Iranian Journal of Animal Science
Vol 50, No 4, Winter 2020 (329-339)
DOI: 10.22059/ijas.2020.273823.653680

علوم دامی ایران
دورۀ ۵۰، شمارۀ ۴، زمستان ۱۳۹۸ (ص ۳۳۹-۳۲۹)

آثار جاذب‌های مختلف بر عملکرد و فراسنجه‌های کبدی جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین

مولود پارسافر[۱]، مازیار محیطی اصلی[۲*] و محسن فرزانه[۳]
۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳. استادیار، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۶- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۸)

چکیده

این آزمایش جهت بررسی اثر آلومینوسیلیکات، اسید هیومیک، دیواره سلولی مخمر، پودر گیاهی و یک توکسین بایندر تجاری برای کاهش آثار آفلاتوکسین B1 در جیره جوجه‌های گوشتی انجام شد. آزمایش با استفاده از ۳۲۰ قطعه جوجه‌گوشتی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار، ٤ تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر تکرار از سن ۷ تا ۲۸ روزگی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) شاهد منفی (بدون آفلاتوکسین)، ۲) شاهد مثبت (حاوی ۰/۳ میلی‌گرم آفلاتوکسینB1 در کیلوگرم جیره)، ۳) شاهد مثبت + آلومینوسیلیکات، ٤) شاهد مثبت+ آلومینوسیلیکات+ اسید هیومیک، ۵) شاهد مثبت+ آلومینوسیلیکات+ دیواره سلولی مخمر، ٦) شاهد مثبت+ آلومینوسیلیکات+ اسید هیومیک+ دیواره سلولی مخمر، ۷) شاهد مثبت+ توکسین بایندر تجاری مگنوتوکس و ۸) شاهد مثبت+ پودر گیاهی بود. استفاده از جیره حاوی آفلاتوکسین سبب کاهش عملکرد رشد جوجه‌ها، افزایش وزن کبد، قلب و پانکراس و کاهش غلظت آلبومین، پروتئین کل و گلوکز سرم شد (P<۰/۰۵). افزودن آلومینوسیلیکات به‌عنوان جاذب به تنهایی در کاهش آثار منفی آفلاتوکسین مؤثر بود. افزودن دیواره سلولی مخمر سبب تقویت اثرات آلومینوسیلیکات شد، اما افزودن اسید هیومیک زیاد مؤثر نبود. در مجموع، به نظر می‌رسد ترکیب آلومینوسیلیکات و دیواره سلولی مخمر بیشترین جذب آفلاتوکسین B1 را دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین B1، آلومینوسیلیکات، اسید هیومیک، جوجه گوشتی، دیواره سلولی مخمر.

Effects of different adsorbents on the performance and liver parameters of broilers fed diets contaminated with aflatoxin

Moloud Parsafar[1], Maziar Mohiti-Asli[2*] and Mohsen Farzaneh[3]
1, 2. M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, University of Guilan, Rasht 41635-1314, Iran
3. Assistant Professor, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran 19835-389, Iran
(Received: Feb. 5, 2019- Accepted: Jan. 28, 2020)

ABSTRACT

The experiment was carried out to investigate the effect of aluminum silicate (AS), humic acid (HA), *Saccharomyces cerevisiae* cell wall (SC), herbal powder (HP) and a commercial toxin binder to alleviate the effects of aflatoxin B1 (AFB1) in broiler diet. In this experiment we used 320 day old chicks in a completely randomized design with 8 treatments and 4 replications, and 10 birds in each replicate, from 7 to 28 days of age. Experimental treatments were: 1) negative control (NC; without AFB1), 2) positive control (PC; contaminated by 0.3 mg AFB1 / kg diet), 3) PC + AS, 4) PC + AS + HA, 5) PC + AS + SC, 6) PC + AS + HA + SC, 7) PC + Magnotox as a commercial binder and 8) PC + HP. Feeding AFB1 contaminated diet reduced broiler performance, increased relative weights of liver, heart, pancreas and reduced serum albumin, total protein and glucose concentrations (P <0.05). Inclusion of AS in PC diet individually improved the negative effects of AFB1. However, supplementation of SC boosted AS effects, HA supplementation was rarely effective. Finally, it can be concluded that the combination of AS + SC has the highest adsorbing ability of AFB1.

Keywords: Aflatoxin B1, Aluminum silicate, Broilers, Humic acid, Yeast cell wall.

* Corresponding author E-mail: mmohiti@guilan.ac.ir

مقدمه

آفلاتوکسین‌ها نوعی سـموم قارچی هستند که سبب آلودگی مواد خوراکی و محصولات کشاورزی می‌شوند (Ramos & Hernandez, 1996). به‌دلیل سمیت بسیار زیاد و شیوع گسترده آفلاتوکسین بر روی برخی از غلات به خصوص دانه ذرت، این سم بیشترین نگرانی را در بین همه سموم قارچی به‌وجود آورده است (Stanley *et al.*, 1993). آفلاتوکسین‌ها بیشتر توسط دو گونه قارچی *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* تولید می‌شوند. اگرچه تاکنون ۱۸ نوع مختلف آفلاتوکسین شناسایی شده است ولی فقط آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 به‌عنوان آلوده‌کننده‌های طبیعی مواد غذایی تشخیص داده شده‌اند و آفلاتوکسینB1 سمی‌ترین ترکیب این گروه می‌باشد، که یک ترکیب جهش‌زا و سرطان‌زا در بسیاری از گونه‌های جانوری است. قرارگیری مزمن در معـرض آفلاتوکسین‌ها نه تنها باروری و عملکرد حیـــوان را کاهش می‌دهد، بلکه برای مصرف‌کنندگان (انسان) مواد خوراکی حیوانی آلـوده به آفلاتوکسین مانند کبد و تخم‌مرغ نیز خطرناک است (Neeff *et al.*, 2013). سازمان غذا و دارو (FDA) سطح قابل تحمل آفلاتوکسین در جیره طیور را ۲۰ میکروگرم در کیلوگرم اعلام نموده است (Aravind *et al.*, 2003). آفلاتوکسین سبب آثار زیان‌آوری بر تمام شاخص‌های مهم عملکردی طیور شامل وزن بدن، مصرف خوراک و بازده خوراک می‌شود (Hoerr, 2003). کبد اندام هدف آفلاتوکسین B1 در جوجه‌های گوشتـی است (Neeff *et al.*, 2013). این سم قارچی سبب رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد و تغییرات میکروسکوپی شامل تغییر در چربی، اضمحلال بافت کبدی و صفراوی می‌شود (Shannon *et al.*, 2016). در سطح سلولی نیز بیان ژن‌های مختلف مربـوط به تولید انرژی و متابولیسم اسیدهای چرب، رشد و نمو، محافظت آنتی‌اکسیدانی، انعقاد و حفاظت سیستم ایمنی در اثر مصرف آفلاتوکســین B1 کاهش می‌یابد (Yarru *et al.*, 2009).

به‌منظور پاکسازی سموم قارچی در مواد خوراکی از روش‌های گوناگونی استفاده شده است. یکی از روش‌های سم‌زدایی، استفاده از ترکیبات جاذب غیرمغذی در جیره مانند آلومینوسیلیکات‌ها، بنتونیت سدیم، دیواره سلولی مخمر، اسید هیومیک، کربن فعال و سپیولیت جهت اتصال با آفلاتوکسین و کاهش جذب آن از دستگاه گوارش می‌باشد. استفاده از آلومینوسیلیکات‌ها در جیره آلوده به آفلاتوکسین می‌تواند بازده استفاده از پروتئین و انرژی، کیفیت لاشه و فراسنجه‌های خون را بهبود دهد (Parizadian-Kavan *et al.*, 2015). دیواره سلولی مخمر سبب افزایش وزن، افزایش مصرف خوراک، بهبود فراسنجه‌های خونی و کاهش وزن نسبی کبد در جوجه‌های آلوده به آفلاتوکسین‌ها می‌شود (Aravind *et al.*, 2003; Raju & Devegowda, 2000). مواد هیومیکی، ترکیبات شیمیایی هستند که از تخمیر و تجزیه مواد گیاهی و حیوانی در خاک در طی سالیان متمادی تولید شده‌اند (Islam *et al.*, 2005). گزارش شده است که اسید هیومیک از توانایی بالایی برای اتصال با آفلاتوکسین برخوردار است و نسبت به مواد جاذب دیگر کارایی بیش‌تری برای اتصال با آفلاتوکسین دارد و به مواد مغذی جیره متصل نمی‌شود (van Rensburg *et al.*, 2006). بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی کارایی استفاده از ترکیبی از مواد جاذب و محدودکننده افلاتوکسین شامل اسید هیومیک، آلومینوسیلیکات و دیواره سلولی مخمر برای کاهش آثار منفی این سم بر عملکرد و سلامت جوجه‌های گوشتی بوده است.

مواد و روش‌ها

جوجه‌های گوشتی یک‌روزه‌ی سویه راس ۳۰۸ از یک جوجه‌کشی تجاری محلی در استان گیلان خریداری و پس از توزین، به‌طور یکنواخت در ۳۲ باکس آزمایشی در سالن پرورش طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان توزیع شدند. مراحل میدانی آزمایش در شهریور ماه ۱۳۹۷، با تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه‌گوشتی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار و ۴ تکرار و در هر تکرار ۱۰ قطعه پرنده از سن ۷ تا ۲۸ روزگی انجام شد. جوجه‌ها روی بستری از تراشه‌های چوب پرورش یافتند. روشنایی در روز اول به صورت ۲۴ ساعته بود و پس از آن یک ساعت خاموشی در شبانه روز تا روز هفتم اجرا شد و

سپس ۳ ساعت خاموشی تا ۲۸ روزگی اعمال شد. جیره‌ها بر پایه ذرت و کنجاله سویا مطابق با نیازهای غذایی توصیه شده در دفترچه راهنمای پرورشی جوجه‌های گوشتی سویه راس در قالب سه دوره آغازین (۱- ۱۰روزگی)، رشد (۱۱- ۲۴روزگی) و پایانی (۲۵-۲۸ روزگی) در اختیار جوجه‌ها قرار گرفتند (جدول ۱). در داخل هر باکس یک دانخوری دستی استوانه‌ای آویز و سه نازل آبخوری نیپل وجود داشت و جوجه‌ها در تمام طول آزمایش به آب آشامیدنی و خوراک به‌طور آزاد دسترسی داشتند.

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) شاهد منفی (جیره پایه بدون افزودن آفلاتوکسین)، ۲) شاهد مثبت (حاوی ۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسینB1)، ۳) شاهد مثبت+ ۰/۵ درصد آلومینو سیلیکات، ۴) شاهد مثبت+ ۰/۵ درصد آلومینوسیلیکات+ ۰/۵ درصد اسید هیومیک، ۵) شاهد مثبت+ ۰/۵ درصد آلومینوسیلیکات+ ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر، ۶) شاهد مثبت+ ۰/۵ درصد آلومینوسیلیکات+ ۰/۵ درصد اسید هیومیک+ ۰/۱ درصد دیواره سلولی مخمر، ۷) شاهد مثبت+ ۰/۳ درصد توکسین بایندر تجاری مگنوتوکس، ۸) شاهد مثبت+ ۰/۳ درصد پودر گیاهی (حاوی اندام هوایی مرزه بختیاری، آویشن دنایی، رزماری و پوست دارچین به نسبت مساوی) بودند.

برای تولید آفلاتوکسین B1 از روش پروش قارچ *Aspergillus flavus* روی دانه‌های برنج بهره برده شد. بدین منظور جدایه توکسین‌زای *A. flavus* R5 از کلکسیون قارچ گروه کشاورزی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دانشگاه شهید بهشتی تهیه شد.

جدول ۱. اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی

Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal diets in starter, grower and finisher phases

Ingredients	% Diet		
	Starter (0-10d)	Grower (11-24d)	Finisher (25-28d)
Corn	53.15	54.98	58.76
Soybean meal	39.80	38.26	33.56
Soybean oil	1.28	2.79	3.98
Corn gluten meal	1.30	-	-
Calcium carbonate	0.98	0.90	0.83
Dicalcium phosphate	2.06	1.83	1.65
Sodium chloride	0.27	0.27	0.26
Sodium bicarbonate	0.11	0.12	0.13
L-Threonine	0.11	0.06	0.05
DL-Methionine	0.31	0.27	0.25
L-Lysine HCl	0.13	0.03	0.04
Vitamin and mineral premix	0.50	0.50	0.50
Chemical composition			
Metabolizable energy (kcal/kg)	2850	2950	3050
Crude protein (%)	21.85	20.46	18.77
Digestible arginine (%)	1.32	1.26	1.14
Digestible lysine (%)	1.22	1.09	0.99
Digestible methionine (%)	0.61	0.55	0.51
Digestible methionine+cysteine (%)	0.90	0.83	0.77
Digestible threonine (%)	0.94	0.84	0.77
Calcium (%)	0.96	0.87	0.79
Available phosphorous (%)	0.48	0.44	0.39
Potassium (%)	1.00	0.97	0.88
Chlorine (%)	0.23	0.21	0.21
Sodium (%)	0.15	0.15	0.15
Anion-cation balance (mEq/kg)	256	254	233

* هر کیلوگرم جیره حاوی ۱۰۰۰۰ A (IU)، ۵۰۰۰ D_3 (IU)، ۴۵ E (IU)، ۳ میلی‌گرم K_3، ۳ میلی‌گرم B_1، ۹ میلی‌گرم B_2، ۱۰ میلی‌گرم B_3، ۳۰ میلی‌گرم B_5، ۴ میلی‌گرم B_6، ۲ میلی‌گرم B_9، ۰/۰۲میلی‌گرم B_{12}، ۰/۱ میلی‌گرم H، ۱۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید بود.

** هر کیلوگرم جیره حاوی ۱۱ میلی‌گرم آهن، ۵۴۵ میلی‌گرم منگنز، ۵۵۵ میلی‌گرم روی، ۵۲ میلی‌گرم مس، ۵/۳ میلی‌گرم ید و۵/۳ میلی‌گرم سلنیوم بود.

*** محاسبات بر پایه جدول‌های ترکیبات مواد خوراکی (NRC, 1994) انجام شده است.

* Vitamin premix provided the following per kilogram of diet: vitamin A, 10000 IU; vitamin D3, 5000 IU; vitamin E, 45 IU; vitamin K3, 3 mg; vitamin B1, 3 mg; vitamin B2, 9 mg; vitamin B3, 10 mg; vitamin B5, 30 mg; vitamin B6, 4 mg; vitamin B9, 2 mg; vitamin B12, 0.02 mg; vitamin H, 0.1 mg and choline chloride, 1000 mg.

** Mineral premix p provided the following per kilogram of diet: iron, 55 mg; manganese, 120 mg; zinc, 100 mg; copper, 16 mg; iodine, 1.3 mg; selenium, 0.3 mg.

به‌طور خلاصه، درون فلاسک‌های ارلن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری، به میزان ۲۰۰ گرم دانه برنج پوست کنده و شسته شده و ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و پس از اتوکلاو، با پنج میلی لیتر سوسپانسیون 10^5 اسپور قارچ در میلی‌لیتر آب مقطر سترون، مایه‌زنی شدند. فلاسک های ارلن به‌مدت ده روز در انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و تاریکی نگهداری شدند تا دانه‌های برنج به‌طور کامل توسط قارچ کلونیزه شود. سپس برنج‌ها خشک و پودر شده و بلافاصله محتوای آفلاتوکسین آنها توسط ستون ایمونوافینیتی (The Puri-Fast AFLA BG IAC, LIBIOS Co., Pontcharra-sur-Turdine, France) استخراج و میزان آفلاتوکسین آنها توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC-FLD Waters alliance 2695) دارای نشانگر فلورسنت اندازه‌گیری شد (Gorran *et al.*, 2013).

پودر گیاهی از ترکیب اندام هوایی مرزه بختیاری (*Satureja bakhtiarica Bunge*)، آویشن دنایی (*Thymus daenensis Celak*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*) و پوست دارچین (*Cinnamomum verum*) از پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهیه شد. بر اساس آزمایش XRF انجام شده در آزمایشگاه تجزیه شیمیایی سازمان زمین‌شناسی و اکتشافات معدنی کشور، توکسین بایندر تجاری مگنوتوکس (شرکت ویوان) حاوی ۶۵/۹ درصد SiO_2، ۱۳/۲ درصد Al_2O_3، ۳/۱ درصد Fe_2O_3، ۲/۱ درصد CO_2، ۲/۱ درصد Na_2O، ۱/۷ درصد MgO و ۱/۲ درصد K_2 بود و اسید هیومیک خریداری شده از اجزای اسید هیومیک، پتاسیم محلول در آب، فولویک اسید و ریزمغذی‌ها تشکیل شده بود.

در روز هفتم پرورش، جیره‌ی جوجه‌ها با ۰/۳ میلی‌گرم آفلاتوکسین B1 در هر کیلوگرم آلوده شد و تا روز ۲۸ پرورش جیره آلوده به آفلاتوکسین به جوجه‌های گوشتی تغذیه شد. تیمارهای آزمایشی شامل ترکیبات جاذب‌های مختلف نیز از همین سن به جیره اضافه شدند. جوجه‌های هر واحد آزمایشی به‌طور هفتگی توزین شدند و خوراک مصرفی هر هفته اندازه‌گیری شد. با استفاده از این داده‌ها افزایش وزن روزانه، میانگین خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل خوراک محاسبه و تلفات نیز ثبت شد.

در سن ۲۸ روزگی، از هر باکس یک جوجه انتخاب و خون‌گیری از ورید بال انجام شد و پس از جداسازی سرم، میزان آلبومین، پروتئین کل و گلوکز با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر تعیین شد (Alam *et al.*, 2003). برای اندازه‌گیری وزن اندام‌های داخلی و نمونه‌برداری از کبد در سن ۲۸ روزگی تعداد یک قطعه جوجه از هر باکس ذبح شد. کبد، قلب، پانکراس، پیش معده، سنگدان، بورس فابرسیوس و طحال توزین شدند. امتیاز جراحات و رنگ کبد بررسی شد. جراحات کبد (نمره ۱ کمترین جراحت و نمره ۴ بیشترین جراحت) و رنگ کبد (نمره ۱ رنگ طبیعی کبد و نمره ۴ کبد کم‌رنگ و رنگ‌پریده) امتیازدهی شدند (Dos Anjos *et al.*, 2016; USDA, 2008). برای بررسی بافت کبد، لوب راست همه نمونه‌های کبد برش داده شد و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت و به آزمایشگاه منتقل شد و سپس نمونه با دستگاه میکروتوم برش داده شد. رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین بر روی لام انجام و با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین مورد بررسی قرار گرفت (Pizzolitto *et al.*, 2013).

محتوای چربی کبد توسط سوکسله استخراج شد. ابتدا نمونه‌های کبد برش داده شدند و به‌مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مقدار یک گرم نمونه خشک آسیاب شده در داخل کاغذ صافی قرار داده شد و در بالن حاوی محلول N-هگزان به‌مدت ۸ ساعت در دستگاه سوکسله (Bakhshilab, Iran) گذاشته شد. سپس نمونه چربی گرفته شده به‌مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از خشک شدن توزین شد (AOAC, 2005). تجزیه و تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. داده‌ها توسط رویه GLM نرم‌افزار SAS برای مدل (۱) تجزیه شدند و میانگین‌ها با آزمون توکی ($P<۰/۰۵$) مقایسه شدند (SAS, 2003).

$$Y_{ij}= \mu + T_i + e_{ij} \quad (۱)$$

که در آن Yij مشاهده مربوط به تکرار (j) از تیمار

(i)ام، μ میانگین مشاهدات کل آزمایش، Ti اثر تیمار (i)ام و eij خطای آزمایش مربوط به تکرار (i) ام از تیمار (j) ام می‌باشد.

نتایج و بحث

عملکرد

تلفات در کل دوره آزمایش کم‌تر از یک درصد بود و رابطه‌ای با تیمارها نداشت، بنابراین در جداول گزارش نشد. نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است. خوراک مصرفی، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در بازه ۷ تا ۱۴ روزگی تفاوت معنی‌داری را در بین گروه‌های آزمایشی ایجاد نکرد (P>۰/۰۵)، ولی در بازه ۱۵ تا ۲۱ روزگی جوجه‌های تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین افزایش وزن کمتری نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی داشتند (P<۰/۰۵). همچنین، تمامی تیمارهایی که جیره آلوده به آفلاتوکسین مصرف کردند در بازه ۱۵ تا ۲۱ روزگی خوراک مصرفی کم‌تری در مقایسه با گروه شاهد منفی که جیره غیرآلوده دریافت نمود، داشتند. البته این تفاوت فقط در گروهی که جیره آلوده به آفلاتوکسین حاوی پودر گیاهی را مصرف کردند در مقایسه با شاهد منفی معنی‌دار بود (۸۳/۷ در برابر ۹۶/۲ گرم در روز؛ P<۰/۰۵). خوراک مصرفی کم‌تر در این گروه در مقایسه با سایر گروه‌های دریافت کننده آفلاتوکسین ممکن است مربوط به بوی تند ترکیب گیاهی مورداستفاده باشد که تمایل جوجه‌ها به مصرف خوراک را کاهش داده است.

جوجه‌های تغذیه شده با آلومینوسیلیکات و دیواره سلولی مخمر در جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین بهترین ضریب تبدیل را نشان دادند که تفاوت معنی‌داری را با گروه شاهد مثبت، گروه تغذیه شده با آلومینوسیلیکات+ اسید هیومیک و پودر گیاهی نشان داد (به‌ترتیب ۱/۴۸ در مقابل ۱/۶۷، ۱/۶۶ و ۱/۶۶ گرم در روز؛ P<۰/۰۱). در سن ۲۲ تا ۲۸ روزگی تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی به لحاظ خوراک مصرفی و افزایش وزن بدن وجود نداشت ولی تفاوت ضریب تبدیل معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری در ضریب تبدیل بین جوجه‌های تغذیه شده با پودر گیاهی با جوجه‌های تغذیه‌شده با ترکیب آلومینو سیلیکات+اسید هیومیک+دیواره سلولی مخمر وجود داشت (۱/۷۶ در مقابل ۱/۵۸ گرم در روز؛ P<۰/۰۵).

همان‌طورکه در جدول ۳ نشان داده شده است افزایش روزانه وزن بدن در کل دوره آزمایش در جوجه‌های گروه شاهد مثبت کم‌تر از گروه شاهد منفی بود (۵۴/۴ در مقابل ۶۱/۱ گرم در روز؛ P<۰/۰۵). جوجه‌هایی که با جیره حاوی مخلوطی از مواد جاذب یا توکسین بایندر تجاری تغذیه شدند تفاوت معنی‌داری را به لحاظ افزایش وزن روزانه با گروه‌های شاهد منفی و مثبت نداشتند. خوراک مصرفی در تمامی گروه‌های تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین در طول دوره آزمایش کم‌تر از گروه شاهد منفی بود و تیمار تغذیه شده با پودر گیاهی تفاوت معنی‌داری را با شاهد منفی داشت (۸۹/۲ در مقابل ۹۶/۲ گرم در روز؛ P<۰/۰۵).

کاهش خوراک مصرفی بر اثر افزودن آفلاتوکسین به جیره‌های غذایی طیور که در اکثر مطالعات گزارش شده است ممکن است ناشی از بی‌اشتهایی، بی‌حالی، تنش، کاهش تولید آنزیم‌های گوارشی پانکراس، مسمومیت کبدی و تغییر شاخص‌های بیوشیمیایی خون باشد (Oliveira *et al.*, 2000). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که هر چه مقدار بیشتری آفلاتوکسین به صورت مستقیم به جیره اضافه شود آثار منفی بیشتری بر عملکرد طیور مشاهده خواهد شد. برای مثال، استفاده از دو میلی‌گرم آفلاتوکسین در مقایسه با یک میلی‌گرم آفلاتوکسین اثر بیش‌تری را بر افت عملکرد و فاکتورهای بیوشیمیایی خون دارد (van Rensburg *et al.*, 2006). در بیشتر مطالعات گزارش شده است که حدود ۲/۵ میلی‌گرم آفلاتوکسین در هر کیلوگرم جیره برای کاهش معنی‌دار وزن بدن باید وجود داشته باشد. کاهش وزن بدن در نتیجه مصرف آفلاتوکسین به کاهش تولید پروتئین، اختلال در جذب مواد مغذی و اختلال در تولید و ترشح آنزیم‌های گوارشی نسبت داده شده است (Devegowda & Raju, 1998). در این آزمایش مقدار ۰/۳ میلی‌گرم آفلاتوکسین توانسته

به‌طور معنی‌داری سبب کاهش وزن بدن جوجه‌ها شود.

افزایش تشکیل رادیکال آزاد یا کاهش سطح آنتی اکسیدان‌ها در بدن در اثر آفلاتوکسین منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود که می‌تواند از طریق فیزیکی، شیمیایی و فیزیولوژیکی سبب تخریب بافت‌های بدن شود (Eralsan *et al*., 2005). پیشنهاد شده است که خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به علت وجود گروه‌های OH فنولیک به‌عنوان دهنده هیدروژن به رادیکال‌های پراکسید تولید شده به هنگام تنش اکسیداتیو می‌باشد که سبب تأخیر و یا عدم تشکیل پراکسید می‌شود. گیاهان دارویی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی هستند و قادرند از رشد قارچ‌ها و تولید آفلاتوکسین جلوگیری کنند (Razzaghi-Abyaneh *et al*., 2008).

استفاده از ترکیب مواد جاذب شامل آلومینوسیلیکات، اسید هیومیک و دیواره سلولی مخمر سبب بهبود افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل در جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین شد. این اثر ناشی از کاهش اثر سم آفلاتوکسین به‌دلیل کاهش جذب آن از دستگاه گوارش و تحریک ناشی از مصرف مواد جاذب از جمله اسید هیومیک می‌باشد. اثر اسید هیومیک به‌عنوان محرک رشد در جوجه‌های گوشتی در مطالعات مختلف گزارش شده است (Yoruk *et al*., 2004; Bailey *et al*., 1998). دیواره سلولی مخمر با تأمین منبعی از ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، پروتئین و همچنین با جلوگیری از جذب آفلاتوکسین از دستگاه گوارش سبب بهبود رشد در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Santin *et al*., 2003). در این آزمایش، استفاده از ترکیب آلومینوسیلیکات و دیواره سلولی مخمر نسبت به سایر ترکیب‌ها و جاذب تجاری اثر بیش‌تری بر بهبود عملکرد داشت.

جدول ۲. اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effects of experimental treatments on performance parameters of broilers

Treatments	7-14 d			15-21 d			22-28 d		
	BWG (g/d)	ADFI (g/d)	FCR (g/g)	BWG (g/d)	ADFI (g/d)	FCR (g/g)	BWG (g/d)	ADFI (g/d)	FCR (g/g)
NC[1]	35.5	48.6	1.40	65.1[a]	96.2[a]	1.50[ab]	87.3	143.7	1.60[ab]
PC[2]	32.6	45.5	1.47	54.3[ab]	86.6[ab]	1.67[a]	80.7	136.7	1.74[ab]
PC+AS[3]	35.5	48.3	1.41	55.5[ab]	92.3[ab]	1.60[ab]	81.5	139.9	1.73[ab]
PC+AS+HA[4]	33.6	47.8	1.46	55.5[ab]	93.7[ab]	1.66[a]	84.6	140.5	1.66[ab]
PC+AS+SC[5]	36.1	49.0	1.38	64.1[ab]	95.4[ab]	1.48[b]	86.3	142.7	1.66[ab]
PC+AS+HA+SC	33.2	47.2	1.42	56.5[ab]	90.9[ab]	1.58[ab]	88.4	142.8	1.58[b]
PC+Magnotox	34.0	48.6	1.43	57.0[ab]	93.1[ab]	1.63[ab]	83.1	138.4	1.64[ab]
PC+HP[6]	33.1	46.4	1.41	52.0[b]	83.7[b]	1.66[a]	77.1	137.7	1.76[a]
SEM	0.49	0.48	0.011	1.16	1.07	0.016	1.03	1.88	0.016
P-value	0.536	0.607	0.499	0.024	0.023	0.004	0.081	0.382	0.017

ab: میانگین‌های با حروف غیرهمسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

۱) کنترل منفی: جیره پایه بدون آفلاتوکسین، ۲) کنترل مثبت: جیره پایه آلوده به آفلاتوکسین، ۳) آلومینو سیلیکات، ۴) اسید هیومیک، ۵) دیواره سلولی مخمر، ۶) پودر گیاهی.

1) Negative control: basal diet without aflatoxin, 2) Positive control: basal diet contaminated with aflatoxin, 3) AS: Aluminum silicate, 4) HA: Humic acid, 5) SC: *Saccharomyces cerevisiae*, 6) HP: Herbal powder.

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی (۷ تا ۲۸ روزگی)

Table 3. Effects of experimental treatments on performance parameters of broilers (7-28d)

Treatments	BW_{28} (g)	BWG_{7-28} (g/d)	$ADFI_{7-28}$ (g/d)	FCR_{7-28} (g/g)
NC[1]	1455[a]	61.1[a]	96.2[a]	1.57
PC[2]	1336[a]	54.4[b]	89.6[bc]	1.65
PC+AS[3]	1423[a]	59.7[ab]	93.4[abc]	1.56
PC+AS+HA[4]	1366[a]	56.7[ab]	94.0[abc]	1.66
PC+AS+SC[5]	1442[a]	60.1[ab]	95.7[ab]	1.59
PC+AS+HA+SC	1371[a]	57.2[ab]	93.6[abc]	1.63
PC+Magnotox	1373[a]	57.2[ab]	93.3[abc]	1.63
PC +HP[6]	1339[b]	55.8[ab]	89.2[b]	1.60
SEM	11.7	0.56	0.59	0.013
P-value	0.040	0.016	0.008	0.535

ab: میانگین‌های با حروف غیرهمسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

۱) کنترل منفی: جیره پایه بدون آفلاتوکسین، ۲) کنترل مثبت: جیره پایه آلوده به آفلاتوکسین، ۳) آلومینو سیلیکات، ۴) اسید هیومیک، ۵) دیواره سلولی مخمر، ۶) پودر گیاهی.

1) Negative control: basal diet without aflatoxin, 2) Positive control: basal diet contaminated with aflatoxin, 3) AS: Aluminum silicate, 4) HA: Humic acid, 5) SC: *Saccharomyces cerevisiae*, 6) HP: Herbal powder.

اندام‌های داخلی

اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸ روزگی در جدول ۴ نشان داده شده است. آلوده‌کردن جیره‌ها به آفلاتوکسین اثر معنی‌داری بر وزن نسبی طحال، سنگدان، پیش معده و بورس فابرسیوس نداشت (P>۰/۰۵). از آنجایی که اندام هدف آفلاتوکسین در بدن کبد می‌باشد، در آزمایش حاضر آفلاتوکسین در مقدار استفاده‌شده اثری بر وزن سنگدان، پیش‌معده، طحال و بورس فابرسیوس نداشت. وزن نسبی قلب و پانکراس در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین در مقایسه با جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره سالم بیشتر بود (P<۰/۰۵). افزودن مواد جاذب به جیره آلوده سبب کاهش آثار منفی آفلاتوکسین شد و وزن نسبی کبد، قلب و پانکراس را نسبت به شاهد مثبت کاهش دادند ولی بین ترکیبات مختلف مواد جاذب تفاوتی مشاهده نشد.

با توجه به این که کبد اندام هدف آفلاتوکسین است، بنابراین جزئیات بیشتری درباره این اندام مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۵). وزن کبد در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین در مقایسه با جوجه‌های تغذیه شده با جیره سالم بیشتر بود. جراحات کبد در جوجه‌های تغذیه‌شده با آفلاتوکسین بیشتر از گروه شاهد منفی بود هر چند که این تفاوت به صورت آماری معنی‌دار نبود (جدول ۵). چربی کبد جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین (شاهد مثبت) در مقایسه با شاهد منفی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۱۳/۶۵ در برابر ۱۰/۸۰ درصد؛ P<۰/۰۵). یکی از دلایل افزایش وزن نسبی کبد جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین، افزایش رسوب چربی می‌باشد که به علت اختلال در متابولیسم چربی ایجاد می‌شود. این مسأله سبب رنگ پریدگی کبد جوجه‌ها شده است. عوارض کبدی مشاهده شده در آزمایش حاضر مشابه با یافته‌های آزمایش‌های پیشین که آفلاتوکسین را در مقادیر کم (۰/۲ و ۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) استفاده کردند، بود (Daghir, 1995).

استفاده از ترکیبی از مواد جاذب و توکسین بایندر تجاری نتوانست اثر منفی آفلاتوکسین را بر اندام‌های کبد، قلب و پانکراس به‌طور کامل از بین ببرد که می‌تواند بیانگر حساس بودن این اندام‌ها به مقادیر اندک آفلاتوکسین باشد. در این آزمایش جیره‌هایی که حاوی ترکیبی از آلومینوسیلیکات، اسید هیومیک و دیواره سلولی مخمر بودند به میزان بیش‌تری اثر آفلاتوکسین را بر وزن کبد و قلب کاهش دادند و این اثر می‌تواند ناشی از اثر این ترکیبات در کاهش جذب آفلاتوکسین از روده باشد.

کبد جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین (شاهد مثبت) در مقایسه با شاهد منفی رنگ‌پریده‌تر بود (شکل ۱). رنگ کبد در جوجه‌های تغذیه شده با آلومینوسیلیکات و دیواره سلولی مخمر در جیره آلوده به آفلاتوکسین مشابه رنگ کبد جوجه‌های گروه شاهد منفی بود.

جدول ۴. اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی (٪) اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸روزگی

Table 4. Effects of experimental treatments on internal organs relative weight (%) of broilers at 28 days of age

Treatments	Heart	Spleen	Gizzard	Proventriculus	Pancreas	Bursa of Fabricius
NC[1]	0.55[b]	0.11	1.88	0.53	0.34[b]	0.34
PC[2]	0.70[a]	0.14	2.25	0.59	0.45[a]	0.21
PC+AS[3]	0.62[ab]	0.12	2.17	0.61	0.35[ab]	0.24
PC+AS+HA[4]	0.59[ab]	0.13	2.08	0.57	0.37[ab]	0.24
PC+AS+SC[5]	0.62[ab]	0.11	2.13	0.54	0.35[ab]	0.22
PC+AS+HA+SC	0.56[b]	0.13	2.12	0.53	0.40[ab]	0.24
PC+Magnotox	0.59[ab]	0.12	1.89	0.59	0.35[ab]	0.22
PC+HP[6]	0.60[ab]	0.12	1.88	0.55	0.34[b]	0.22
SEM	0.010	0.002	0.038	0.011	0.009	0.013
P-value	0.013	0.087	0.169	0.479	0.023	0.280

ab: میانگین‌های با حروف غیرهمسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

۱) کنترل منفی: جیره پایه بدون آفلاتوکسین، ۲) کنترل مثبت: جیره پایه آلوده به آفلاتوکسین، ۳) آلومینو سیلیکات، ۴) اسید هیومیک، ۵) دیواره سلولی مخمر، ۶) پودر گیاهی.

1) Negative control: basal diet without aflatoxin, 2) Positive control: basal diet contaminated with aflatoxin, 3) AS: Aluminum silicate, 4) HA: Humic acid, 5) SC: *Saccharomyces cerevisiae*, 6) HP: Herbal powder.

جدول ۵. اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی (٪)، چربی، رنگ و جراحت کبد جوجه های گوشتی در سن ۲۸روزگی

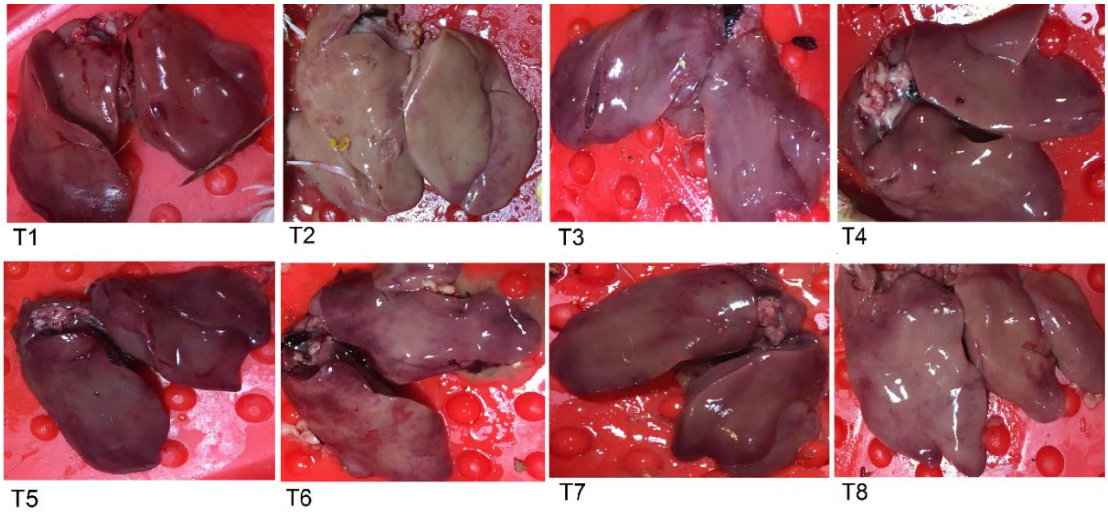
Table 5. Effects of experimental treatments on liver relative weight (%), fat, color and lesion score of broilers at 28 days of age

Treatments	% Liver weight	% Liver fat	Liver color score	Liver lesion score
NC[1]	2.33[b]	10.80[b]	1.75[b]	1.75
PC[2]	2.66[a]	13.65[a]	4.00[a]	2.50
PC+AS[3]	2.46[ab]	12.20[ab]	3.00[ab]	2.25
PC+AS+HA[4]	2.44[ab]	12.10[ab]	3.25[ab]	2.00
PC+AS+SC[5]	2.56[ab]	11.77[ab]	1.75[b]	1.75
PC+AS+HA+SC	2.37[b]	11.47[ab]	3.00[ab]	2.25
PC+Magnotox	2.45[ab]	12.17[ab]	3.25[ab]	1.75
PC+HP[6]	2.47[ab]	11.55[ab]	4.25[a]	1.50
SEM	0.024	0.213	0.231	0.138
P-value	0.011	0.045	0.033	0.671

ab: میانگین‌های با حروف غیرهمسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

۱) کنترل منفی: جیره پایه بدون آفلاتوکسین، ۲) کنترل مثبت: جیره پایه آلوده به آفلاتوکسین، ۳) آلومینو سیلیکات، ۴) اسید هیومیک، ۵) دیواره سلولی مخمر، ۶) پودر گیاهی.

1) Negative control: basal diet without aflatoxin, 2) Positive control: basal diet contaminated with aflatoxin, 3) AS: Aluminum silicate, 4) HA: Humic acid, 5) SC: *Saccharomyces cerevisiae*, 6) HP: Herbal powder.



شکل ۱. مقایسه رنگ کبد در تیمارهای مختلف آزمایشی (T_1 تا T_8)

Figure 1. Comparison of liver color in different experimental treatments (T_1-T_8)

فاکتورهای بیوشیمیایی خون

غلظت گلوکز، آلبومین و پروتئین کل سرم خون در جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره آلوده‌شده به آفلاتوکسین در مقایسه با گروه شاهد منفی کاهش یافت (جدول ۶)، البته این کاهش تنها در مورد آلبومین سرم معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). تحقیقات نشان داده است که سطوح آلبومین و پروتئین کل سرم خون دو شاخص حساس در مقابل آفلاتوکسین در جوجه‌های گوشتی هستند و آفلاتوکسین می‌تواند با جلوگیری از سنتز پروتئین سبب کاهش آلبومین و پروتئین در خون شود (Raju & Devegowda, 2000).

در آزمایش حاضر، استفاده از پودر گیاهی سبب کاهش پروتئین کل سرم در مقایسه با شاهد منفی شد. یکی از دلایل احتمالی کاهش پروتئین کل سرم در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با پودر گیاهی در این مطالعه می‌تواند کاهش مصرف خوراک در این گروه از جوجه‌ها باشد. به‌طوری که با کاهش مصرف خوراک، پروتئین کم‌تری دریافت شده و سطح پروتئین سرم کم‌تر شده است. افزودن ترکیبی از مواد جاذب به جیره آلوده به آفلاتوکسین سبب ارتقای فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی شد، هر چند هیچ کدام از آنها تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با شاهد منفی و مثبت نداشتند.

بافت شناسی کبد

بررسی تصاویر میکروسکوپی نشان داد که تجمع چربی در کبد جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین افزایش یافت. این مسأله موجب از بین رفتن یکنواختی سیتوپلاسم سلول‌های کبد و به حاشیه رفتن هسته سلول و نکروز هپاتوسیت‌ها شده است. علاوه بر این، در بررسی دقیق‌تر تصاویر میکروسکوپی، پرخونی سینوزوئید قابل مشاهده است (شکل ۲). در تصاویر میکروسکوپی به‌نظر می‌رسد که تیمارهای ۳، ۵، ۶ و ۷ شرایط بهتری در مقایسه با شاهد مثبت داشتند. گزارش شده است که آفلاتوکسین سبب تغییر شدید چربی کبد جوجه‌های گوشتی شد و واکوئل‌های درشت چربی تمام سیتوپلاسم سلول را فرا گرفته و موجب رانده شدن هسته و ضمائم آن به حاشیه سلول می‌شود (Safamehr *et al*., 2005). همچنین، لیپیدوز و نکروز سلول‌های کبدی، هیپرپلازی صفراوی، فیبروز و اشکال غیرهمسان سلول‌های کبدی به‌عنوان علایم میکروسکوپی آفلاتوکسیکوز مزمن گزارش شده است (Mcgavin *et al*., 2001).

جدول ۶. اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸روزگی

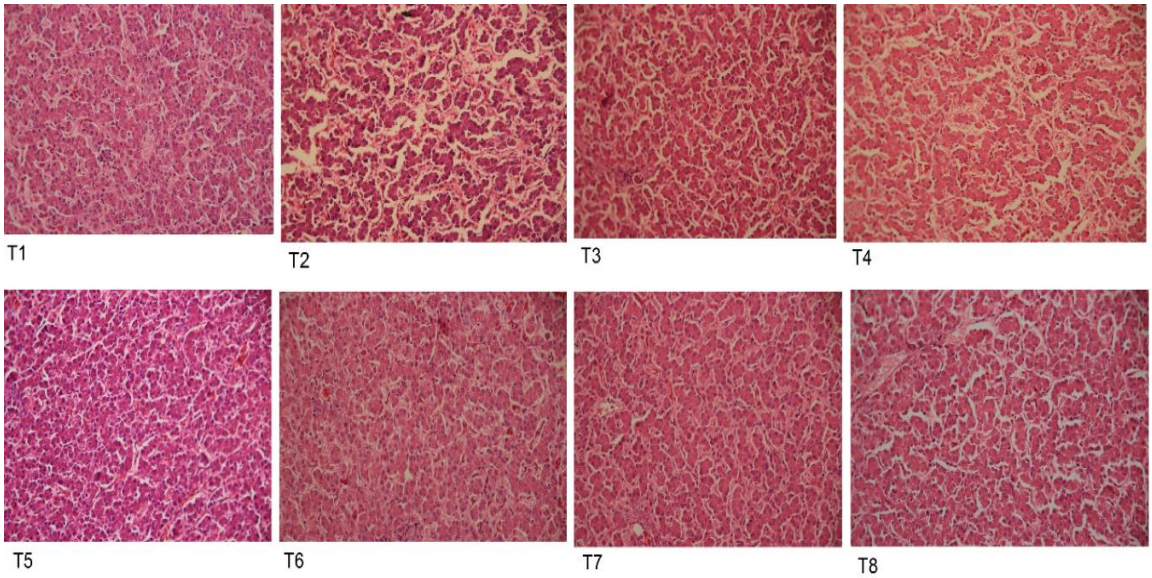
Table 6. Effects of experimental treatments on blood parameters of broilers at 28 days of age

Treatments	Glucose (mg/dL)	Total protein (mg/dL)	Albumin (mg/dL)
NC[1]	195.9[ab]	5.98[a]	1.52[a]
PC[2]	180.5[b]	5.08[ab]	1.14[b]
PC+AS[3]	188.9[ab]	5.70[ab]	1.24[ab]
PC+AS+HA[4]	183.3[ab]	5.69[ab]	1.26[ab]
PC+AS+SC[5]	184.7[ab]	5.29[ab]	1.42[ab]
PC+AS+HA+SC	185.1[ab]	5.37[ab]	1.27[ab]
PC+Magnotox	188.4[ab]	5.26[ab]	1.30[ab]
PC+HP[6]	197.1[a]	4.93[b]	1.24[ab]
SEM	1.481	0.136	0.029
P-value	0.007	0.019	0.018

ab: میانگین‌های با حروف غیرهمسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

۱) کنترل منفی: جیره پایه بدون آفلاتوکسین، ۲) کنترل مثبت: جیره پایه آلوده به آفلاتوکسین، ۳) آلومینو سیلیکات، ۴) اسید هیومیک، ۵) دیواره سلولی مخمر، ۶) پودر گیاهی.

1) Negative control: basal diet without aflatoxin, 2) Positive control: basal diet contaminated with aflatoxin, 3) AS: Aluminum silicate, 4) HA: Humic acid, 5) SC: *Saccharomyces cerevisiae*, 6) HP: Herbal powder.



شکل ۲. مقایسه میکروسکوپی بافت کبد در تیمارهای مختلف آزمایشی (T_1 تا T_8)

Figure 2. Microscopic comparison of liver tissue in different experimental treatments (T_1-T_8)

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره آلوده به آفلاتوکسین سبب کاهش عملکرد رشد، افزایش وزن کبد، قلب و پانکراس و کاهش غلظت آلبومین سرم در مقایسه با جیره بدون آفلاتوکسین شد. استفاده از ترکیبات جاذب، آثار منفی آفلاتوکسین را کاهش داد. افزودن آلومینوسیلیکات به‌عنوان جاذب به تنهایی در کاهش آثار منفی آفلاتوکسین مؤثر بود. افزودن دیواره سلولی مخمر سبب تقویت اثر آلومینوسیلیکات شد، اما افزودن اسید هیومیک اثری نداشت. به‌طورکلی، به‌نظر می‌رسد ترکیب آلومینوسیلیکات و دیواره سلولی مخمر بیشترین جذب آفلاتوکسین B1 را دارا می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان توکسین بایندر در جیره طیور استفاده شود.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی گروه دانش‌بنیان ویوان انجام شد. از گروه دانش‌بنیان ویوان برای همکاری و حمایت از اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Alam, M. J., Howlider, M. A. R., Pramanik, M. A. H. & Haque, M. A. (2003). Effect of exogenous enzyme in diet on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*, 2, 168-173.
2. AOAC International. (2005). *Association of Official Analysis Chemists*, (18th ed.). AOAC, Arlington, VA.
3. 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 and serum biochemical and hematological parameters in broilers. *Poultry Science*, 82, 571-576.
4. Bailey, R. H., Kubena, L. F., Harvey, R. B., Buckley, S. A. & 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. Daghir, N.J. (1995). Mycotoxins in Poultry Feeds, Poultry Production in Hot Climates. *CAB International*, pp, 157-184.
6. Devegowda, G. & Raju, M.V. (1998). Mycotoxins: Novel solutions for their counteraction. *Feedstuffs*, 370, 12-16.
7. Dos Anjos, F., Ledoux, D. R., Rottinghaus, G. E. & Chimonyo, M. (2016). Efficacy of Mozambican bentonite and diatomaceous earth in reducing the toxic effects of aflatoxins in chicks. *World Mycotoxin Journal*, 9, 63-72.
8. Eraslan, G., Eşsiz, D., Akdoğan, M., Şahindokuyucu, F. & Altintaş, L. (2005). The effects of aflatoxin and sodium bentonite combined and alone on some blood electrolyte levels in broiler chickens. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29, 601-605.
9. Gorran, A., Farzaneh, M., Shivazad, M., Rezaeian, M. & Ghassempour, A. (2013). Aflatoxin B1-reduction of *Aspergillus flavus* by three medicinal plants (Lamiaceae). *Food Control*, 31, 218-223. (in Farsi)
10. Hoerr, F. J. (2003). Mycotoxicoses. *Diseases of Poultry*. (11th ed.). Y. M. Saif, H. J., Barnes, C. W., Beard, J. R. & Glisson, A. M. Fadly, L. R. & Osweiler, G. (2005). Pages 1103–1132. Veterinary Diagnostic Laboratory Iowa State University, Ames, Iowa.
11. Islam, K. M. S., Schuhmacher, A. & Gropp, J. M. (2005). Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4, 126-134.
12. McGavin, M.O., Cartton, W.W. & Zachary, J.F. (2001). Thomsons Special Veterinary Pathology. (3rd ed.), MoASy, St. Louis, USA. Pp. 110.
13. Neeff, D.V., Ledoux, D.R., Rottinghaus, G.E., Bermudez, A.J., Dakovic, A., Murarolli, R.A. & Oliveira, C.A.F. (2013). *In vitro* and *in vivo* efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to bind and reduce aflatoxin residues in tissues of broiler chicks fed aflatoxin B1. *Poultry Science*, 92, 131-137.
14. Oliveira, C. A. F., Kobashigawa, E., Reis, T. A., Mestieri, L., Albuquerque, R. & Correa, B. (2000). Aflatoxin B1 residues in eggs of laying hens fed a diet containing different levels of the mycotoxin. *Food Additive Contamination*, 17, 459-462.
15. Parizadian-Kavan, B., Shams-Shargh, M., Hassani, S. & Mostafalo, U. (2015). Study of the effect of physical size of clinoptilolite on liver histology, carcass traits and blood enzymes activity of broilers fed rations contaminated with aflatoxin. *Veterinary Journal (Pajouhesh-va-Sazandegi)* 28, 35-44. (in Farsi)
16. Pizzolitto, R. P., Armando, M. R., Salvano, M. A., Dalcero, A. M. & Rosa, C. A. (2013). Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* as an antiaflatoxicogenic agent in broiler feedstuffs. *Poultry Science*, 92, 1655-1663.

17. Raju, M. V. & Devegowda, G. (2000). Influence of esterified glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and hematology in broiler exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T2 toxin). *British Poultry Science*, 41, 640-650.
18. Ramos, A. J. & Hernandez, E. (1996). *In vitro* aflatoxin adsorption by means of montmorillonite silicate. A study of adsorption isotherms. *Animal Feed Science and Technology*, 62, 263-269.
19. Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Yoshinari, T., Rezaee, M, B., Nagasawa, H. & Sakuda, S. (2008). Inhibitory effects of *Satureja hortensis* L. essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 123, 228-233. (in Farsi)
20. Safamehr, A., Allameh, A., Shivazad, M., Moradi, M. & Mirhadi, A. (2005). Study of liver pathology lesions and performance of broiler chickens fed with contaminated corn by aflatoxin and ammoniac. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 36, 1295-1303. (in Farsi)
21. Santin, E., Paulillo, A.C., Maiorka, A., Nakaghi, L.S.O., Macari, M., Silva, A.V.F. & Alessi, A.C. (2003). Evaluation of the efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *International Journal of Poultry Science*, 2(5), 341-344.
22. SAS Institute. (2003). *SAS User's Guide*. Release Version 9/1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
23. Shannon, T.A., Ledoux, D.R., Rottinghaus, G.E., Shaw, D.P., Dakovic, A. & Markovi, M. (2016). The efficacy of raw and concentrated bentonite clay in reducing the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poultry Science*, 96, 1651-1658.
24. Stanley, V.G., Ojo, R., Woldesenbet, S. & Hutchinson, D. H. (1993). The use of *Sacchoromyces cerevisiae* to suppress the effects of aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Science*, 72, 1867-1872.
25. USDA. Giblets and Food Safety. (2008). *Food Safety and Inspection Service*. United States Department of Agriculture: Philadelphia, PA, USA, pp: 1-2.
26. van Rensburg, C. J., Van Rensburg, C. E. J., Van Ryssen, J. B. J., Casey, N. H. & Rottinghaus, G. E. (2006). *In vitro* and *in vivo* assessment of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens. *Poultry Science*, 85, 1576-1583.
27. Yarru, L.P., Settivari, R.S., Antoniou, E., Ledoux, D.R. & Rottinghaus, G.E. (2009). Toxicological and gene expression analysis of the impact of aflatoxin B1 on hepatic function of male chicks. *Poultry Science*, 88, 360-371.
28. Yoruk, M.A., Gul, M., Hayirli, A. & Macit, M. (2004). The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. *Poultry Science*, 83, 84-88.