

## بررسی اثر بنتونیت سدیم، دیواره‌ی سلولی مخمر و مقادیر مختلف اسید هیومیک بر کاهش اثرات آفلاتوکسین در جوجه‌های گوشتی

• حسن قهری

عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه (نویسنده مسئول)

• محمد امین زندیه

دانشجوی دوره ی دکترای دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه

• ایرج برنوسی

عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: اسفندماه ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: آذرماه ۱۳۸۸

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۴۱۸۷۱۵۸۸

Email: gahri\_hasan@yahoo.com

### چکیده

این مطالعه جهت بررسی اثر دیواره‌ی سلولی مخمر، بنتونیت سدیم و اسید هیومیک بر کاهش اثرات آفلاتوکسین در جیره های غذایی جوجه‌های گوشتی (۲۵۴ ppb)، که به‌طور تجربی به آن اضافه شده بود، انجام پذیرفت. آزمایش اصلی از سن ۷ روزگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با نه تیمار و چهار تکرار و با در نظر گرفتن دوازده قطعه جوجه‌ی گوشتی جنس نر در هر تکرار از یک گروه آزمایشی، جمعاً بر روی ۴۲۲ قطعه جوجه‌ی گوشتی انجام گرفت. گروه‌های آزمایشی شامل: (۱) جیره‌ی شاهد، (۲) جیره‌ی حاوی ذرت کپک‌زده، (۳) ۷،۶،۵،۴،۳ به ترتیب جیره‌های حاوی ذرت کپک‌زده به‌اضافه‌ی ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱/۰ درصد اسید هیومیک، (۸) جیره‌ی حاوی ذرت کپک‌زده به‌اضافه‌ی ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم و (۹) جیره‌ی حاوی ذرت کپک‌زده به‌اضافه‌ی ۰/۱ درصد دیواره‌ی سلولی مخمر بود. آزمایش در سن ۳۵ روزگی به اتمام رسید. استفاده از جیره‌ی حاوی آفلاتوکسین سبب افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های گاما‌گلوتامیل ترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، مصرف دان و سبب کاهش معنی‌داری در میزان ضریب تبدیل غذایی گردید. افزایش وزن نسبی کبد و کاهش وزن نسبی بورسفابریسیوس و مقادیر مربوط به آلبومین، پروتئین تام، اسید اوریک و کلسترول در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌ی حاوی آفلاتوکسین مشاهده گردید. استفاده از هر سه نوع ماده‌ی جاذب سموم قارچی سبب کاهش اثر آفلاتوکسین بر روی صفات مورد مطالعه گردید ولی اسید هیومیک در مقایسه با مواد جاذب دیگر در کاهش اثرات آفلاتوکسین از کارایی بیشتری برخوردار بود.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین، جوجه‌های گوشتی، دیواره‌ی سلولی مخمر، بنتونیت سدیم، اسید هیومیک

Veterinary Journal (Pajouhesh &amp; Sazandegi) No 86 pp: 21-30

**Evaluation of the efficacy of esterified glucomannan, sodium bentonite and different levels of humic acid to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers**

By: H. Ghahri Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Islamic Azad University, Urmia, Iran, (Corresponding Author; Tel: +989141871588) M. A. Zandieh, Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Islamic Azad University, Urmia, I. Bernousi, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

A study was conducted to determine the efficacy of esterified glucomannan, sodium bentonite and humic acid, in counteracting the toxic effects of aflatoxin in experimentally contaminated diets (254ppbAF) fed to broiler chickens. 7-day-old male broiler chicks of similar weight were randomly assigned to one of the nine dietary treatments with four replicates of 12 chicks each. Chicks were grouped based on the following dietary treatments: 1) control; 2) experimentally contaminated diet; 3,4,5,6 and 7) experimentally contaminated diet supplemented with 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8% and 1%, humic acid respectively; 8 and 9) experimentally contaminated diet supplemented with 0.5% sodium bentonite and 0.1% esterified glucomannan, respectively. The experiment lasted for 35 days. Compared with the control, the experimentally contaminated diet significantly increased the activities of  $\gamma$ -glutamyl transferase, lactate dehydrogenase, aspartate amino transferase and feed consumption and resulted in poor feed efficiency. Increased relative weights of liver and decreased relative weights of bursa of fabricius were observed in chicks fed the experimentally contaminated diet. Further, feeding a contaminated diet was associated with significant decreases in serum albumin, total protein, uric acid and cholesterol. In this study, humic acid proved to be much more effective in the amelioration of aflatoxicosis in broilers than the sodium bentonite and esterified glucomannan.

**Key words: Aflatoxin, Broiler, Esterified glucomannan, Humic acid, Sodium bentonite**

**مقدمه**

برطبق برآوردهای انجام شده، بیش از ۲۵ درصد غله‌ی دنیا به سموم قارچی<sup>۱</sup> شناخته شده، از جمله آفلاتوکسین‌ها<sup>۲</sup> آلوده هستند. آفلاتوکسین‌ها خانواده‌ای از ترکیبات تولید شده توسط قارچ‌های *Aspergillus parusiticus* و *Aspergillus flavus* می‌باشند (۹). اگرچه تاکنون ۱۸ نوع مختلف آفلاتوکسین شناسایی شده‌اند ولی فقط آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> به‌عنوان آلوده کننده‌های طبیعی مواد غذایی تشخیص داده شده‌اند و AFB<sub>1</sub><sup>۳</sup> سمی‌ترین ترکیب گروه می‌باشد (۸). سازمان دارو و غذای ایالات متحده‌ی امریکا سطح قابل تحمل آفلاتوکسین را در جیره‌ی طیور ۲۰ ppb گزارش نموده است (۲). پژوهش‌گران کاهش ۱۳ و ۲۶ درصدی را به ترتیب در وزن بدن جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌ی حاوی ۳/۵ppm و ۵ppm آفلاتوکسین گزارش کرده‌اند (۱۳). چنین اثراتی ممکن است در اثر بی‌اشتهایی، سستی، بی‌حالی و اثر مهارکنندگی آفلاتوکسین‌ها بر تولید پروتئین و چربی باشد (۱۴). کاهش قابلیت هضم اسیدهای آمینه و ماده‌ی خشک و کاهش بهره‌وری انرژی و مواد مغذی می‌تواند به کاهش عملکرد ناشی از مصرف جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین منجر شود (۱۵). پژوهش‌گران در سال ۲۰۰۳ جیره‌های حاوی انواع سموم قارچی (۱۶ppb آفلاتوکسین‌ها، ۸/۴ppb اکراتوکسین، ۵۴ppb زرالنون و ۳۲ppb سم T<sub>2</sub>) را در تغذیه‌ی جوجه‌های گوشتی مورد استفاده قرار داده و کاهش معنی‌دار در وزن بدن (۹/۵۲ درصد)، مصرف دان (۷/۱۱ درصد) و بازده غذایی (۲/۳ درصد) را گزارش کردند (۲). افزایش وزن نسبی کبد، کلیه، سنگدان و در بعضی موارد پیش‌معه، قلب، لوزالمعده در جوجه‌های مبتلا به

آفلاتوکسیکوز گزارش شده است (۲، ۴، ۱۵). مصرف آفلاتوکسین موجب کاهش معنی‌دار در میزان پروتئین تام، آلبومین، کلاسترول تام، تری‌گلیسرید، گلوکز، فسفر غیرآلی، کارنیتین و افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های سرمی ALT<sup>۴</sup>، AST<sup>۵</sup>، GGT<sup>۶</sup> و LDH<sup>۷</sup> می‌شود. کاهش میزان پروتئین تام، آلبومین، کلاسترول تام و گلوکز به‌دلیل اثرات مسمومیت کبدی آفلاتوکسین می‌باشد که از طریق مهار تولید پروتئین و مختل نمودن متابولیسم چربی و هیدرات‌های کربن صورت می‌گیرد (۶). یکی از روش‌های سم‌زدایی سموم قارچی، استفاده از مواد جاذب غیر تغذیه‌ای در جیره، از قبیل بنتونیت سدیم<sup>۸</sup>، دیواره‌ی سلولی مخمر<sup>۹</sup> و اسید هیومیک<sup>۱۰</sup> جهت پیوند با آفلاتوکسین و کاهش جذب آن از دستگاه گوارش می‌باشد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که برخی از تغییرات بیوشیمیایی سرم خون، وزن بدن، مصرف خوراک و وزن نسبی اندام‌های بدن با افزودن بنتونیت سدیم به جیره‌های حاوی AFB<sub>1</sub> تخفیف می‌یابد (۶، ۱۰). وجود برخی مضرات برای بعضی از مواد جاذب از قبیل نیاز به مقادیر بالای آن‌ها در جیره و احتمال بروز اثرات متقابل منفی با برخی مواد مغذی جیره، سبب گردید محققین به فکر استفاده از روش‌های بیولوژیکی از قبیل دیواره‌ی سلولی مخمر بیفتند. پژوهش‌گران نشان دادند که دیواره‌ی سلولی مخمر ساکرومایسس سروپسیه باعث افزایش وزن بدن، مصرف خوراک، میزان پروتئین، آلبومین، کلاسترول، نیترژن اوره‌ای سرم خون و کاهش وزن نسبی کبد در جوجه‌های مبتلا به آفلاتوکسیکوز می‌گردد (۲، ۱۵). مواد هیومیکی، ترکیبات شیمیایی هستند که از تخمیر و تجزیه‌ی مواد آلی گیاهی و حیوانی در خاک در طی سالیان متمادی تولید می‌شوند (۱۱). Rensburg و همکاران در

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و شیمیایی جیره ها در دوره‌ی آغازین (۲۱-۷ روزگی)

تیمار	واحد	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
دانه‌ی ذرت	%	۵۳/۶۴	۵۳/۶۴	۵۳/۲۶	۵۲/۸۸	۵۲/۴۱	۵۲/۱۴	۵۱/۶۴	۵۲/۷	۵۳/۵۴
پودر ماهی	%	۴/۵۸	۴/۵۸	۴/۵۵	۴/۵۳	۴/۵	۴/۴۷	۴/۴۵	۴/۵۲	۴/۵۸
کنجاله‌ی سویا	%	۳۳/۴۹	۳۳/۴۹	۳۳/۵۷	۳۳/۶۵	۳۳/۷۳	۳۳/۸۱	۳۳/۹۹	۳۳/۷۴	۳۳/۴۹
نمک	%	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱
دی‌کلسیم فسفات	%	۱/۰۹	۱/۰۹	۱/۱	۱/۱	۱/۱	۱/۱۱	۱/۱۱	۱/۱	۱/۰۹
پوسته‌ی صدف	%	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
روغن ذرت	%	۴/۹۴	۴/۹۴	۵/۰۶	۵/۱۸	۵/۳	۵/۴۲	۵/۵۴	۵/۱۹	۴/۹۴
مکمل ویتامینی	%	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی	%	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۵	۰/۲۵
لیزین	%	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
متیونین	%	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۵	۰/۲۵
اسید هیومیک	%	۰	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۰	۰
بنئونیت سدیم	%	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۵	۰
دیواره‌ی سلولی مخمر	%	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۱
کل	Kcal/Kg	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
انرژی قابل متابولیسم	%	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۱۵۰	۳۱۵۰
پروتئین خام	%	۲۲/۵	۲۲/۵	۲۲/۵	۲۲/۵	۲۲/۵	۲۲/۵	۲۲/۵	۲۲/۵	۲۲/۵
لیزین	%	۱/۳۵	۱/۳۵	۱/۳۵	۱/۳۵	۱/۳۵	۱/۳۵	۱/۳۵	۱/۳۵	۱/۳۵
متیونین	%	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴
کلسیم	%	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹
فسفر قابل دسترس	%	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵

جدول ۲- ترکیب مواد خوراکی و شیمیایی جیره‌های آزمایشی در دوره‌ی رشد (۳۵-۲۱ روزگی)

جیره	واحد	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
دانه‌ی ذرت	%	۵۶/۵۲	۵۶/۵۱	۵۶/۱۷	۵۳/۸۱	۵۵/۴۷	۵۵/۱۲	۵۴/۷۶	۵۵/۶۱	۵۶/۵۱
کنجاله‌ی سویا	%	۳۴/۴۲	۳۴/۴۳	۳۴/۴۶	۳۴/۵	۳۴/۵۳	۳۴/۵۶	۳۴/۶۱	۳۵/۶	۳۴/۴۳
نمک	%	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴
دی‌کلسیم فسفات	%	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳
پوسته‌ی صدف	%	۱/۴۲	۱/۴۲	۱/۴۲	۱/۴۲	۱/۴۲	۱/۴۲	۱/۴۲	۱/۴۲	۱/۴۲
روغن ذرت	%	۵/۵۸	۵/۵۸	۵/۶۹	۵/۸۱	۵/۹۲	۶/۰۴	۶/۱۵	۵/۸۱	۵/۵۸
مکمل ویتامینی	%	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی	%	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
متیونین	%	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸
اسید هیومیک	%	۰	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶	۰/۸	۱	۰	۰
بنتونیت سدیم	%	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۵	۰
دیواره‌ی سلولی مخمر	%	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۱
کل	Kcal/Kg	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
انرژی قابل متابولیسم	%	۳۲۰۰	۳۲۰۰	۳۲۰۰	۳۲۰۰	۳۲۰۰	۳۲۰۰	۳۲۰۰	۳۲۰۰	۳۲۰۰
پروتئین خام	%	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
لیزین	%	۱/۰۷	۱/۰۷	۱/۰۷	۱/۰۷	۱/۰۷	۱/۰۷	۱/۰۷	۱/۰۸	۱/۰۷
متیونین	%	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹
کلسیم	%	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹
فسفر قابل دسترس	%	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵

جدول ۳- تاثیر جیره‌های مختلف بر روی عملکرد جوجه‌های گوشتی (۳۵-۷ روزگی)

گروه آزمایشی	تیمار						
	افلاتوکسین	بنتونیت سدیم، %	دیواره سلولی مخمر %	اسیدهیومیک، %	مصرف خوراک (گرم)	افزایش وزن بدن (گرم)	ضریب تبدیل غذایی
۱	-	-	-	-	۲۵۱۳/۲۸ <sup>b</sup>	۱۵۸۸/۶۳ <sup>ab</sup>	۱/۵۸۱۷۵ <sup>c</sup>
۲	+	-	-	-	۲۷۳۷/۴۸ <sup>a</sup>	۱۵۳۷/۹۵ <sup>b</sup>	۱/۷۷۹۷۵ <sup>a</sup>
۳	+	-	-	۰/۲	۲۸۰۱/۹۸ <sup>a</sup>	۱۶۵۵/۲۸ <sup>a</sup>	۱/۶۹۳۲۵ <sup>b</sup>
۴	+	-	-	۰/۴	۲۷۴۴/۷۵ <sup>a</sup>	۱۵۹۵/۱۸ <sup>ab</sup>	۱/۷۲۱۰۰ <sup>ab</sup>
۵	+	-	-	۰/۶	۲۸۱۶/۶۰ <sup>a</sup>	۱۵۹۷/۸۸ <sup>ab</sup>	۱/۷۶۳۲۵ <sup>ab</sup>
۶	+	-	-	۰/۸	۲۸۴۰/۸۳ <sup>a</sup>	۱۵۹۵/۵۰ <sup>ab</sup>	۱/۷۸۲۲۵ <sup>a</sup>
۷	+	-	-	۱/۰	۲۸۴۵/۷۳ <sup>a</sup>	۱۵۸۴/۳۵ <sup>ab</sup>	۱/۷۹۷۵۰ <sup>a</sup>
۸	+	۰/۵	-	-	۲۸۰۸/۹۸ <sup>a</sup>	۱۶۰۷/۱۸ <sup>ab</sup>	۱/۷۵۰۵۰ <sup>ab</sup>
۹	+	-	۰/۱	-	۲۸۰۸/۹۳ <sup>a</sup>	۱۵۳۷/۵۰ <sup>ab</sup>	۱/۷۷۲۵۰ <sup>ab</sup>
					**	*	**

حروف نامتشابه وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها را نشان می دهد.

\* = اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار است.

\*\* = اختلاف در سطح ۱ درصد معنی دار است.

## مواد و روش کار

### تهیه جیره‌های آزمایشی

انواع آفلاتوکسین موجود در مواد خوراکی و جیره‌های آزمایشی طبق روش Romer استخراج (۱۷) و مقدار آن با استفاده از کروماتوگرافی با لایه‌ی نازک طبق روش AOAC تعیین گردید (۳). جیره‌های غذایی شاهد برای دوره‌ی آغازین و رشد براساس احتیاجات غذایی جوجه‌های گوشتی (NRC ۱۹۹۴) تهیه و تنظیم گردید. میزان آفلاتوکسین در جیره‌ی شاهد پایین‌تر از حد قابل تشخیص آن (کمتر از یک میکروگرم در هر کیلوگرم جیره) بود. دانه‌ی ذرت کپک‌زده از کارخانجات محلی خوراک دام تهیه و به منظور افزایش رشد کپک، به مدت دو ماه در رطوبت نسبی ۲۰ درصد ذخیره و سپس جهت توقف رشد کپک، به‌طور کامل خشک گردید. جیره‌های غذایی حاوی ذرت کپک‌زده یا آفلاتوکسین با جای‌گزینی ذرت آلوده به قارچ با ذرت سالم تهیه گردید. آنالیز نهایی جیره‌های آلوده به کپک بیان‌گر وجود ۲۵۴ppb از آفلاتوکسین‌ها بود که از این میزان ۷۸/۶ درصد آن را AFB<sub>1</sub>، ۸ درصد AFB<sub>2</sub>، ۱۱ درصد

سال ۲۰۰۶ گزارش کردند اسید هیومیک از توانایی بالایی برای اتصال با آفلاتوکسین برخوردار بوده و سبب بهبود افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضایعات هیستوپاتولوژی کبد، فعالیت آنزیم‌های سرمی خون و وزن نسبی اندام‌ها در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده از جیره‌ی حاوی ۵/۲ ppm آفلاتوکسین گردیده است (۱۶). با توجه به این که بیشتر مطالعات انجام گرفته در رابطه با تاثیر آفلاتوکسین بر روی طیور با افزودن آن به جیره و آن هم در سطوح بالای آن انجام گرفته و کمتر به بررسی تاثیر استفاده از مواد خوراکی که در شرایط تجاری و به‌طور طبیعی به آفلاتوکسین بالادار در شرایط ایران آلوده هستند، پرداخته شده است و از طرفی اخیراً Rensburg و همکاران در یک مورد مطالعه، گزارش کردند که اسید هیومیک نسبت به مواد جاذب دیگر از کارایی بیشتری برای اتصال با آفلاتوکسین برخوردار بوده و به مواد مغذی جیره اتصال نمی‌یابد. بنابراین این تحقیق جهت بررسی هر چه بیشتر این موارد، انجام پذیرفت.

AFG1 و ۲/۴ درصد AFG2 تشکیل می‌داد. در طی دوره‌ی آزمایشی، جیره‌های کنترل و آلوده از نظر میزان آفلاتوکسین‌ها مورد آنالیز قرار گرفته و میزان آفلاتوکسین‌ها در جیره‌ی شاهد پایین‌تر از حد قابل تشخیص (کمتر از ۱۰ میکروگرم در هر کیلوگرم) و در جیره‌های آلوده در حدود ۲۸۵-۲۷۸ ppb بود.

### طرح آزمایشی، جوجه‌ها و جمع‌آوری داده‌ها

۵۰۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی نر یک‌روزه با استفاده از جیره‌های سالم به مدت ۷ روز قبل از شروع مرحله‌ی اصلی، نگهداری شدند. در سن هفت روزگی، ۴۳۲ قطعه جوجه با وزن یکسان ( $165 \pm 15$ ) به‌طور تصادفی به ۳۶ پن توزیع گشته و تحت برنامه‌ی نوری ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی و مصرف آزاد غذا و آب نگهداری شدند. جیره‌های غذایی بر پایه‌ی ذرت-سویا و برای دو دوره‌ی آغازین و رشد طبق توصیه‌ی NRC (۱۹۹۴) تنظیم شدند (جدول ۱ و ۲). جوجه‌ها به نه گروه آزمایشی با چهار تکرار و ۱۲ قطعه در هر تکرار توزیع گشتند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره‌ی شاهد فاقد آفلاتوکسین قابل اندازه‌گیری، ۲) جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین، ۳) جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین به‌اضافه‌ی ۰/۲ درصد اسید هیومیک (با نام تجاری فارماگلاتور<sup>(۱)</sup>)، ۴) جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین به‌اضافه‌ی ۰/۴ درصد اسید هیومیک، ۵) جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین به‌اضافه‌ی ۰/۶ درصد اسید هیومیک، ۶) جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین به‌اضافه‌ی ۰/۸ درصد اسید هیومیک، ۷) جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین به‌اضافه‌ی ۱/۰ درصد اسید هیومیک، ۸) جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین به‌اضافه‌ی ۰/۵ درصد بنتونیت‌سدیم و ۹) جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین به‌اضافه‌ی ۰/۱ درصد دیواره‌ی سلولی مخمر بودند.

هر کیلوگرم از اسید هیومیک مورد استفاده در این آزمایش حاوی ۱۶۰ میلی‌گرم اسیدهای پلی‌هیدروکسی پلی‌مریک (اسید هیومیک، اسید فولویک، اسید اولمیک و اسید هیوماتوملانیک)، ۶۶۳ میلی‌گرم دی‌اکسید سیلس و ۱۷۵ میلی‌گرم مواد معدنی دیگر می‌باشد. میزان افزایش وزن بدن، مقدار مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی به صورت هفتگی محاسبه و تلفات در صورت بروز در همان روز ثبت می‌گردید. در سن ۳۵ روزگی، از همه‌ی جوجه‌های مورد استفاده، از طریق ورید بال خون‌گیری و پس از جداسازی سرم جهت تعیین میزان آلومین، پروتئین تام، اسید اوریک و کلسترول سرم و هم‌چنین جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های ALT، AST، GGT و LDH، با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور (Boehringer Mannheim Hitachi, Japan)، مورد استفاده قرار می‌گرفت. در سن ۳۵ روزگی، ۱۲ قطعه جوجه به‌طور تصادفی از هر تیمار انتخاب و پس از کشتن به روش پیچش گردن، جداسازی و توزین کبد، قلب، پیش‌معدة، طحال، بورس فابریسیوس و سنگدان صورت گرفت. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از بسته‌ی نرم‌افزاری SAS (SAS Institute, ۱۹۸۵) و در سطح احتمال ۵ درصد تحت آنالیز آماری قرار گرفت و جهت مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

### نتایج و بحث

اثر جیره‌های مختلف آزمایشی بر روی عملکرد جوجه‌های گوشتی در

جدول ۳ نشان داده شده است. استفاده از جیره‌ی حاوی ذرت کپک‌زده سبب افزایش معنی‌داری (۸/۹۲ درصد) بر روی میزان مصرف خوراک در مقایسه با گروه شاهد گردید ( $p < 0.01$ ). این نتیجه مغایر با نتایج تحقیقاتی است که در آن‌ها آفلاتوکسین به صورت دستی به جیره افزوده شده و مصرف خوراک کاهش یافته است (۲، ۱۵). استفاده از مواد جاذب سموم قارچی در جیره‌ی حاوی ذرت کپک‌زده تاثیر معنی‌داری بر میزان مصرف نداشت. این نتیجه احتمالاً مربوط به کاهش قابلیت هضم، کاهش میزان کربوهیدرات، چربی، ماده‌ی خشک، چگالی، ابقای پروتئین و سطح انرژی قابل متابولیسم ذرت کپک‌زده باشد (۱۸). تحقیقات نشان داده است، همبستگی منفی معنی‌داری بین طول مدت انبارداری و محتوای چربی جیره‌های حاوی ذرت کپک‌زده وجود دارد و به دلیل کاهش غلظت چربی و کربوهیدرات‌ها، کاهش میزان انرژی قابل متابولیسم جیره‌ی حاوی ذرت کپک‌زده دور از انتظار نیست (۵).

استفاده از جیره‌ی حاوی ذرت کپک‌زده سبب افت وزن بدن و مخصوصاً ضریب تبدیل غذایی گردید و افزودن مواد جاذب سموم قارچی به جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین، سبب بهبود افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی شد، به‌طوری که افزودن ۰/۲ درصد اسید هیومیک به جیره‌ی حاوی آفلاتوکسین سبب بهبود معنی‌داری در افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی گردید.

اثرات مثبت اسید هیومیک ممکن است ناشی از اتصال آن به آفلاتوکسین و در نتیجه عدم جذب آفلاتوکسین از دستگاه گوارش، جلوگیری از تجمع پاتوژن‌ها در دستگاه گوارش، اثر ممانعتی بر کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کبد و اثر آن به‌عنوان عامل محرک رشد در طیور باشد (۱۱، ۱۶).

تاثیر جیره‌های مختلف آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های سرمی و فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در جدول ۴ نشان داده شده است. در مقایسه با گروه شاهد، استفاده از جیره‌ی حاوی آفلاتوکسین سبب کاهش مقادیر مربوط به فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون گردید ( $p < 0.05$ ). تحقیقات نشان داده است که سطوح آلومین و پروتئین تام سرم خون دو شاخص حساس در مقابل آفلاتوکسیکوز در جوجه‌های گوشتی بوده و آفلاتوکسین می‌تواند از طریق جلوگیری از سنتز پروتئین، سبب کاهش آن‌ها در خون شود (۱۲، ۱۵). Kubena و همکاران گزارش نموده‌اند، که میزان آلومین و پروتئین تام سرم در جوجه‌های گوشتی مبتلا به آفلاتوکسیکوز کاهش می‌یابد و اضافه کردن آلومینو سیلیکات کلسیم-سدیم آب‌دار تاثیری در این زمینه نداشته است (۱۳). نتایج تحقیق حاضر مشابه یافته‌های Bailey و همکاران می‌باشد که کاهش میزان اسید اوریک و کلسترول سرم خون را در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده از جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین، گزارش کرده‌اند (۱۴). Kececi و همکاران نشان دادند، افزودن ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم به جیره‌ی حاوی ۵/۲ ppm آفلاتوکسین، از تغییر بعضی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون جلوگیری می‌نماید (۱۲). ولی در تحقیق حاضر افزودن بنتونیت سدیم به جیره‌های حاوی آفلاتوکسین نتوانست به طور کامل از تغییرات حاصله در پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون جلوگیری نماید، که نشان‌دهنده‌ی اثر ممانعتی آفلاتوکسین بر سنتز پروتئین می‌باشد. برخلاف دیواره‌ی سلولی مخمر، افزودن اسید هیومیک به جیره‌های حاوی آفلاتوکسین مقادیر مربوط به آلومین را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشید که این امر

جدول ۴- تاثیر جیره‌های مختلف بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های سرم خون (۳۵ روزگی).

فعالیت آنزیم‌ها				فاکتورهای بیوشیمیایی				تیماز				
GGT IU/L	ALT IU/L	LDH IU/L	AST IU/L	کلسترول mg/dL	اسید اوریک mg/dL	پروتئین تام g/dL	آلبومین g/dL	اسید هیومیک %	دیواره سلولی مخمر %	بنتونیت سدیم %	آفلاتوکسین	گروه آزمایشی
۵/۴۶ c	۴۵	۳۲۵ b	۲۱۱/۴ bc	۲۰۹ a	۷/۵۲۱ a	۳/۲۸۹ a	۱/۴۱ a	-	-	-	-	۱
۹/۳۶ a	۴۹	۵۹۲ a	۲۷۰/۳ a	۱۰۷ b	۵/۱۵۵ b	۲/۹۹۹ b	۰/۶۵ c	-	-	-	+	۲
۷/۸۷ ab	۲۶	۵۴۰ a	۲۵۱/۱ ab	۱۳۰ b	۵/۹۸۲ b	۳/۰۴۴ b	۰/۸۵ b	۰/۲	-	-	+	۳
۷/۷۹ ab	۴۷	۵۱۱ a	۲۵۰/۱ ab	۱۸۰ a	۶/۴۳۷ ab	۳/۰۹۶ ab	۱/۴۵ a	۰/۴	-	-	+	۴
۵/۷۴ bc	۲۵	۵۳۳ a	۲۲۵/۲ abc	۱۸۴ a	۶/۶۶۳ ab	۳/۱۲۶ ab	۱/۳۸ a	۰/۶	-	-	+	۵
۵/۵۳ bc	۴۷	۵۰۱ a	۲۱۲/۱ bc	۱۸۳ a	۶/۴۴۳ ab	۳/۱۹۱ ab	۱/۵۰ a	۰/۸	-	-	+	۶
۵/۷۹ bc	۴۸	۴۳۰ b	۲۱۱/۴ bc	۱۸۷ a	۷/۷۳۰ a	۳/۱۹۱ ab	۱/۵۸ a	۱/۰	-	-	+	۷
۸/۱۰ ab	۴۹	۴۹۲ a	۲۶۷/۳ a	۱۸۰ a	۶/۸۷۱ ab	۳/۱۲۵ ab	۱/۴۳ a	-	-	۰/۵	+	۸
۵/۹۳ bc	۲۶	۴۰۱ b	۱۹۹/۰ c	۱۷۷ a	۶/۰۱۳ a	۳/۱۱۳ ab	۰/۶۷ bc	-	۰/۱	-	+	۹
*	*	ns	*	*	*	*	*	*	*	*	*	

حروف نامتشابه وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها را نشان می دهد.

ns = اختلاف معنی داری نیست.

\* = اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار است (p < ۰/۰۵).

جدول ۵- تاثیر جیره‌های مختلف بر وزن نسبی ارگان‌ها (۳۵ روزگی)

وزن نسبی ارگان‌ها (گرم به ازای هر صدگرم وزن بدن)						تیمار				
بورس فابریسیوس	طحال	سنگدان	پیش معده	قلب	کبد	اسید هیومیک %	دیواره سلولی مخمر %	بنتونیت سدیم %	آفلاتوکسین	گروه آزمایشی
۰/۲۰۵ <sup>a</sup>	۰/۱۳۱	۲/۱۵۵	۰/۴۹۶	۰/۵۹۳	۲/۳۱۹ <sup>b</sup>	-	-	-	-	۱
۰/۱۲۶ <sup>b</sup>	۰/۱۱۷	۲/۴۶۶	۰/۵۳۲	۰/۵۹۶	۲/۷۶۶ <sup>a</sup>	-	-	-	+	۲
۰/۱۸۳ <sup>ab</sup>	۰/۱۳۴	۲/۲۰۵	۰/۴۸۹	۰/۵۹۷	۲/۴۰۲ <sup>ab</sup>	۰/۲	-	-	+	۳
۰/۱۵۷ <sup>ab</sup>	۰/۱۳۱	۲/۳۴۹	۰/۵۱۲	۰/۶۱۲	۲/۳۷۶ <sup>ab</sup>	۰/۴	-	-	+	۴
۰/۱۹۶ <sup>a</sup>	۰/۱۳۶	۲/۳۶۴	۰/۵۲۵	۰/۶۲۳	۲/۵۸۷ <sup>ab</sup>	۰/۶	-	-	+	۵
۰/۱۸۴ <sup>ab</sup>	۰/۱۴۱	۲/۳۲۳	۰/۵۰۰	۰/۶۰۲	۲/۵۷۶ <sup>ab</sup>	۰/۸	-	-	+	۶
۰/۱۶۱ <sup>ab</sup>	۰/۱۴۷	۲/۳۸۳	۰/۵۳۷	۰/۶۰۶	۲/۷۱۷ <sup>ab</sup>	۱/۰	-	-	+	۷
۰/۱۷۳ <sup>ab</sup>	۰/۱۳۳	۲/۳۴۰	۰/۵۱۰	۰/۵۷۷	۲/۵۱۹ <sup>ab</sup>	-	-	۰/۵	+	۸
۰/۱۵۵ <sup>ab</sup>	۰/۱۲۷	۲/۲۷۰	۰/۴۹۲	۰/۵۸۸	۲/۶۳۳ <sup>ab</sup>	-	۰/۱	-	+	۹
*	ns	ns	ns	ns	*					

حروف نامتشابه وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها را نشان می‌دهد.

ns = اختلاف معنی داری نیست.

\* = اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

در جذب مقادیر بالای آفلاتوکسین، اتصال محکم آن‌ها به آفلاتوکسین و همچنین توانایی اتصال آن‌ها به سموم قارچی مختلف باشد. نتایج این تحقیق مغایر با نتایج Raju و Devegowda و همچنین Aravind و همکاران می‌باشد چراکه این محققین گزارش کرده‌اند، دیواره‌ی سلولی مخمر نمی‌تواند از تغییرات ایجاد شده در فعالیت آنزیم‌های سرمی GGT و AST در جوجه‌های مبتلا به آفلاتوکسیکوز جلوگیری نماید (۲، ۱۵). تفاوت در نتایج تحقیقات مختلف، می‌تواند ناشی از طول دوره استفاده از جیره حاوی سموم قارچی، غلظت مایکوتوکسین در جیره، ترکیب جیره غذایی، سن طیور، ترکیب سموم و منبع تهیه ماده ضد قارچی باشد (۶). تاثیر جیره‌های مختلف آزمایشی بر وزن نسبی اندام‌ها در جدول ۵ نشان داده شده است. استفاده از جیره حاوی آفلاتوکسین تاثیر معنی‌داری بر وزن نسبی قلب، سنگدان و پیش معده نداشته ولی سبب افزایش وزن نسبی کبد و کاهش وزن نسبی

احتمالاً مربوط به توانایی اسید هیومیک در کاهش جذب آفلاتوکسین از دستگاه گوارش می‌باشد. افزایش فعالیت آنزیم‌های سرمی AST، GGT و LDH در جوجه‌های مبتلا به آفلاتوکسیکوز در این تحقیق می‌تواند ناشی از دژنراسیون کبدی و در نتیجه انتشار این آنزیم‌ها به مسیر گردش خون باشد. افزایش مشابهی در فعالیت آنزیم GGT در مرغ‌های مادر گوشتی مبتلا به آفلاتوکسیکوز به توسط Afzali و Devegowda و در جوجه‌های گوشتی به توسط Aravind و همکاران گزارش شده است (۱، ۲). فعالیت آنزیم GGT به عنوان شاخص حساس به بیماری‌های کبدی است که در مواردی از قبیل التهاب و ضایعات کبدی و همچنین بدنبال انسداد مجاری صفراوی افزایش می‌یابد (۱۳). همانند اسید هیومیک افزودن دیواره‌ی سلولی مخمر، توانست از افزایش فعالیت آنزیم‌های سرمی AST، GGT و LDH جلوگیری نماید. توانایی این دو ماده‌ی جاذب در مقایسه با بنتونیت سدیم، می‌تواند ناشی از توانایی آن‌ها



### منابع مورد استفاده

- 1- Afzali, N. and Devegowda, G. (1999) Ability of modified mannanoligosaccharide to counteract aflatoxicosis in broiler breeder hens. *Journal of Poultry Science*, 78 (Suppl.1):228. (Abstr.).
- 2- Aravind, K. L., Patil, V.S., Devegowda, G., Umakantha, B. and Ganpule, S. P. (2003) Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. *Journal of Poultry Science*, 82:571-576.
- 3- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1995) *Official Methods of Analysis*. 6th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- 4- Bailey, R.H., Kubena, L.F., Harvey, R.B., Buckley, S.A. and Rottinghaus, G.E. (1998) Efficacy of Various Inorganic Sorbents to Reduce the Toxicity of Aflatoxin and T-2 Toxin in broiler. *Poultry Science*, 77:1623-1630.
- 5- Bartov, I. (1985) Comparative effects of antifungal compounds on the nutritional value of diets containing mouldy corn for broiler chicks. *Poultry Science*, 64: 1236-1238.
- 6- Bridane, Y. O., Cole, R., Basmacioglu, H. and Oguz, H. (2004) *Effect of esterified glucomannan on aflatoxicosis: 2) Serum biochemical-hematological and bone parameters. Worlds Poultry Congress. Turkey, Istanbul. 2004.*
- 7- Carnaghan, R. B. A., Lewis, G., Patterson, D. S. P. and Allcroft, R. (1966) Biochemical and pathological aspects of groundnut poisoning in chickens. *Pathology of Veterinary*, 3:601-615.
- 8- Davis, N.D. and Deiner, U.L. (1983) *Some characteristics of toxigenic and nontoxigenic isolate of Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus*. Southern Coop Series Bull. Craftmaster, Opelika, Ala, pp: 279-285.
- 9- Deiner, U.L., Cole, R.J., Sanders, T.H., Payne, G.A., Lee, L.S. and Klich, M.A. (1987) Epidemiology of Alatoxin formation y *Aspergillus flavus*. *Ann. REV. Phytopathology*. 25:240-270.
- 10- Huwig, A., Freimund, S., Kappeli, O. and Dutler, H. (2001) Mycotoxin detoxification of animal feed by different adsorbents. *Toxicology*, 122: 179-188.
- 11- Islam, K. M. S., Schuhmacher, A. and Gropp, J. M. (2005) Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan journal of nutrition*, 4:126-134.
- 12- Kececi, T., Oguz, H., Kurtoglu, V. and Demet, O. (1998) Effects of polyvinylpolypyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *British Poultry Science*, 39:452-458.

بورس فابریسیوس گردید ( $P < 0.05$ ). این امر بیانگر حساسیت بالای کبد و بورس فابریسیوس به جیره‌های حاوی آفلاتوکسین در مقایسه با اندام‌های دیگر می‌باشد. آفلاتوکسین به‌عنوان عامل مسمومیت کبدی شناخته شده (۷) و نتایج تحقیق Hamilton و Smith و هم‌چنین Huwig و همکاران نشان می‌دهد که وزن نسبی کبد در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده از جیره‌ی حاوی سطوح پایین آفلاتوکسین، افزایش می‌یابد (۱۰، ۱۹). افزودن بنتونیت سدیم، دیواره‌ی سلولی مخمر و بالاخص اسید هیومیک به ترتیب از افزایش و کاهش وزن نسبی کبد و بورس فابریسیوس در جوجه‌های تغذیه شده از جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین جلوگیری نمود. به طوری که تاثیر اسید هیومیک (۰/۶ درصد) در جلوگیری از کاهش وزن نسبی بورس فابریسیوس بیشتر از دو ماده جاذب دیگر بود. مطالعات اخیر بیانگر این است که افزودن دیواره‌ی سلولی مخمر و بنتونیت سدیم به جیره‌های حاوی آفلاتوکسین می‌تواند از اثر آفلاتوکسین بر کاهش عملکرد طیور و مقادیر آلبومین، پروتئین تام، اسید اوریک و کلسترول خون جلوگیری و سبب کاهش ضایعات آسیب‌شناسی بویژه در کبد می‌گردد (۲، ۱۴، ۱۶). نکته‌ی مورد توجه در این تحقیق کاهش معنی‌دار در عملکرد، تغییر در وزن نسبی بعضی از اندام‌ها و فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون جوجه‌های تغذیه شده از جیره‌ای است که به‌طور طبیعی به قارچ و سموم قارچی آلوده شده است، چراکه این سطح از آفلاتوکسین در جیره‌های طیور در شرایط کاربردی و مزرعه‌ای قابل مشاهده بوده و هیچ‌گونه علائم کلینیکی خاصی را نیز در طول دوره‌ی پرورشی نشان نمی‌دهد. با توجه به نتایج این تحقیق، اضافه کردن اسید هیومیک به میزان ۰/۴-۰/۲ درصد به جیره‌های حاوی ذرت کپک‌زده، به‌عنوان جاذب سموم قارچی، می‌تواند عملکرد گله و مقادیر آلبومین، پروتئین تام، اسید اوریک و کلسترول خون را افزایش و فعالیت آنزیم‌های سرمی AST، GGT، LDH را در جوجه‌های مبتلا به آفلاتوکسیکوز کاهش دهد. بنابراین اسید هیومیک به جهت اتصال به سموم قارچی مختلف و عدم اتصال به مواد مغذی جیره، می‌تواند نسبت به مواد جاذب دیگر بهتر و قابل توصیه باشد. با توجه به محدودیت مطالعات در رابطه با اثر اسید هیومیک به عنوان ماده‌ی ضد سموم قارچی در تغذیه‌ی طیور، انجام مطالعات بیشتر در این زمینه الزامی است.

### پاورقی‌ها

- 1- Mycotoxins
- 2- Aflatoxins
- 3- Aflatoxin B1
- 4- Alanin Amino Transfrase
- 5- Aspartate Amino Transfrase
- 6-  $\gamma$ -Glutamyl Transfrase
- 7- Lactate Dehydrogenase
- 8- Sodium Bentonite (SB)
- 9- Esterified Glucomannan (E-GM)
- 10- Humic Acid
- 11- Farmagulator dryTM humate

