰ میلی‌گرم ویتامین B<sub>6</sub>، ۷۲ میلی‌گرم بیوتین، ۷۶۰ میلی‌گرم اسید فولیک، ۶/۸ میلی‌گرم ویتامین B<sub>12</sub>، ۳۲۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید و ۱۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان بود. هر کیلوگرم از مکمل معدنی حاوی ۶۴۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰۰ میلی‌گرم ید، ۸۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۴۸۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۲۰ میلی‌گرم سلنیوم و ۴۴۰۰۰ میلی‌گرم روی بود.

برای تولید آفلاتوکسین از کشت اسپور *Aspergillus parasiticus* روی دانه برنج استفاده شد. پلیمر قالب ملکولی در آزمایشگاه گروه پرورش و مدیریت طیور دانشگاه تربیت مدرس.

پروبیوتیک‌های پروتکت از باکتری‌های *انتروکوکوس فاسیوم*، *پدیوکوکوس اسیدی‌لاکتی‌سی*، *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*، *لاکتوباسیلوس پلانتروم*، *لاکتوباسیلوس کازی* و کرنات کلسیم تشکیل شده است (شرکت بیوران، ایران). تعداد باکتری ۱۰<sup>۸</sup> واحد تشکیل دهنده کلنی در هر گرم بود. ترکیب زرین بایندر (گروه دانش بنیان ویوان، مشهد، ایران) مخلوطی از آلومینوسیلیکات‌های جاذب سموم قارچی بود.

برای تنظیم جیره‌های آزمایشی و محاسبه ترکیبات شیمیایی مواد خوراکی از توصیه‌های راهنمای پرورش جوجه گاوشتی راس ۳۰۸ در دوره‌های آغازی (۱۰-۱ روزگی) و میانی (۲۴-۱۱ روزگی) برای جوجه‌های گوشتی استفاده گردید (جدول ۱). گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱. شاهد منفی (جیره پایه بدون آفلاتوکسین یا افزودنی غذایی)؛ ۲. شاهد مثبت (جیره آلوده به ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین)؛ ۳. شاهد مثبت + پروبیوتیک (۱ گرم/کیلوگرم، های پروتکت، ایران)؛ ۴. شاهد مثبت + پلیمر قالب ملکولی (۵ گرم/کیلوگرم، ایران)؛ ۵. شاهد مثبت + توکسین بایندر تجاری (۵ گرم/کیلوگرم، زرین بایندر، ایران). مصرف خوراک و افزایش وزن به صورت دوره‌ای اندازه‌گیری شد و با در نظر گرفتن تلفات و تعیین روز مرغ، ضریب تبدیل خوراک مشخص گردید.

جدول ۲. تأثیر استفاده از افزودنی‌ها در جیره آلوده به آفلاتوکسین بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی.

گروه‌های آزمایشی	افزودنی (گرم/کیلوگرم)	آفلاتوکسین (میکروگرم/کیلوگرم)	مصرف خوراک (گرم)				افزایش وزن بدن (گرم)				ضریب تبدیل خوراک
			۱-۱۰	۱۱-۲۴	۱-۱۰	۱۱-۲۴	۱-۱۰	۱۱-۲۴	۱-۱۰	۱۱-۲۴	
شاهد منفی	۰	۰	۱۱۸۷/۸	۱۴۶۴/۲	۲۲۰/۱ <sup>a</sup>	۶۸۹/۹ <sup>ab</sup>	۹۱۰/۰ <sup>abc</sup>	۱/۲۶	۱/۷۲	۱/۶۱	
شاهد مثبت	۰	۵۰۰	۱۱۲۴/۴	۱۳۹۳/۶	۲۱۳/۲ <sup>b</sup>	۶۶۶/۳ <sup>b</sup>	۸۷۹/۵ <sup>c</sup>	۱/۲۶	۱/۶۹	۱/۵۸	
پروبیوتیک	۱	۵۰۰	۱۲۳۸/۹	۱۵۰۰/۰	۲۰۹/۰ <sup>b</sup>	۷۳۴/۸ <sup>a</sup>	۹۴۳/۸ <sup>ab</sup>	۱/۲۵	۱/۶۹	۱/۵۹	
پلیمر	۵	۵۰۰	۱۱۷۴/۵	۱۴۴۲/۹	۲۱۰/۲ <sup>b</sup>	۶۸۵/۲ <sup>ab</sup>	۸۹۵/۴ <sup>bc</sup>	۱/۲۸	۱/۷۱	۱/۶۱	
توکسین بایندر	۵	۵۰۰	۱۱۹۲/۲	۱۴۵۹/۰	۲۱۵/۰ <sup>ab</sup>	۷۴۵/۴ <sup>a</sup>	۹۶۰/۴ <sup>a</sup>	۱/۲۴	۱/۶۰	۱/۵۲	
SEM <sup>1</sup>			۲۵/۸۶	۲۵/۲۵	۲/۰۵	۱۸/۷۷	۱۹/۰۴	۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۰۳	
P-value	۰/۰۰۰۲	۰/۰۸	۰/۱۰	۰/۰۰۲	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۴۰	۰/۳۳	۰/۳۱		

SEM<sup>1</sup>: خطای معیار میانگین. <sup>ab</sup> میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون اختلاف آماری دارند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۳. تأثیر استفاده از افزودنی‌ها در جیره آلوده به آفلاتوکسین بر شاخص‌های بیوشیمی سرم جوجه‌های گوشتی در ۲۴ روزگی.

گروه‌های آزمایشی	افزودنی (گرم/کیلوگرم)	آفلاتوکسین (میکروگرم/کیلوگرم)	پروتئین تام (گرم/دسی لیتر)	آلبومین (گرم/دسی لیتر)	گلوبولین (گرم/دسی لیتر)	نسبت آلبومین به گلوبولین	اوریک اسید (میلی لیتر)	کلسترول (میلی لیتر)	گلوکز (میلی لیتر)	تری گلیسرید (میلی گرم/دسی لیتر)
شاهد مثبت	۰	۵۰۰	۴/۳۸ <sup>b</sup>	۲/۵۴ <sup>b</sup>	۱/۸۴ <sup>ab</sup>	۱/۳۹ <sup>b</sup>	۵/۹۶ <sup>c</sup>	۱۲۳/۷	۲۸۷/۱	۱۲۳/۱
پروبیوتیک	۱	۵۰۰	۴/۷۵ <sup>ab</sup>	۲/۹۹ <sup>a</sup>	۱/۷۷ <sup>b</sup>	۱/۷۰ <sup>a</sup>	۶/۸۳ <sup>abc</sup>	۱۲۲/۲	۳۱۵/۹	۱۳۳/۹
پلیمر	۵	۵۰۰	۴/۸۷ <sup>a</sup>	۲/۸۲ <sup>ab</sup>	۲/۰۶ <sup>a</sup>	۱/۳۷ <sup>b</sup>	۷/۳۵ <sup>a</sup>	۱۱۸/۶	۳۵۵/۶	۱۲۷/۳
توکسین بایندر	۵	۵۰۰	۴/۵۰ <sup>ab</sup>	۲/۷۱ <sup>ab</sup>	۱/۹۳ <sup>ab</sup>	۱/۴۰ <sup>b</sup>	۶/۲۸ <sup>bc</sup>	۱۱۹/۹	۲۹۹/۴	۱۲۱/۸
SEM <sup>1</sup>			۰/۱۳	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۵	۰/۲۹	۴/۴۲	۱۹/۱۳	۵/۷۹
P-value	۰/۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۲	۰/۴۸	۰/۱۳	۰/۳۲	

SEM<sup>1</sup>: خطای معیار میانگین. <sup>ab</sup> میانگین‌های با حروف گوناگون در هر ستون اختلاف آماری دارند ( $P < 0.05$ ).

ترازوی دیجیتال با دقت ۵ گرم) و خاکستر مورد ارزیابی قرار گرفتند. وزن با استفاده از ترازوی دیجیتال و طول و قطر خارجی با استفاده از کولیس دیجیتال (دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) اندازه‌گیری شدند.

برای ارزیابی ایمنی هومورال، در روزهای ۱۰ و ۱۸ دوره پرورش به هشت قطعه پرنده از هر گروه آزمایشی ۰/۲ میلی لیتر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفندی ۵ درصد شسته شده در بافر فسفات استریل، از طریق عضله سینه تزریق گردید. سپس در روز ۲۴ دوره پرورش، از همان پرنده‌ها از طریق ورید بال حدود ۱ میلی لیتر خون گرفته شد و سرم نمونه‌های خون با سانتریفیوژ جدا گردید و تیتراژ پادتن با روش رقیق‌سازی متوالی (سنجش هم‌آگلوتیناسیون میکروتیتر) اندازه‌گیری شد (۱۴). در پایان داده‌های بدست آمده با نرم افزار SAS و رویه‌ی GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و معنی‌داری در سطح ۵ درصد تعیین شد.

در سن ۲۴ روزگی از هر گروه آزمایشی چهار پرنده به صورت تصادفی انتخاب و از ورید بال در حدود دو میلی لیتر خون گرفته شد. غلظت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH)، همچنین غلظت پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، کلسترول، گلوکز، تری گلیسرید، کلسیم، فسفر، آهن، منیزیم، روی و مس موجود در نمونه‌های سرم خون با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway Genova MK3, UK) تعیین شد.

چهار قطعه جوجه از هر گروه آزمایشی در سن ۲۴ روزگی کشتار شد و سپس استخوان‌های درشت‌نی به دقت جدا شدند. پس از جدا کردن تمامی بافت‌های نرم، برای تعیین خصوصیات استخوان درشت‌نی مانند وزن، طول (فاصله دو اپی‌فیز)، قطر (در قسمت مرکز دیافیز دو قطر کوچک و بزرگ عمود بر هم)، استحکام (با استفاده از دستگاه طراحی شده در آزمایشگاه و

## نتایج

پرنده‌گانی مشاهده شد که آفلاتوکسین مکمل شده با توکسین بایندر دریافت کردند و از این نظر با پرندگان گروه شاهد مثبت تفاوت معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ).

نتایج نشان می‌دهند که گروه‌های آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشتند ( $P > 0.05$ )، ولی مناسب‌ترین ضریب تبدیل در گروه توکسین بایندر (زرین بایندر) مشاهده شد.

مصرف خوراک و افزایش وزن بدن بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲،  $P < 0.05$ )، اما بین گروه‌های شاهد منفی و مثبت تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. خوراک مصرفی در گروه دریافت کننده پروبیوتیک در دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی) کمتر از گروه‌های شاهد منفی، شاهد مثبت و پلیمر بود ( $P < 0.05$ ). در دوره میانی و کل دوره (۲۴-۱ روزگی)، بالاترین افزایش وزن بدن در

جدول ۴. تأثیر استفاده از افزودنی‌ها در جیره آلوده به آفلاتوکسین بر سطوح مواد معدنی سرم جوجه‌های گوشتی در ۲۴ روزگی.

گروه‌های آزمایشی	افزودنی (گرم/کیلوگرم)	آفلاتوکسین (میکروگرم/کیلوگرم)	فسفر (میلی گرم/دسی لیتر)	کلسیم (میلی گرم/دسی لیتر)	منیزیم (میلی گرم/دسی لیتر)	روی (میکروگرم/دسی لیتر)	آهن (میکروگرم/دسی لیتر)	مس (میکروگرم/دسی لیتر)
شاهد منفی	۰	۰	۶/۱۶ <sup>a</sup>	۹/۳۶	۲/۶۴ <sup>ab</sup>	۱۹۰/۲۹ <sup>a</sup>	۱۹۹/۵۱	۲۲۵/۲
شاهد مثبت	۰	۵۰۰	۴/۵۴ <sup>b</sup>	۸/۷۱	۲/۴۱ <sup>c</sup>	۱۷۱/۳۴ <sup>b</sup>	۱۶۵/۴۱	۲۲۴/۱
پروبیوتیک	۱	۵۰۰	۷/۲۲ <sup>a</sup>	۸/۹۹	۲/۷۴ <sup>a</sup>	۱۹۲/۹۱ <sup>a</sup>	۱۷۰/۸۲	۲۶۰/۵
پلیمر	۵	۵۰۰	۶/۶۱ <sup>a</sup>	۹/۰۲	۲/۷۴ <sup>a</sup>	۱۹۳/۵۵ <sup>a</sup>	۱۸۵/۴۱	۲۷۲/۵
توکسین بایندر	۵	۵۰۰	۶/۵۷ <sup>a</sup>	۸/۱۵	۲/۵۷ <sup>b</sup>	۱۸۰/۲۶ <sup>ab</sup>	۱۷۸/۲۸	۲۵۰/۰
SEM <sup>1</sup>			۰/۳۸	۰/۳۴	۰/۰۵	۴/۷۰	۸/۷۰	۱۸/۴۷
P-value			۰/۰۰۲	۰/۱۸	۰/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۱۰	۰/۴۷

SEM<sup>1</sup>: خطای معیار میانگین. <sup>ab</sup> میانگین‌های با حروف گوناگون در هر ستون اختلاف آماری دارند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۵. تأثیر استفاده از مواد افزودنی در جیره آلوده به آفلاتوکسین بر میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی و عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند سرم در سن ۲۴ روزگی.

گروه‌های آزمایشی	افزودنی (گرم/کیلوگرم)	آفلاتوکسین (میکروگرم/کیلوگرم)	آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST-IU/l)	آلانین آمینو ترانسفراز (ALT-IU/l)	آلکالین فسفاتاز (ALP-IU/l)	لاکتات دهیدروژناز (LDH-IU/l)	Anti-SRBC (Log <sub>2</sub> )
شاهد منفی	۰	۰	۱۵۳/۳۲ <sup>bc</sup>	۱/۲۵ <sup>b</sup>	۱۲۲۷۶/۸ <sup>a</sup>	۴۲۲/۵۰ <sup>ab</sup>	۵/۱۳ <sup>a</sup>
شاهد مثبت	۰	۵۰۰	۱۷۲/۵۰ <sup>ab</sup>	۷/۸۸ <sup>a</sup>	۱۱۸۵۶/۳ <sup>a</sup>	۳۸۰/۲۵ <sup>b</sup>	۲/۵ <sup>b</sup>
پروبیوتیک	۱	۵۰۰	۱۷۰/۵۷ <sup>ab</sup>	۹/۳۸ <sup>a</sup>	۱۲۲۱۵/۷ <sup>a</sup>	۴۴۰/۷۵ <sup>a</sup>	۵/۳۸ <sup>a</sup>
پلیمر	۵	۵۰۰	۱۴۵/۴۲ <sup>c</sup>	۶/۶۳ <sup>a</sup>	۶۶۴۴/۳ <sup>b</sup>	۴۵۱/۲۵ <sup>a</sup>	۵/۷۵ <sup>a</sup>
توکسین بایندر	۵	۵۰۰	۱۸۶/۶۵ <sup>a</sup>	۹/۲۵ <sup>a</sup>	۹۹۶۶/۰ <sup>a</sup>	۴۷۵/۲۵ <sup>a</sup>	۵/۶۳ <sup>a</sup>
SEM <sup>1</sup>			۵/۲۸	۰/۸۱	۵۹۶/۴	۱۸/۹۰	۰/۵۰
P-value			۰/۰۰۰۵	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۳	۰/۰۰۲

SEM<sup>1</sup>: خطای معیار میانگین. <sup>ab</sup> میانگین‌های با حروف گوناگون در هر ستون اختلاف آماری دارند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۶. تأثیر استفاده از افزودنی‌ها در جیره آلوده به آفلاتوکسین بر ویژگی‌های استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی در سن ۲۴ روزگی.

گروه‌های آزمایشی	افزودنی (گرم/کیلوگرم)	آفلاتوکسین (میکروگرم/کیلوگرم)	وزن (گرم)	طول (میلی متر)	قطر کوچک (میلی متر)	قطر بزرگ (میلی متر)	استحکام (کیلوگرم)	خاکستر (درصد)
شاهد منفی	۰	۰	۴/۵۴ <sup>ab</sup>	۶۹/۱۱ <sup>a</sup>	۴/۸۳ <sup>c</sup>	۷/۰۷ <sup>bc</sup>	۱۲/۰۰ <sup>b</sup>	۴۷/۰۰ <sup>bc</sup>
شاهد مثبت	۰	۵۰۰	۳/۷۱ <sup>b</sup>	۶۱/۷۴ <sup>c</sup>	۴/۶۸ <sup>c</sup>	۶/۵۳ <sup>c</sup>	۱۲/۲۵ <sup>b</sup>	۴۶/۲۵ <sup>c</sup>
پروبیوتیک	۱	۵۰۰	۵/۲۴ <sup>a</sup>	۷۰/۰۴ <sup>a</sup>	۵/۵۹ <sup>a</sup>	۷/۷۶ <sup>a</sup>	۱۵/۷۵ <sup>a</sup>	۵۰/۷۵ <sup>a</sup>
پلیمر	۵	۵۰۰	۴/۹۵ <sup>a</sup>	۶۹/۶۱ <sup>a</sup>	۵/۲۶ <sup>ab</sup>	۷/۴۲ <sup>ab</sup>	۱۴/۲۵ <sup>ab</sup>	۴۹/۷۵ <sup>ab</sup>
توکسین بایندر	۵	۵۰۰	۴/۳۰ <sup>ab</sup>	۶۷/۷۹ <sup>ab</sup>	۵/۰۶ <sup>bc</sup>	۶/۷۶ <sup>c</sup>	۱۳/۵۰ <sup>ab</sup>	۴۹/۵۰ <sup>abc</sup>
SEM <sup>1</sup>			۰/۲۵	۱/۵۴	۰/۱۴	۰/۲۰	۰/۸۹	۱/۰۶
P-value			۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۵	۰/۰۴

SEM<sup>1</sup>: خطای معیار میانگین. <sup>ab</sup> میانگین‌های با حروف گوناگون در هر ستون اختلاف آماری دارند ( $P < 0.05$ ).

سایر گروه‌های آزمایشی بود ( $P < 0/01$ ). استفاده از توکسین بایندر، پلیمر و پروبیوتیک توانست اثر سم بر کاهش تیترا پادتن علیه SRBC را جبران نماید.

اثر گروه‌های آزمایشی بر ویژگی‌های استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان دادند که گروه‌های آزمایشی توانستند وزن، طول، قطر استخوان درشتنی و استحکام آن را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دهند ( $P < 0/05$ ). بدین صورت که در پرندگان دریافت‌کننده پروبیوتیک وزن استخوان درشتنی به‌طور معنی‌داری بالاتر از پرندگان گروه شاهد مثبت بود ( $P < 0/05$ ). مصرف آفلاتوکسین به تنهایی (گروه شاهد مثبت) موجب کاهش معنی‌دار طول استخوان نسبت به جیره‌های شاهد منفی، پروبیوتیک، پلیمر و توکسین بایندر شد. تفاوت معنی‌داری بین طول استخوان در دو گروه شاهد مثبت و منفی مشاهده شد ( $P < 0/01$ ). گروه شاهد منفی دارای طول استخوان بلندتری نسبت به گروه شاهد مثبت بود. بالاترین میزان استحکام استخوان در پرندگانی مشاهده شد که با جیره حاوی پروبیوتیک تغذیه شدند و از این نظر با گروه‌های آزمایشی شاهد مثبت و منفی تفاوت معنی‌داری نشان دادند ( $P < 0/05$ ). نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های قطر کوچک و بزرگ استخوان درشتنی نشان دهنده تأثیر معنی‌دار گروه‌های آزمایشی پروبیوتیک و پلیمر بر مولفه‌های مورد نظر بود ( $P < 0/01$ ). مصرف جیره آلوده به آفلاتوکسین (شاهد مثبت) تفاوت معنی‌داری را در شاخص‌های استخوان درشتنی (غیر از طول استخوان) نسبت به گروه مصرف‌کننده جیره شاهد منفی نشان داد با این حال افزودن پروبیوتیک، پلیمر و توکسین بایندر موجب افزایش معنی‌دار شاخص طول استخوان درشتنی می‌شود ( $P < 0/05$ ).

### بحث

در آزمایش حاضر افزودنی‌های پروبیوتیک و توکسین بایندر با جذب آفلاتوکسین در دستگاه گوارش طیور باعث بهبود عملکرد در مقایسه با گروه شاهد مثبت (دارای آفلاتوکسین و بدون افزودنی) شدند (جدول ۲). کاهش رشد ناشی از حضور آفلاتوکسین در جیره می‌تواند با کاهش مصرف خوراک در ارتباط باشد که در آزمایش حاضر در دوره آغازی به‌طور معنی‌داری مشاهده شد و با گزارش‌های پیشین مبنی بر تأثیر منفی آفلاتوکسین بر عملکرد مطابقت دارد (۸،۲۱،۲۹). پایین آمدن مصرف خوراک و سرعت

تأثیر گروه‌های آزمایشی مختلف بر شاخص‌های بیوشیمیایی و سطوح مواد معدنی سرم خون در جداول ۳ و ۴ نشان داده شده است. میزان پروتئین تام، آلومین، فسفر، منیزیم و روی در گروه شاهد مثبت به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد منفی بود ( $P < 0/05$ ). از نظر مقدار پروتئین تام سرم، گروه شاهد مثبت نسبت به گروه شاهد منفی کاهش معنی‌داری نشان دادند ( $P < 0/05$ ). در مورد سطح آلومین سرم، مصرف پروبیوتیک باعث افزایش معنی‌دار آن در قیاس با گروه آزمایشی شاهد مثبت گردید ( $P < 0/05$ ). بالاترین میزان گلوبولین سرم در گروه پلیمر و شاهد منفی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گروه پروبیوتیک نشان داد. نسبت آلومین به گلوبولین در گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با هم نشان ندادند، به‌جز گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک که بیشترین نسبت آلومین به گلوبولین را نشان داد ( $P < 0/05$ ). میزان فسفر سرم در گروه شاهد مثبت به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر گروه‌ها بود. گروه‌های پروبیوتیک و پلیمر بیشترین میزان منیزیم سرم را داشتند و اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد مثبت نشان دادند ( $P < 0/05$ ). میزان روی در گروه‌های شاهد منفی، پروبیوتیک و پلیمر تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مثبت داشت ( $P < 0/05$ ). کمترین میزان روی در گروه شاهد منفی و بیشترین آن در گروه پلیمر مشاهده شد ( $P < 0/05$ ).

تأثیر گروه‌های آزمایشی مختلف بر فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد گروه آزمایشی شاهد مثبت موجب افزایش معنی‌دار سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) سرم در مقایسه با گروه شاهد منفی شد ( $P < 0/01$ ). همچنین گروه آزمایشی پلیمر موجب کاهش معنی‌دار سطح آنزیم AST در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی به‌جز گروه آزمایشی شاهد منفی شد ( $P < 0/001$ ). افزایش فعالیت آنزیم ALT سرم ناشی از مسمومیت آفلاتوکسین توسط هیچ‌یک از افزودنی‌ها بهبود نیافت ( $P < 0/01$ ). گروه آزمایشی پلیمر موجب کاهش معنی‌دار سطح فعالیت آنزیم ALP در مقایسه با سایر گروه‌ها شد. همه افزودنی‌ها فعالیت آنزیم LDH را در قیاس با گروه شاهد مثبت افزایش دادند ( $P < 0/05$ ).

در بررسی پاسخ ایمنی هومورال به تزریق پادکن گلوبول قرمز گوسفند (SRBC) در سن ۲۴ روزگی، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد ( $P < 0/01$ ) (جدول ۵). تیترا SRBC در گروه شاهد مثبت تحت تأثیر آفلاتوکسین به‌طور معنی‌داری کمتر از

که سبب کاهش میزان پروتئین تام می‌شوند، می‌توان به افزایش سوخت و ساز پروتئین‌ها در جریان تنش‌های حاد، کاهش سنتز پروتئین به دلیل آسیب‌های وارده به کبد و همچنین کاهش بازجذب پروتئین‌ها در اثر آسیب‌های کلیوی اشاره کرد (۳۴). با این حال، برخی از مطالعات نشان دادند که میزان این فراسنجه‌ها و گلوبولین در اثر دریافت آفلاتوکسین تغییر نمی‌یابند (۲). ترکیبات افزودنی مورد مطالعه اثرات نامطلوب آفلاتوکسین بر سطح سرمی پروتئین تام را تخفیف دادند. کاهش پروتئین تام تحت تأثیر آفلاتوکسین و اثرات ترکیبات افزودنی مورد مطالعه بر پارامترهای سرم با مطالعات قبلی در این زمینه مطابقت دارد (۱۲، ۱۳). مصرف آفلاتوکسین در بلدرچین ژاپنی باعث کاهش پروتئین تام، آلبومین سرم و افزایش غلظت اسید اوریک و کراتینین سرم شد. حضور پروبیوتیک در جیره حاوی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> باعث تعدیل سطح این فراسنجه‌ها شد (۱۰). Arab Abousadi و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که افزودن دیواره سلولی مخمر به جیره آلوده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> باعث جلوگیری از تغییر در میزان این شاخص‌ها می‌شود (۵).

تغییر در میزان کلسترول سرم در بیماری‌های کبدی گزارش شده است (۱۸). در آزمایش حاضر میزان گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید در بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج آزمایش حاضر با نتایج Azimi و همکاران در سال ۲۰۱۳a مطابقت دارد، که در آن هیچ‌گونه تفاوتی در مقدار تری‌گلیسرید پلاسما بین جیره پایه بدون سم و افزودنی و شاهد حاوی ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین مشاهده نشد (۷). در آزمایش حاضر میزان گلوکز بین گروه شاهد مثبت و منفی در سن ۲۴ روزگی تفاوت معنی‌داری نداشت. مشابه این نتایج در گزارش Bovo و همکاران در سال ۲۰۱۵ نیز بدست آمد (۱۳). عدم تأثیر افزودن بنتونیت سدیم به خوراک بر افزایش تری‌گلیسرید و کاهش کلسترول سرم ناشی از آفلاتوکسین گزارش شده است (۳۶). بررسی Taherpour و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داد که با استفاده از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در خوراک جوجه‌های گوشتی تغییر معنی‌داری در میزان تری‌گلیسرید آن‌ها مشاهده نشد (۳۸). آفلاتوکسین‌ها باعث ایجاد تغییر در متابولیسم کلسیم و فسفر غیرآلی می‌شوند. این تغییرات ممکن است در نتیجه آسیب کلیه‌ها، روده و پاراتیروئید باشد که مقادیر کلسیم و فسفر غیرآلی را تنظیم می‌کنند (۱۹). حضور آفلاتوکسین به میزان ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی موجب کاهش غلظت فسفر سرم در سن ۲۴ روزگی جوجه‌ها شد (جدول ۴) که در

رشد به علت کاهش فعالیت آنزیم‌های مهم در هضم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و اختلال و نقص در جذب برخی از مواد مغذی است و در نتیجه با بروز کمبود این مواد ارتباط دارد. بهبود افزایش وزن بدن در گروه آزمایشی توکسین بایندر احتمالاً به دلیل ارتباط بین گروه کربونیل آفلاتوکسین و بخش انتهایی یون نامتقارن آلومینیوم موجود در ساختار ترکیبات آلومینوسیلیکاتی باشد که سبب کاهش قابلیت دسترسی به سم و مهار سمیت آن در جوجه‌ها می‌شود (۳۲). پروبیوتیک‌ها در دوره‌های ابتدایی پرورش اثر چندان زیادی بر مصرف خوراک ندارند، اما با افزایش سن، ممکن است باکتری‌های پروبیوتیک از طریق تأثیراتی که بر جمعیت‌های میکروبی و فرآیندهای هضمی می‌گذارند، مصرف خوراک را افزایش دهند (۲۳، ۲۴). به‌طور کلی پروبیوتیک‌ها با تأثیری که بر روند هضم و جذب مواد مغذی دارند، موجب افزایش مصرف خوراک می‌شوند که با نتایج آزمایش حاضر در دوره میانی و کل دوره آزمایش هم خوانی دارد. در تحقیقی مشخص شد گنجاندن AFB<sub>1</sub> به میزان ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در رژیم غذایی باعث کاهش رشد بلدرچین شد و مکمل پروبیوتیکی مانع از کاهش وزن بدن و سبب بهبود راندمان خوراک گردید (۱۰). با استفاده از لاکتوباسیلوس پلانتاروم به عنوان پروبیوتیک، حدود ۲۰ درصد بهبود افزایش وزن در جوجه‌های گوشتی مسموم شده با آفلاتوکسین گزارش شده است (۲۱).

مسمومیت با آفلاتوکسین‌ها در جوجه‌های گوشتی قبل از این‌که نشانه‌های کلینیکی آشکار شوند، با بررسی تغییرات بیوشیمیایی و خون‌شناسی قابل تشخیص است (۷). گزارش‌های متعدد حاکی از کاهش میزان پروتئین تام و آلبومین سرم در جانورانی است که در تماس با آفلاتوکسین قرار گرفته‌اند (۷، ۲۸). گزارش شده است که کاهش میزان گلوکز، پروتئین تام، کلسیم و فسفر سرم در شرایط آفلاتوکسیکوز، نشانه آسیب‌های کبدی توسط سم است (۴۱). Chen و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که مصرف آفلاتوکسین به‌طور قابل توجهی سطح سرمی گلوکز، آلبومین، پروتئین تام، گلوبولین و فسفر را کاهش می‌دهد (۱۵). در تحقیق حاضر غلظت سرمی پروتئین تام و آلبومین در گروه آفلاتوکسین (شاهد مثبت) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه آزمایشی شاهد منفی کاهش یافت (جدول ۳). با توجه به اثر تخریبی سموم بر بافت کبد، ساخت پروتئین‌های پلاسما و به‌ویژه آلبومین کاهش می‌یابد. کاهش آلبومین در گروه‌های آزمایشی حاوی آفلاتوکسین احتمالاً در اثر آسیب‌های کبدی و کلیوی ناشی از ورود این سم در جیره غذایی جوجه‌ها می‌باشد. از جمله عواملی

آفاتوکسین باعث افزایش سطح سرمی فعالیت آنزیم ALT در مقایسه با رژیم غذایی شاهد منفی شدند. افزودن پروبیوتیک به آب آشامیدنی پرندگان دریافت کننده خوراک آلوده، باعث بهبود فعالیت این آنزیم‌ها شد (۱۰).

آفاتوکسین مانع توسعه و رشد بافت استخوانی در جوجه‌های گوشتی می‌شود و این اثرات بیشتر در استخوان درشت‌نی دیده می‌شوند (۲۹). Mutus و همکاران در سال ۲۰۰۶ بیان کردند که ضخامت دیواره استخوان درشت‌نی با استفاده از پروبیوتیک در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهد (۲۷). این محققان همچنین از افزایش عددی شاخص استحکام استخوان درشت‌نی در نتیجه استفاده از پروبیوتیک خبر دادند. نتایج بررسی تأثیر ژئولیت شامل عدم تأثیر بر فراسنجه‌های مربوط به استخوان درشت‌نی (۳۵) و یا بهبود (۱) فراسنجه‌های مربوط به استخوان درشت‌نی در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است.

سرکوب سیستم ایمنی توسط آفاتوکسین نمونه‌ای بارز از سرکوب پاسخ‌های هومورال است و حیواناتی که در معرض این سرکوب هستند، نسبت به سرطان بسیار حساس می‌باشند (۸،۳۹). Verma و همکاران در سال ۲۰۰۴ با افزودن ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم آفاتوکسین به جیره جوجه‌های گوشتی مشاهده کردند که عیار پادتن تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند در ۳۲، ۳۷، ۴۲ و ۴۷ روزگی کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل داشت (۴۰). با افزایش غلظت سم، عیار پادتن به میزان بیشتری کاهش یافت. کاهش عیار پادتن ممکن است در اثر کاهش سنتز پروتئین‌ها و ایمونوگلوبولین‌ها، کاهش در تعداد لنفوسیت‌ها و اثرات روی بورس فابریسیوس باشد (۴۲). کاهش سطح پروتئین تام و اجزاء آن در پژوهش حاضر مشاهده شد. در مطالعه حاضر، استفاده از پروبیوتیک سطح ایمونوگلوبولین را افزایش داده و عملکرد سیستم ایمنی بدن را بهبود بخشید، که این یافته‌ها با نتایج Barati و همکاران در سال ۲۰۱۸ مطابقت دارد (۱۲). Manafi در سال ۲۰۱۲ در آزمایشی با بررسی تغذیه جیره غذایی آلوده به ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفاتوکسین و ۰/۷۵ و ۱ درصد بنتونیت سدیم به جوجه‌های گوشتی، بهبود اثرات منفی آفاتوکسین بر تیترا پادتن به‌وسیله بنتونیت سدیم را گزارش کرد که مطابق نتایج این آزمایش بود (۲۶). همین محقق در آزمایش دیگری افزایش پاسخ ایمنی هومورال را با استفاده از جاذب طبیعی گزارش نمود (۲۵).

مقایسه با شاهد منفی معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). محققان در بررسی‌های خود به کاهش میزان فسفر سرم خون در اثر مسمومیت با آفاتوکسین اشاره نموده‌اند که با نتایج حاصل از این بررسی هم‌خوانی داشت (۴،۲۸). کاهش فسفر سرم را می‌توان به تأثیر منفی آفاتوکسین بر متابولیسم ویتامین D و جلوگیری از تبدیل ویتامین D به کوله کلسیفرول در کبد و در نتیجه کاهش جذب روده‌ای فسفر نسبت داد. در آزمایش حاضر میزان کلسیم سرم تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی مختلف نشان نداد ( $P > 0/05$ ). در این آزمایش استفاده از مواد افزودنی در جیره‌های حاوی آفاتوکسین باعث افزایش سطح کلسیم و فسفر سرم نسبت به گروه شاهد مثبت شدند. طبق مطالعات پیشین مصرف خوراک آلوده به آفاتوکسین باعث کاهش سطوح کلسیم و فسفر سرم شد و افزودن بنتونیت سدیم و مونت موریلونیت تأثیری در میزان کاهش نداشت (۱۱،۳۶). همچنین مصرف خوراک آلوده به آفاتوکسین در موش باعث کاهش سطح روی سرم نسبت به گروه کنترل شد و تنها افزودن برخی جاذب‌ها (پلی ذورب) موجب افزایش سطح روی سرم شد (۷).

افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی به‌عنوان شاخص حساس سرولوژیکی در مسمومیت‌های کبد و کلیه گزارش شده است (۹،۳۸). افزایش سطوح ALT، AST و ALP ممکن است نشانه تغییرات دژنراتیو در بافت کبد باشد (۶). در مقابل عدم تغییر در فعالیت آنزیم‌های مربوطه در مسمومیت خوراک‌ها به آفاتوکسین نیز گزارش شده است (۱۶). به‌طور کلی این آنزیم‌ها مختص پلاسما نبوده، بلکه بیشتر درون سلول‌ها وجود دارند و در اثر آسیب دیدن سلول‌ها وارد پلاسما می‌شوند. یکی از دلایل افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند آسیب‌های وارده به هیپاتوسیت‌ها باشد. در آزمایش حاضر آفاتوکسین باعث افزایش مقدار ALT و AST در مقایسه با گروه شاهد منفی شد که بالا رفتن این آنزیم‌ها در سرم به‌عنوان شاخصی از تخریب کبد می‌باشد (جدول ۵). مصرف پلیمر باعث کاهش مقادیر آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز در کبد شد ( $P < 0/05$ ). همچنین افزودن مواد جاذب پلیمری و توکسین بایندر به جیره حاوی آفاتوکسین باعث کاهش فعالیت ALP سرم در مقایسه با گروه آفاتوکسین شد. افزودن مواد جاذب به جیره حاوی آفاتوکسین B1 باعث کاهش غلظت این آنزیم‌ها در سرم می‌شود که نشان دهنده تأثیر مواد جاذب مختلف در کاهش تأثیر آفاتوکسین B1 می‌باشد (۲۸). جیره‌های غذایی آلوده به



قسمت‌های خوراکی لاشه می‌تواند تصویر دقیق‌تری از کارایی این افزودنی‌ها ارائه نماید.

### سپاسگزاری

نگارندگان از گروه دانش بنیان ویوان و شرکت زیستی طبیعت‌گرا در تأمین ماده آزمایشی و حمایت از اجرای این تحقیق قدردانی می‌نمایند.

### تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

### References

- Abas, I., Bilal, T., Eseceli, H. (2011). The effect of organic acid, zeolite, or their combination on performance, some serum indices, and ileum pH values in broilers fed with different phosphorus. *Turkish J Vet Anim Sci*, 35, 337-344. <https://doi.org/10.3906/vet-1103-2>
- Abdelhamid, A.M., Salem, M.F.I., Mehri, A.I., El-Sharawy, M.A.M. (2007). Nutritious attempts to detoxify aflatoxin diets of tilapia fish: 1. Fish performance, feed and nutrients utilization, organs indices, residues and blood parameters. *Egyptian J Nut Feeds*, 10, 205-223.
- Allameh, A., Safamehr, A.R., Mirhadi, S.A., Shivazad, M., Razzaghi-Abyaneh, M., Afshar-Naderi, A. (2005). Evaluation of biochemical and production parameters of broiler chicks fed ammonia treated aflatoxin contaminated maize grains. *Anim Feed Sci Tech*, 122, 289-301. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.03.005>
- Allameh, A., Saxena, M., Raj, H.G. (1998). Differential effects of phenolic antioxidants on the metabolism of aflatoxin B1. *J Toxicol: Toxin Rev*, 8, 133-139. <https://doi.org/10.3109/15569548909059745>
- Arab Abousadi, M., Rowghani, E., Ebrahimi Honarmand, M. (2007). The efficacy of various additives to reduce the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. *Iranian J Vet Res*, 8(2), 144-150.
- Aravind, K.L., Patil, V.S., Devegowda, G., Umakantha, B., Ganpule, S.P. (2003). Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally-contaminated feed on performance, serum biochemical and haematological parameters in broilers. *Poult Sci*, 82, 570-576. <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.571>
- Azimi, J., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A. (2013a). Comparison of effectiveness of some mycotoxin absorbents on alteration of biochemical and hematological parameters in broiler chickens. *Anim Sci Res*, 22(3), 49-62. (In Persian).
- Azimi, J., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A., Ahari, H. (2013b). Effect of adding two commercial absorbent materials and natural zeolite in feeds contaminated with aflatoxin B1 on broiler performance and immune system. *Iranian J Anim Sci Res*, 4(4), 292-297. (In Persian).
- Azizpour, A., Moghadam, N. (2015). Assessment of serum biochemical parameters and pathological changes in broilers with chronic aflatoxicosis fed glucomannan-containing yeast product (Mycosorb) and sodium bentonite. *Bull Vet Inst Pulawy*, 59, 205-211. <https://doi.org/10.1515/bvip-2015-0031>
- Bagherzadeh Kasmani, F., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A.A., Sharitmadari, F. (2012). A novel aflatoxin binding *Bacillus* probiotic: performance, serum biochemistry and immunological parameters in Japanese quail. *Poult Sci*, 91, 1846-1853. <https://doi.org/10.3382/ps/2011-01830>
- Bailey, C.A., Latimer, G.W., Barr, A.C., Wigle, W.L., Haq, A.U., Balthrop, J.E., Kubena, L.F. (2006). Efficacy of montmorillonite clay (NovaSil PLUS) for protecting full-term broilers from aflatoxicosis. *J Appl Poult Res*, 15, 198-206. <https://doi.org/10.1093/japr/15.2.198>
- Barati, M., Chamani, M., Mousavi, S. N., Hoseini, S.A., Taj Abadi Ebrahimi, M. (2018). Effects of biological and mineral compounds in aflatoxin-contaminated diets on blood parameters and immune response of broiler chickens. *J Appl Anim Res*, 46, 707-713. <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1388243>
- Bovo, F., Franco, L.T., Kobashigawa, E., Rottinghaus, G.E., Ledoux, D.R., Oliveira, C.A.F. (2015). Efficacy of beer fermentation residue containing *Saccharomyces cerevisiae* cells for ameliorating aflatoxicosis in broilers. *Poult Sci*, 94, 934-942. <https://doi.org/10.3382/ps/pev067>
- Cheema, M., Qureshi, M., Havenstein, G. (2003). A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 random bred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poult Sci*, 82, 1519-1529. PMID: 14601727
- Chen, X., Horn, N., Applegate, T.J. (2014). Efficiency of hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of graded levels of aflatoxin B1 in broiler chicks. *Poult Sci*, 93, 2037-2047. <https://doi.org/10.3382/ps.2014-03984> PMID: 24894529
- Edrington, T.S., Kubena, L.F., Harvey, R.B., Rottinghaus, G.E. (1997). Influence of a super activated charcoal on the toxic effects of aflatoxin or T2 toxin in growing broilers. *Poult Sci*, 76, 1205-1211. <https://doi.org/10.1093/ps/76.9.1205>
- Fernandez, A., Maria, T.V., Gascon, M., Ramos, J., Gomez, J., Luco, D.F., Chavez, G. (1994). Variations of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chickens fed

- aflatoxin containing feed. *Avian Pathol*, 23, 37-47. <https://doi.org/10.1080/03079459408418973> PMID: 18671070
18. Glahn, R.P., Beers, K.W., Bottje, W.G., Wideman, R.F., Huff, W.E., Thomas, W. (1991). Aflatoxicosis alters avian renal function, calcium, and vitamin D metabolism. *J Tox Environ Health*, 34, 309-321. <https://doi.org/10.1080/15287399109531570>
  19. Haskard, C.A., El-Nezami, H.S., Kankaanpaa, P.E., Salminen, S., Ahokas, J.T. (2001). Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. *Appl Environ Microb*, 67, 3086-3091. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.3086-3091.2001> PMID: 11425726
  20. Khanian, M., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A. (2019). Alleviation of aflatoxin-related oxidative damage to liver and improvement of growth performance in broiler chickens consumed *Lactobacillus plantarum* 299v for entire growth period. *Toxicon*, 158, 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.11.431> PMID: 30529382
  21. Mahmoodtbar, A., Karimi Torshizi, M.A., Sharafi, M., Mojgani, N. (2018). The effect of some poultry probiotics produced in Iran on performance parameters, economic indices and small intestinal morphology of broilers. *Iranian J Anim Sci*, 49(3), 415-425. <https://doi.org/10.22059/ijas.2018.249544.653602>
  22. Mahmoodtbar, A., Karimi Torshizi, M.A., Sharafi, M., Mojgani, N. (2017). Comparing the effects of antibiotic growth promoter, some Iranian probiotics and similar imported products on performance, economic indicators and small intestinal morphology of broilers. *Iranian J Anim Sci*, 48(3), 321-334. <https://10.22059/IJAS.2017.236971.653541>
  23. Manafi, M. (2018). Impact of application of natural toxin binder on performance, humoral immune response, cecal microbial population and changes in small intestine morphology of broilers fed with diet contaminated with aflatoxin B1. *J Vet Res*, 73(3), 273-282. <https://10.22059/JVR.2018.128340.2327>
  24. Manafi, M. (2012). Counteracting effect of high grade sodium bentonite during aflatoxicosis in broilers. *J Agric Sci Tech*, 14, 539-547.
  25. Mutus, R., Kocabagl, N., Alp, M., Acar, N., Eren, M., Gezen, S.S. (2006). The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Poult Sci*, 85, 1621-1625. <https://doi.org/10.1093/ps/85.9.1621>
  26. Oguz, H., Kurtoglu, F., Kurtoglu, V., Birdane, Y.O. (2002). Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary aflatoxin (50-100 ppb) and clinoptilolite exposure. *Res Vet Sci*, 73, 101-103. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00040-1](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00040-1)
  27. Osweiler, G.D., Jagannatha, S., Trampel, D.W., Imerman, P.M., Ensley, S.M., Yoon, I., Moore D.T. (2010). Evaluation of XPC and prototypes on aflatoxin-challenged broilers. *Poult Sci*, 89, 1887-1893. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00773>
  28. Raju, M.V.L.N., Devegowda, G. (2002). Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *Br Poult Sci*, 41, 640-650. <https://doi.org/10.1080/713654986>
  29. Ramos, A.J., Hernandez, E. (1997). Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: a review. *Anim Feed Sci Tech*, 65, 197-206. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(96\)01084-X](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(96)01084-X)
  30. Rawal, S., Kim, J.E., Coulombe, J.R. (2010). Aflatoxin B1 in poultry: Toxicology, metabolism and prevention. *Res Vet Sci*, 89, 325-331. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.04.011>
  31. Rehulka, J., Minarik, B., Adamec, V., Rehulkova, E. (2005). Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aqua Res*, 36, 22-32. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01177.x>
  32. Safari, M.H., Shams Shargh, M., Amini, A., Tatyar, A. (2014). Effects of different levels of natural glauconite and zeolite on performance, tibia bone characteristics and blood parameters of broiler chicken. *Anim Sci J*, (Pajouhesh Va Sazandegi), 105, 167-178. (In Persian).
  33. Santurio, J.M., Mallmann, C.A., Rosa, A.P., Appel, G., Heer, A., Degeforde, S., Bottcher, M. (1999). Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. *Br Poult Sci*, 40, 115-119. <https://doi.org/10.1080/00071669987935>
  34. Shi, Y.H., Xu, Z.R., Feng, J.L., Wang, C.Z. (2006). Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Anim Feed Sci Tech*, 129, 138-148. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.12.006>
  35. Taherpour, K., Moravej, H., Shivazad, M., Adibmoradi, M., Yakhchali, B. (2009). Effects of dietary probiotic, prebiotic and butyric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. *African J Biotech*, 8, 2329-2334.
  36. Thaxton, J.P., Tung, H.T., Hamilton P.B. (1974). Immunosuppression in thrombocytes during aflatoxicosis. *Poult Sci*, 58, 562-566.
  37. Verma, J., Johri, T.S., Swain, B.K., Ameena, S. (2004). Effect of graded levels of aflatoxin and their combinations on the performance and immune response of broilers. *Br Poult Sci*, 45, 512-518. <https://doi.org/10.1080/00071660412331286226>
  38. Yunus, A.W., Razzazi-Fazeli, E., Bohm, J. (2011). Aflatoxin B1 in affecting broiler's performance, immunity, and gastrointestinal tract: A review of history and contemporary issues. *Toxins*, 3, 566-590. <https://doi.org/10.3390/toxins3060566> PMID: 22069726
  39. Zhao, J., Shirley, R.B., Dibner, J.D., Uraizee, F., Officer, M., Kitchell, M., Vazquez-Anon, M., Knight, C.D. (2010). Comparison of hydrated sodium calcium aluminosilicate and yeast cell wall on counteracting aflatoxicosis in broiler chicks. *Poult Sci*, 89, 2147-2156. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00608>



## The Efficiency of Probiotic and Toxin Binders (Organic and Inorganic) in Amelioration of Aflatoxin Impact on Performance, Serum Biochemistry, and Tibia Characteristics in Broiler Chickens

Farzaneh Khorshidi<sup>1</sup>, Mohammad Amir Karimi Torshizi<sup>2</sup>, Hamed Ahmadi<sup>2</sup>, Homa Arak<sup>1</sup>, Naheed Mojjani<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduated from the Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Poultry Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Department of Biotechnology, Razi Serum and Vaccine Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

doi [10.22059/jvr.2019.273836.2888](https://doi.org/10.22059/jvr.2019.273836.2888)

Received: 30 June 2020, Accepted: 12 September 2020

### Abstract

**BACKGROUND:** Aflatoxins are mainly developed during the storage of feedstuffs, and their destruction is difficult after the occurrence. The most practical strategy to combat aflatoxins is the use of mycotoxin binders.

**OBJECTIVES:** Comparison of the efficiency of traditional and lab-synthesized polymeric mycotoxin binder with gastrointestinal microflora modulating feed additives in amelioration of aflatoxin effects in broiler chicken.

**METHODS:** A total of 240 1-day old broilers (Ross 308, straight forward) were examined in a completely randomized design with five treatments and four replicates of 12 birds for 24 days of study duration. Treatments were: 1. The negative control, feed without aflatoxin or any feed additive, 2. The positive control, aflatoxins contaminated feed (500 µg/kg), 3. Aflatoxins + probiotic (Hypro Tect), 4. Aflatoxins + molecular imprinted polymer (MIP), and 5. Aflatoxins + commercial toxin-binder (Zarin-binder). The growth performance of birds was measured during the experiment. At the end of the experiment, some biochemical and immunological analyses were performed on blood samples. Some bone characteristics were studied on tibia samples.

**RESULTS:** Supplementation of probiotics and toxin-binder in aflatoxin-contaminated feed improved the aflatoxin-induced reduction of feed intake and body weight gain in the first 10 days of the experiment ( $P < 0.05$ ), compared to positive control group. Aflatoxin alone (the positive control) or with the feed additives did not affect feed conversion ratio. Aflatoxin reduced the levels of serum total protein, albumin, phosphorus, magnesium, and zinc ( $P < 0.05$ ). Use of probiotic, MIP and commercial toxin-binder, in aflatoxin-contaminated feeds, has alleviated the adverse effects of aflatoxin on serum albumin ( $P < 0.05$ ). The tibia weight increased in probiotic and MIP fed broilers compared to the birds fed aflatoxin-contaminated feed without additives-the positive control ( $P < 0.05$ ). The highest tibia breaking strength was observed in probiotic fed birds, which was different from that of the positive control group. The tibia length was decreased by the aflatoxin compared to the negative control birds ( $P < 0.05$ ). Anti-SRBC titers were decreased in aflatoxin contaminated group without feed additive supplementation-positive control ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSIONS:** The tested feed additives in present study exerted just partial protection against some aflatoxicosis effects. The extent of effectiveness of studied feed additives in amelioration of aflatoxicosis affects on performance, immunological, skeletal and serum biochemical parameters could be ranked as probiotics, MIP and toxin binder, respectively.

**Keywords:** Aflatoxin, Broiler chicken, Molecular imprinted polymer, Probiotic, Toxin binder

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: karimitm@modares.ac.ir Tel/Fax: 021-48292356/021-48292200

### How to cite this article:

Khorshidi, F., Karimi Torshizi, M., Ahmadi, H., Arak, H., Mojjani, N. (2021). The Efficiency of Probiotic and Toxin Binders (Organic and Inorganic) in Amelioration of Aflatoxin Impact on Performance, Serum Biochemistry, and Tibia Characteristics in Broiler Chickens. J Vet Res, 75(4), 431-441. <https://doi.org/10.22059/jvr.2019.273836.2888>

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Composition of the ingredients and nutrients of basal diets.

**Table 2.** Effect of feed additives on growth performance of experimental aflatoxins intoxicated broilers.

**Table 3.** Effect of feed additives on serum biochemical parameters of experimental aflatoxins intoxicated broilers.

**Table 4.** Effect of feed additives on serum minerals of experimental aflatoxins intoxicated broilers.

**Table 5.** Effect of feed additives on liver enzymes activity and anti-sheep red blood cells titers of experimental aflatoxins intoxicated broilers.

**Table 6.** Effect of feed additives on tibia characteristics of experimental aflatoxins intoxicated broilers.