نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۴، پاییز ۱۳۹۸
ص‌ص: ۲۱۳~۲۲۸

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
- **علی‌اصغر ساکی**(نویسنده مسئول)
  استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان.
- **محمد یوسف علیخانی**
  استاد گروه میکروب‌شناسی 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 به‌منظور بررسی اثر پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* در کاهش اثرات مضر آفلاتوکسین B1 از ٤٨٠ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه (نر و ماده) سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملا تصادفی به‌صورت فاکتوریل (۲×۲×۲) با ۸ تیمار، ٤ 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 10^9 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< ۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی در کل دوره تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). فعالیت آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز،آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز افزایش معنی‌داری در تیمار آفلاتوکسین B1 نشان دادند (P< ۰/۰۵). تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و درصد هماتوکریت و هموگلوبین در گروه آفلاتوکسین B1 نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند (P< ۰/۰۵). کم‌ترین عیار پادتن علیه بیماری نیوکاسل و گلبول قرمز گوسفند و همچنین کم‌ترین ضخامت پوست در پاسخ به فیتوهماگلوتنین در گروه آفلاتوکسین B1 مشاهده شد(P< ۰/۰۵). 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< ۰/۰۵).

واژه‌های کلیدی: جوجه‌های گوشتی، آفلاتوکسین **B1**، باسیلوس‌آمیلولیکوفاسیانس، عملکرد، پارامترهای خونی وپاسخ 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 chickens

By: Mansoureh Abdolmaleki[1] Aliasghar Saki[2*] and Mohammad yousef Alikhani[3]
[1,2]Department of animal science, faculty of agriculture, Bu-Ali Sina university, Hamedan, Iran.
[3]Department 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 disgine with a 2× 2 × 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 µg/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

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 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 محصولاتی 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[1]، آفلاتوکسین B2[2] ، آفلاتوکسین

[1] Aflatoxin B1
[2] Aflatoxin B2

G1 [3] و آفلاتوکسین G2[4] مهمترین مایکوتوکسین‌ها در مواد خوراکی و غذایی به‌شمار می‌روند. به علت اثرات سمی آفلاتوکسین B1، از سوی آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان در گروه یک عامل سرطان‌زا در انسان دسته بندی شده است (IRAC، ۲۰۰۲؛ Corcuera و همکاران، ۲۰۱۲). روش‌های فیزیکی و شیمیایی زیادی برای حذف یا غیرفعال‌سازی مایکوتوکسین‌ها در منابع آمده است (Stove، ۲۰۱۳). با این حال این روش‌ها محدودیت‌هایی در رابطه با مسائل ایمنی، از بین رفتن ارزش غذایی و طعم و مزه غذا دارند که با راندمان محدود و افرایش هزینه‌ها متقارن شده است. در سال‌های اخیر، استفاده از عوامل جذب مایکوتوکسین برای باند شدن با مایکوتوکسین‌ها در دستگاه گوارش حیوان و سپس کاهش قابلیت زیستی و سمیت آن‌ها، در برنامه‌های صنعتی خوراک نویدبخش بوده است. روش-های زیستی بر اساس فعالیت میکروارگانیسم‌ها بر مایکوتوکسین‌ها است و مکانیسم فعالیت آن‌ها بر اساس رقابت با مواد مغذی، فضا، اثر متقابل و آنتی‌بیوزیس است (Fazeli و همکاران، ۲۰۰۹). در میان باکتری‌ها، باکتری‌های اسیدلاکتیک مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی در ارتباط با دستگاه گوارش انسان‌ها هستند. آن‌ها به دلیل اثرات مفید در سلامت انسان‌ها به‌طور گسترده‌ای در صنعت خوراک استفاده می‌شوند. یکی از اثرات شناخته شده محافظت علیه توکسین‌های موجود در خوراک‌ها مانند آمین‌های حلقوی هتروسیکلیک، اسیدآمینه پیرولیزات، هیدروکربن‌های آروماتیک پلی‌سیکلیک و مایکوتوکسین‌ها هستند (Topcu وهمکاران، ۲۰۱۰). باکتری‌های اسیدلاکتیک از جمله برخی گونه‌های پروبیوتیکی مورد مطالعه قرار گرفته و برخی سویه‌ها توانایی زیادی برای باند شدن با آفلاتوکسین در محیط کشت آلوده دارند (El-Nezami و همکاران، ۱۹۹۸)، اگر چه مکانیسم عمل لاکتوباسیل‌ها بر آفلاتوکسین هنوز روش نشده است اما پیشنهاد شده است که آفلاتوکسین به‌جای برقراری پیوند کوالانسی از طریق اتصال فیزیکی به ترکیبات دیواره سلولی باکتری (پلی‌ساکاریدها و پپتیدوگلیکان‌ها) متصل می‌شود (Elsanhoty، ۲۰۱۴). گزارش شده است که *Pseudomonas aeruginosa* N17-1 پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت نوترینت براث توانست AFB1، AFB2 و آفلاتوکسین M1[5] را به ترتیب ۸۲/۸ ، ۴۶/۸و ۳۱/۹ درصد کاهش دهد (Sangare و همکاران، ۲۰۱۴). مشخص شده است که برخی از گونه‌های باسیلوس نیز مانند *باسیلوس سوبتیلیس* (Farzaneh و همکاران، ۲۰۱۲) و *باسیلوس لیکنی فرمیس* (Petchkongkaew و همکاران، ۲۰۰۸) در کاهش اثرات آفلاتوکسین موثر بوده‌اند. سیاه‌مشته 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 اکراتوکسین بود. Xu و همکاران (۲۰۱۶) سویه‌ای از باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس را از خاک جدا کردند که به‌طور 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. همین‌طور ANSB060 فعالیت ضدمیکروبی 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 جیره‌های مرغ‌های تخم‌گذار و جوجه‌های گوشتی آلوده به آفلاتوکسین در شرایط مزرعه به‌خوبی مورد تایید

[3] Aflatoxin G1
[4] Aflatoxin G2
[5] Aflatoxin M1

قرار گرفته است (Ma و همکاران، ۲۰۱۲؛ Fan و همکاران، ۲۰۱۳، ۲۰۱۵).

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 روش ها

در این آزمایش تعداد ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در دو جنس نر و ماده در یک آزمایش فاکتوریل (۲×۲×۴) در قالب طرح کاملاً تصادفی با هشت تیمار و چهار تکرار (هر تکرار شامل ۱۵ قطعه جوجه‌گوشتی) ۱ تا ۴۲ روزگی مورد بررسی قرار گرفتند. فاکتورها شامل۱) جنسیت (خروس و مرغ) ۲) آفلاتوکسین B1 در دو سطح (صفر و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)۳) پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* در دو سطح (صفر و10^9 واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی‌لیتر (cfu/ml^6) بودند. جیره‌ها بر پایه ذرت و سویا و بر اساس نیازهای سویه راس ۳۰۸ و با استفاده از نرم افزار جیره نویسی UFFAD[7] 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-5286 *Aspergillus parasiticus* (تهیه شده از بانک 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 ترا استیک اسید[8] در حدود ۲ میلی‌لیتر خون گرفته شد. تعداد گلبول‌های قرمز خون [9] با استفاده از لام هماتوسایتومتر و میکروسکوپ نوری، درصد هماتوکریت [10] با استفاده از لوله‌های مویینهٔ هماتوکریت و هموگلوبین [11] 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 به‌صورت 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 اندازه گیری 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[12] (غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و ۰/۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به ترتیب بین پرده

[6] Colony count unit

[7] User friendly feed formulation

[8] Ethylen diamine tetra acetic acid

[9] Red blood cell

[10] Packed Cell Volume

[11] Hemoglubine

[12] Phytohaemagglutinin

انگشت سوم و چهارم پای راست و چپ تزریق شد. ۲۴ ساعت پس از تزریق، میزان تورم حاصل اندازه گیری 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[13] 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 هماگلوتیناسیون 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 (Aveneiu) 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[14] بهآزمایشگاه منتقل و با استفاده از روش ممانعت از هماگلوتاسیون[15] 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 درجدول ۲ آورده شده است. جنسیت تحت تاثیر مقدار آفلاتوکسینی که در جیره استفاده شده بود قرار نگرفت (P> ۰/۰۵). اثر اصلی آفلاتوکسین B1 و پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* بر مقدار خوراک مصرفی و افزایش وزن در کل دوره پرورشی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) و آفلاتوکسین B1 موجب کاهش معنی‌دار و پروبیوتیک موجب افزایش معنی‌دار خوراک مصرفی و افزایش وزن نسبت به تیمار شاهد شدند. اثر اصلی آفلاتوکسینB1 بر ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار اما اثر اصلی پروبیوتیک بر ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار نبود (P> ۰/۰۵). اثر متقابل آفلاتوکسین B1 و پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* بر افزایش وزن و خوراک مصرفی کل دوره معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵) 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< ۰/۰۵).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> ۰/۰۵).

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< ۰/۰۵). میزان هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول قرمز و گلبول سفید[16] درغلظت 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 تیمارهامشخص شد که کم‌ترین درصد هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول قرمز و سفید در تیمارهای آفلاتوکسین B1 + شاهدهای خروس و مرغ مشاهده گردید (P< ۰/۰۵). بین تیمارهای شاهد، پروبیوتیک *باسیلوس*

[13] Sheep red blood cell
[14] Newcastle disease
[15] Hemagglutination inhibition
[16] White blood cell

آمیلولیکوفاسیانس و پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* + آفلاتوکسین B1 + شاهدهای مرغ خروس اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P> ۰/۰۵). اثر متقابل آفلاتوکسین B1 و جنس بر درصد هماتوکریت معنی‌دار 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< ۰/۰۵).

فعالیت آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز[17]، آلانین آمینو-ترانسفراز[18]، لاکتات‌دهیدروژناز[19] و آلکالین فسفاتاز[20] تحت تاثیر جنسیت قرار نگرفتند. اثرات افزودنی و تیمار بر فعالیت این شاخص‌ها معنی‌دار بود (P< 0.05). فعالیت آنزیم‌های کبدی در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B1 بیشتر از سطح صفر آفلاتوکسین بود (P< ۰/۰۵). تعداد 10^9 cfu/ml پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* فعالیت آنزیم‌های کبدی را نسبت به شاهد کاهش داد (P< ۰/۰۵). اثر متقابل آفلاتوکسین B1 و پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* بر فعالیت آنزیم‌ها معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که فعالیت آسپارات آمینوترانسفراز در تیمار آفلاتوکسین B1 + شاهد مرغ تفاوت معنی‌داری با شاهدهای مرغ و خروس نداشت (۰/۰۵ <P). 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> ۰/۰۵). تیمارهای آفلاتوکسین B1 + شاهدهای مرغ و خروس فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز را به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها افزایش دادند(P<۰/۰۵). فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار آفلاتوکسین B1 + شاهد خروس به‌طور معنی‌داری بیشتر از پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* + شاهد خروس بود اما با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتایج حاصل از فاکتورهای ایمنی در جدول ۵ گزارش شده است. اثر اصلی جنسیت تحت تاثیر آنتی‌بادی تولید شده علیه ویروس بیماری نیوکاسل گلبول قرمز گوسفند، و فیتوهماگلوتنین قرار نگرفت (P> ۰/۰۵). اثرات اصلی افزودنی در هر چهار فاکتور معنی‌دار بودند (P<۰/۰۵) و میزان فاکتورها در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B1 به‌طور معنی‌داری کم‌تر و در 10^9 واحد تشکیل دهنده کلنی *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بودند. اثر متقابل آفلاتوکسین B1 و پروبیوتیک بر میزان آنتی‌بادی تولید شده علیه بیماری نیوکاسل در روز ۱۴، گلبول قرمز گوسفندی در روز ۳۷ و فیتوهماگلوتنین معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) در مقایسه میانگین، تیمارهای آفلاتوکسین B1 + شاهدهای خروس و مرغ در روز ۱۴ آنتی‌بادی کمتری علیه بیماری نیوکاسل نسبت به سایر تیمارها تولید کردند (P<۰/۰۵). بیشترین میزان تولید آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی در تیمار پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها به جز تیمارهای آفلاتوکسین B1 + شاهدهای مرغ و خروس نداشت (P> ۰/۰۵). در مقایسه میانگین تیمارها بین تیمارهای حاوی پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* و آفلاتوکسین B1 + پروبیوتیک *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد(P> ۰/۰۵).

بحث

در چند سال اخیر استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک برای باند

[17] Aspartate amino transferase
[18] Alanine amino transferase
[19] Lactate dehydrogenas
[20] Alkaline phosphatase

شدن با آفلاتوکسین‌ها مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند برخی از سویه‌های *باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس* توانایی کاهش آفلاتوکسین‌ها، اکراتوکسین یا زیرالنون 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 جوجه-های 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 پروتیئن‌ها 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 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 می-شود. مکمل کردن گلوکومانان استریفه شده[21] (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 می یابد (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 عمدتا در کبد تجمع پیدا کرده و پس از جذب متابولیزه می‌شوند. فعالیت سرمی آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز 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،

[21] Esterified glucomanan

۲۰۰۵). نتایج نشان داد که در تیمار آفلاتوکسین B1 + شاهد خروس افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های کبدی از جمله آلانین‌آمینوترانسفراز، آسپارتات‌آمینوترانسفراز، 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 افزاش معنی‌دار فعالیت آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز 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 ، آلانین‌آمینوترانسفراز و آلکالین‌فسفاتاز 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 آنزیم-های 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 Devegowda. (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 می-انجامد. کاهش پروتیئن کل سرم به علت نقص انتقال اسیدآمینه در هنگام رونویسی در سطح mRNA و سپس جلوگیری از سنتز پروتئین می‌باشد. بررسی پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به صورت مخلوط (تیمارهای[22] BLY و Tox®) و جدا (تیمارهای[23] B، [24] L و[25] Y)، توانستند در جذب آفلاتوکسین و جلوگیری از اثرات منفی آن بر سیستم ایمنی موثر باشند (Barati وهمکاران، ۲۰۱۷). در این مطالعه پایین بودن تیتر آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل و گلبول قرمز گوسفند و کاهش ضخامت پوست در پاسخ به فیتوهماگلوتنین 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 این‌رو 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

[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

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

Dietary Cation-Anion Balance :DCAB

* پروبیوتیک باسیلوس آمیلولیکوفاسیانس به‌صورت آشامیدنی استفاده شد.

به ازای هر کیلوگرم جیره: ۸۴۰۰ واحد بین المللی رتینول استات، ۱۸۰۰ واحد بین المللی کوله کلسیفرول، ۱۲/۵ واحد بین المللی دی ال- آلفا توکوفریل، ۱/۷۶ میلی گرم منادیون سدیم بای سولفات، ۰/۱۲ میلی گرم بیوتین، ۱/۲ میلی گرم تیامین، ۳/۲ میلی گرم ریبوفلاوین، ۶/۴ میلی گرم کلسیم دی پنتوتنات، ۱/۹۷ میلی گرم پیریدوکسین، ۲۸ میلی گرم نیکوتینیک اسید، ۰/۰۱ میلی گرم سیانوکوبالامین، ۳۲۰ میلی گرم کولین کلراید، ۰/۳۸ میلی‌گرم 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.

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

* حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۵ درصد است. [1] SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

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

گروه‌ها	هماتوکریت (٪)	گلبول قرمز (number×106/mm3)	گلبول سفید (number×103/mm3)	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 خروس	۲۸/۱۷^{c}	۱/۷۳^{b}	۱۶۸۳۳/۰۰^{b}	۲/۵۰^{bc}
آفلاتوکسین B1+ شاهد مرغ	۲۷/۳۳^{c}	۱/۶۰^{b}	۱۶۶۶۷/۰۰^{b}	۶/۷۷^{c}
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 B1*پروبیوتیک	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۲۵۸	۰/۰۰۳۵
جنس	<۰/۰۰۰۱	۰/۲۰۸۳	۰/۷۹۹۱	<۰/۰۰۰۱
آفلاتوکسین B1* جنس	۰/۰۴۱۹	۰/۹۶۱۹	۰/۸۹۸۷	۰/۸۸۳۵
پروبیوتیک * جنس	۰/۱۳۴۳	۰/۹۶۱۹	۰/۷۹۹۱	۰/۹۷۶۶
آفلاتوکسین B1* پروبیوتیک* جنس	۰/۰۱۰۸	۰/۸۸۶۰	۰/۸۹۸۷	۰/۷۹۲۱

* حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح خطای ۵ درصد است. [1] SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ٤- اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم جوجه¬ها گوشتی در ٤٢ روزگی

گروه‌ها	آسپارتات آمینوترانسفراز	آلانین آمینوترانسفراز	لاکتات‌دهیدروژناز	آلکالین‌فسفاتاز
	(IU/l)			
جنسیت				
مرغ	۲۳۸/۱۷	۳/۸۲	۲۳۷۷/۵	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}	۸۷۳۷/۷^{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. [1] SEM: 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 فیتوهماگلوتنین در جوجه¬های 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. SEM[4] = خطای استاندارد میانگین‌ها

ND[1]: عیار پادتن تولید شده علیه واکسن نیوکاسل، SRBC[2]: آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند؛ PHA[3]:فیتوهماگلوتنین.

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 broile. 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 B 1 conversion: purification and ESI-MS/MS identification. *Microbiology Resarch*. 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 toxity 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 andTechnology*.

Dhanapal, S.K., Rao, S., Govindaraju, P.K.P., Hukkeri, R., and Mathesh, K. (2014). Ameliorative efficacy of citrus fruit oil in aflatoxi-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 Protectection*. 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*

Chemisrty 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. *Jornal 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, Beijingm, 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. *Eurpean 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. T*oxicology 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., Teguia, 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 Animimal Resarch*. 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. *Resarch 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. *Immmunopharmacology 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.