نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۶، بهـــار ۱۳۹۹
ص‌ص: ۱۱۷~۱۲۸

تأثیر افزودن توکسین بایندر و پروبیوتیک در جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین بر عملکرد، غلظت آفلاتوکسین کبد و ماهیچه و جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی

- **سید بابک اسدی**
گروه علوم دامی،واحد اراک،دانشگاه آزاد اسلامی،اراک،ایران.
- **جعفر فخرائی** (نویسنده مسئول)
گروه علوم دامی،واحد اراک،دانشگاه آزاد اسلامی،اراک،ایران.
- **سید عبداله حسینی**
دانشیار پژوهشی،موسسه تحقیقات علوم دامی کشور،سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی،کرج،ایران
- **حسین منصوری یار احمدی**
گروه علوم دامی،واحد اراک،دانشگاه آزاد اسلامی،اراک،ایران.
- **علیرضا آقاشاهی**
دانشیار پژوهشی،موسسه تحقیقات علوم دامی کشور،سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی،کرج،ایران.

تاریخ دریافت : مهر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش : اسفند ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۸۳۶۰۷۱۵۷
Email: j_fakhraei@iau-arak.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2019.123557.1782

چکیده

هدف پژوهش حاضر، بررسی کارایی افزودن توکسین بایندرهای ®ASRI1 و ®ASRI2 و پروبیوتیک به جیره بر عملکرد، غلظت آفلاتوکسین کبد و ماهیچه و جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های آلوده شده با آفلاتوکسین بود. تعداد ۴۲۰ قطعه جوجه راس ۳۰۸ یک‌روزه در قالب طرح کاملا تصادفی به ۷ تیمار، ۵ تکرار و ۱۲ پرنده در هر تکرار اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره‌های غیرآلوده به آفلاتوکسین یا شاهد منفی، ۲) جیره‌های آلوده با آفلاتوکسین یا شاهد مثبت، ۳) جیره‌های شاهد مثبت حاوی توکسین بایندر ®ASRI1، ٤) جیره‌های شاهد مثبت حاوی توکسین بایندر®ASRI2، ٥) جیره‌های شاهد مثبت حاوی پروبیوتیک، ٦) جیره‌های شاهد مثبت حاوی پروبیوتیک و توکسین بایندر ®ASRI1 و ۷) جیره‌های شاهد مثبت حاوی پروبیوتیک و توکسین بایندر®ASRI2، بودند. عملکرد بصورت دوره‌ای، غلظت آفلاتوکسین کبد و ماهیچه در سنین ۲۸ و ٤۲ روزگی و جمعیت میکروبی روده در سن ٤۲ روزگی، ارزیابی شدند. نتایج نشان دادند که وزن بدن در دوره‌های رشد و پایانی در گروه شاهد منفی در مقایسه با شاهد مثبت بطور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر و ضریب تبدیل غذایی بطور معنی‌داری (P<۰/۰۵) پایین‌تر بود. جمعیت باکتری‌های مضر و غلظت آفلاتوکسین کبد و ماهیچه در گروه شاهد مثبت در مقایسه با شاهد منفی بطور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۱). با این حال، افزودن توکسین بایندرهای تجاری و پروبیوتیک به ویژه ترکیب هر دوی آنها اثرات آفلاتوکسین بر عملکرد، غلظت آفلاتوکسین کبد و ماهیچه و جمعیت میکروبی روده را به صورت معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش داد. نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن توکسین بایندرها و پروبیوتیک به جیره می‌تواند استراتژی کارایی برای تخفیف دادن اثرات منفی آفلاتوکسین در صنعت پرورش طیور باشد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین، پروبیوتیک، توکسین بایندر، جمعیت میکروبی، جوجه‌های گوشتی

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 126 pp: 117-128

Effect of Toxin Binder and Probiotic Addition in Diets contaminated to Aflatoxin on Performance, Aflatoxin Concentrations of Liver and Muscle and Intestinal Microbial Population of Broiler Chickens

By: Babak Asadi[1], Jafar Fakhraei*[1], Abdollah Hosseini[2], Hossein Mansoori Yarahamdi[1], Alireza Aghashahi[2]
[1]Department of Animal Science, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
[2]Animal Science Research Institute of Iran, Alborz, Iran

Received: October 2018 **Accepted: March 2019**

The aim of current research was to investigate the efficiency of dietary addition of ASRI1® and ASRI2® toxin binders and probiotic on performance, Aflatoxin concentrations of liver and muscle and intestinal microbial population of broiler chicks fed Aflatoxin-contaminated diets. A total of 420 one-day old Ross 308 broiler chicks were assigned in a completely randomized design to 7 treatments with 5 replications of 12 birds in each. The experimental treatments included 1) non Aflatoxin contaminated diets or negative control (NC), 2) Aflatoxin-contaminated diets or positive control (PC), 3) PC diets containing ASRI1® toxin binder, 4) PC diet containing ASRI2® toxin binder, 5) PC diet containing probiotic, 6) PC diet containing probiotic+ ASRI1® toxin binder and 7) PC diet containing probiotic+ ASRI2® toxin binder. Performance was evaluated in periodical, Aflatoxin concentrations of liver and muscle at 28 and 42 days of age and intestinal microbial population at 42 days. The results showed that body weight was significantly lower (P<0.05) and feed conversion ratio was significantly higher (P<0.05) in NC group when compared with PC group in grower and finisher periods. The harmful microbial population and Aflatoxin concentrations of liver and muscle were significantly higher (P<0.01) in PC group in comparison to NC group. However, the dietary addition of commercial toxin binders and probiotic especially their combination, significantly alleviated (P<0.05) Aflatoxin effects on performance, Aflatoxin concentrations of liver and muscle and intestinal microbial population. Results of this experiment showed that the dietary addition of toxin binders and probiotic could be an efficient strategy for alleviating the negative effects of Aflatoxin in poultry industry.

Key words: Aflatoxin, probiotic, toxin binder, microbial population, broilers.

مقدمه

بزرگترین چالش صنعت پرورش طیور، دسترسی به خوراک‌های با کیفیت بالا می‌باشد (Idahor و همکاران، ۲۰۱۳). اکوسیستم روده که نقطه هضم خوراک و همچنین دفاع میزبان می‌باشد، بطور ثابتی در معرض عوامل بیماری‌زا و آلودگی‌های ناشی از خوراک-های کم کیفیت قرار می‌گیرد (Agboola و همکاران، ۲۰۱۵). قارچ‌ها به شکل گسترده‌ای در محصولات کشاورزی ذخیره شده، یافت می‌شوند و برخی از آنها متابولیت‌های سمی مشهور به مایکوتوکسین‌ها را تولید می‌کنند (Abdallah و همکاران، ۲۰۱۵؛ Bhatti و همکاران، ۲۰۱۶). مایکوتوکسین‌ها، آلوده کننده‌های غیرقابل تحملی هستند که اثرات زیان‌آوری بر سلامت حیوانات و انسان دارند (Khan و همکاران، ۲۰۱۷). تاکنون بیش از ۵۰۰ نوع مایکوتوکسین شناخته شده است (Nemati و همکاران، ۲۰۱۵). مهم‌ترین آلوده کننده‌های خوراک طیور و اجزای آن شامل آفلاتوکسین، اکراتوکسین، فومونیسین و زرالنون می‌باشند (Saleemi و همکاران، ۲۰۱۷). خطرناک‌ترین و فراوان‌ترین مایکوتوسین، آفلاتوکسین B_1 است که توسط آسپرژیلوس فلیووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس، تولید می‌شود (Bayankaram and Sellamuthu, 2016). سلامتی و حتی عملکرد طیور توسط مصرف خوراک‌های آلوده به آفلاتوکسین، شدیدا آسیب می‌بیند (Khan و همکاران، ۲۰۱۷).

حضور آفلاتوکسین در سطوح زیاد منجر به سرکوب شدید ایمنی، تأخیر در رشد و حتی تلفات می‌شود (Bilal و همکاران، ۲۰۱۴؛ Marin and Taranu, 2015). همچنین نشان داده شده است که مصرف خوراک‌های آلوده به آفلاتوکسین ممکن است سبب آسیب‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی کبد گردد (Azizpour and Mogadam، ۲۰۱۵؛ Awad و همکاران، a, b ۲۰۰۶؛ Rezar و همکاران، ۲۰۰۷؛ Gowda و همکاران، ۲۰۰۸). برخی استراتژی‌ها برای باند یا جذب کردن و یا تجزیه توکسین‌ها به گونه‌ای که بتواند اثرات توکسین‌ها را تخفیف دهد، مورد آزمایش قرار گرفته‌اند با این حال، افزودن جاذب‌ها به جیره غذایی یکی از معمول‌ترین شیوه‌ها برای دستیابی به این هدف می‌باشد (Wang و همکاران، ۲۰۰۶). این جاذب‌ها شامل هیدرات سدیم کلسیم آلومینیوم سیلیکات، زئولیت، بنتونیت، زغال اخته، پروبیوتیک‌هایی همانند مخمر زنده و عصاره دیواره سلولی مخمر می‌باشند. کارایی باند شدن جاذب‌های مایکوتوکسینی موجود، برای مایکوتوکسین-های مختلف، متغیر گزارش شده است (Mogadam and Azizpour، ۲۰۱۱؛ Salem و همکاران، ۲۰۱۸).

مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که فرمولاسیون پروبیوتیک‌های جدید، از نظر عملکرد، بازدهی بهتری در مقایسه با آنتی-بیوتیک‌های محرک رشد دارد که این امر به واسطه فراهم آوردن شرایط امن برای میکروارگانیسم‌ها جهت عبور از قسمت فوقانی دستگاه گوارش است (Han و همکاران، ۲۰۱۳). نتایج دیگری هم از عدم سودمندی قطعی پروبیوتیک‌ها در آزمایش‌های تغذیه-ای مختلف، حکایت دارند (Heo و همکاران، ۲۰۱۲). عدم سودمندی قطعی اثرات پروبیوتیک‌ها در آزمایش‌های مختلف می‌تواند به علت‌های مختلفی باشد. نشان داده شده است که پروبیوتیک‌ها اثر مثبت خود بر عملکرد را از طریق حفظ تعادل پویای میکروبیوتا (جمعیت میکروبی) و فعالیت مثبت کولونی‌های باکتریایی، اعمال می‌نمایند. این اثرات سودمند، اختلالات هضمی را کاهش می‌دهند و منجر به استفاده بهینه از مواد مغذی می‌شوند و از این طریق به بهبود رشد کمک می‌نمایند (Mookiah و همکاران، ۲۰۱۴). با توجه به اثرات منفی آفلاتوکسین‌ها بر پرندگان و اثرات مثبت پروبیوتیک و توکسین بایندرها در تخفیف برخی اثرات و داشتن ویژگی‌های مثبت، هدف از این تحقیق، بررسی اثر توکسین بایندر و پروبیوتیک بر عملکرد، آفلاتوکسین کبد و ماهیچه و جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و شرایط آزمایشی

این آزمایش در سالن پرورش جوجه گوشتی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور به شیوه پرورش بر روی بستر، انجام شد. آب و خوراک به‌صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت و برنامه نوری به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی بود. حرارت سالن با استفاده از دماسنج‌های جیوه‌ای نصب شده در نقاط مختلف سالن، کنترل و تنظیم گردید. در این مطالعه، از پروبیوتیک پروتکسین® که حاوی سویه‌های لاکتوباسیلوس بود و همچنین از توکسین بایندرهای ®ASRI1 و ®ASRI2 ساخته شده توسط موسسه تحقیقات علوم دامی که حاوی دیواره سلولی مخمر ساکارومایسس سرویسیه بود، استفاده شد. این توکسین بایندرها حاوی دیواره سلولی مخمر و برخی از اجزای نگهدارنده در درصدهای مختلف بود. در این تحقیق، تعداد ۴۲۰ قطعه جوجه خروس یک روزه گوشتی سویه راس ۳۰۸ به ۷ تیمار، ۵ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار، اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره‌های غیرآلوده به آفلاتوکسین یا شاهد منفی، ۲) جیره‌های آلوده با آفلاتوکسین یا شاهد مثبت، ۳) تیمار شاهد مثبت+ توکسین بایندر ®ASRI1، ۴) تیمار شاهد مثبت+ توکسین بایندر ®ASRI1+ پروبیوتیک پروتکسین®، ۵) تیمار شاهد مثبت+ توکسین بایندر ®ASRI2، ۶) تیمار شاهد مثبت+ توکسین بایندر®ASRI2+ پروبیوتیک پروتکسین® و ۷) تیمار شاهد مثبت+ پروبیوتیک پروتکسین® بودند. جیره‌های پایه بر اساس احتیاجات مواد مغذی سویه راس ۳۰۸ (Ross catalogue, 2007) تنظیم و شرایط نگهداری و پرورش جوجه-ها در طول دوره آزمایش بر اساس توصیه‌های راهنمای پرورش

این سویه صورت گرفت. اجزای تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره‌های پایه در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی

اجزای جیره (درصد)/ دوره	آغازین (سن ۱۰-۰ روزگی)	رشد (سن ۲۴-۱۱ روزگی)	پایانی (سن ۴۲-۲۵ روزگی)
دانه ذرت	۵۱/۸۳	۵۸/۲۳	۶۲/۲۴
روغن گیاهی	۳/۵۳	۴/۲۶	۳/۲۲
کنجاله سویا	۳۸/۳۵	۲۹/۱۰	۳۹/۱۰
دی ال- متیونین	۰/۳۵	۰/۳۱	۰/۲۵
لیزین	۰/۲۵	۰/۱۵	۰/۱۴
ترئونین	۰/۱۰	۰/۰۰	۰/۱۴
سنگ آهک	۱/۸۰	۰/۹۷	۱/۴۳
پودر ماهی	۲/۱۱	۵/۰۰	۰/۰۰
نمک طعام	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۳۰
مکمل ویتامینی[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل مواد معدنی[2]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی کلسیم فسفات	۰/۹۰	۱/۲۳	۰/۹۰
ترکیب مواد مغذی محاسبه شده			
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۰۲۵/۰۰	۳۱۰۰/۰۰	۳۲۰۰/۰۰
پروتئین خام (٪)	۲۳/۱۲	۲۱/۳۰	۱۹/۳۰
لیزین (٪)	۱/۴۴	۱/۲۴	۱/۰۹
متیونین (٪)	۰/۵۱	۰/۴۵	۰/۴۱
متیونین+ سیستئین (٪)	۱/۰۷	۰/۹۵	۰/۸۶
کلسیم (٪)	۱/۰۵	۰/۹۰	۰/۸۵
فسفر در دسترس (٪)	۰/۵۰	۰/۴۵	۰/۴۲
سدیم (٪)	۰/۱۶	۰/۱۸	۰/۱۷
کلر (٪)	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۱۶

[1] هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی مورد استفاده حاوی ۷/۲ گرم ویتامین A، ۷ گرم ویتامین D، ۱۴/۴ گرم ویتامین E، ۱/۶ گرم ویتامین K_3، ۰/۷۲ گرم تیامین، ۳/۳ گرم ریبوفلاوین، ۱۲ گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲/۶ میلی‌گرم نیاسین، ۶/۲ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۰/۶ گرم کوبالامین، ۰/۲ گرم بیوتین و ۴۴۰ میلی‌گرم کولین کلراید، بود.

[2] هر کیلوگرم از مکمل معدنی مورد استفاده حاوی ۶۴ گرم منگنز (بصورت اکسید منگنز)، ۴۴ گرم روی (بصورت اکسید روی)، ۱۰۰ گرم آهن (بصورت سولفات آهن)، ۱۶ گرم مس (بصورت سولفات مس)، ۰/۶۴ گرم ید (بصورت یدات کلسیم)، ۰/۲ گرم کبالت و ۸ گرم سلنیم، بود.

تهیه سم آفلاتوکسین

تولید سم آفلاتوکسین از طریق کشت آسپرژیلوس پارازیتیکوس *PTCC-5286* بر روی دانه برنج انجام و بعد از گذشت حدود دو هفته از رشد قارچ، با استفاده از روش کروماتوگرافی بر روی لایه نازک و استاندارد آفلاتوکسین B_1 و روش پیشنهادی Shotwell و همکاران (۱۹۶۶) از وجود و سطح آفلاتوکسین تولیدی در محیط کشت، اطمینان حاصل شد. میزان محیط کشت بر اساس مقدار نیاز به آفلاتوکسین برای هفت تیمار آزمایشی و مقدار مصرف خوراک جوجه‌های تیمارهای مربوطه در طول دوره آزمایش، محاسبه گردید. در ادامه مقدار آفلاتوکسین جیره با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، تعیین و در صورتی که مقدار آن کم‌تر از ۱/۵ قسمت در میلیون بود، مقدار کمبود آفلاتوکسین که باید به جیره افزوده شود تا به حد ۱/۵ قسمت در میلیون برسد، محاسبه گردید. در مورد جیره شاهد منفی، مقدار کل آفلاتوکسین در آن برابر با حد مجاز توصیه شده توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (استاندارد ملی ایران، کد ۲۵۸۱) و به مقدار حداکثر ۲۰ قسمت در بیلیون خوراک (یا ۰/۰۲ قسمت در میلیون) در نظر گرفته شد.

عملکرد رشد

صفات عملکرد شامل میانگین وزن نهایی، میانگین خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی بصورت دوره‌ای، با استفاده از روابط موجود محاسبه شد. همچنین تعداد تلفات به همراه وزن پرنده تلف شده و روز تلف شدن پرنده، ثبت شد و بر این اساس تصحیحات لازم در تعیین میانگین اضافه وزن و خوراک مصرفی پرندگان و نهایتا ضریب تبدیل غذایی آنها انجام شد (Khan و همکاران، ۲۰۱۷).

شناسایی جمعیت باکتری‌های ایلئوم

ظرف‌های پلاستیکی مخصوص در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سترون شده و سپس در روز کشتار (سن ۴۲ روزگی)، محتویات ایلئوم بدون تماس با دست به داخل ظرف‌ها ریخته شدند. این ظروف حاوی محتویات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌ها برای رشد و شمارش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها و اشریشیا کلی مورد استفاده قرار گرفتند. برای این منظور، ابتدا محیط کشت مکانکی آگار در میزان مناسبی آب مقطر حل شده و پس از گرم شدن روی شعله در داخل اتوکلاو سترون و سپس در داخل پتری‌دیش‌ها ریخته شدند. نمک کلرید سدیم خالص نیز به مقدار معینی در آب مقطر حل شده و به میزان ۴/۵ میلی‌لیتر در هر لوله آزمایش کوچک درب‌دار ریخته شد. سپس ظروف حاوی محیط‌های کشت و لوله‌های آزمایش حاوی محلول نمکی به همراه نوک نمونه‌گیر به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد درون اتوکلاو سترون شدند. پس از خنک شدن مواد بالا، با نمونه‌گیر ۵۰۰ میکرولیتری از محتویات داخل لوله آزمایش اول که رقت ۰/۱ داشت نمونه برداری شده و در لوله دومی ریخته شد تا رقت ۰/۰۱ به دست آید. برای تعیین تعداد باکتری‌ها، مقدار یک میلی‌لیتر از هر لوله آزمایش برداشته و در کنار شعله با دقت در پتری دیش دارای محیط کشت پخش شدند. پتری دیش‌ها پس از آماده شدن، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شده و سپس کلونی‌های مربوطه شناسایی، شمارش و به صورت لگاریتمی گزارش شدند (Alzawqari و همکاران، ۲۰۱۳).

تعیین غلظت آفلاتوکسین در نمونه‌های ماهیچه و کبد

در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی، ۵ قطعه پرنده به طور تصادفی از هر تیمار انتخاب و از طریق بریدن سر، کشته شدند. نمونه‌هایی از بافت ماهیچه ران و کبد از پنج قطعه پرنده از هر تیمار گرفته و نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از روش پیشنهاد شده توسط AOAC (۲۰۰۴) از نظر بقایای آفلاتوکسین، بررسی شدند. سپس ۲۵ گرم از نمونه‌های بدون یخ، هموژنیزه و با ۵ گرم از سدیم کلرید در ۱۰۰ میلی لیتر از محلول اتانول: آب (۸۰ : ۲۰) به مدت سه دقیقه، مخلوط شدند. بعد از فیلتراسیون توسط کاغذ صافی، ۱۰ میلی لیتر از نمونه فیلتر شده با ۴۰ میلی لیتر از بافر PBS حاوی ۰/۱٪ از بافر شست و شوی توئین-۲۰ رقیق و از ستون ایمونوافینیتی عبور داده شد. آفلاتوکسین B_1 با ۱ میلی‌لیتر اتانول در یک ویال شیشه‌ای شسته و خشک شد. انجام عمل مشتق گیری با استفاده از تری فلورواستیک اسید انجام و ۲۰ میکرولیتر از نمونه مشتق شده به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به ستون فاز معکوس و دتکتور فلوروسنتی در ۳۶۰ نانومتری و طول موج ۴۴۰ نانومتری ممانعتی، تزریق شد. فاز متحرک از آب، استونیتریل و متانول در نسبتهای ۶۰، ۲۰، ۲۰ تشکیل شد. محدوده تشخیص ۰/۰۲۵ نانوگرم و نرخ بازیابی، ۸۵٪ بود.

تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۷ تیمار و ۵ تکرار انجام شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار اکسل مرتب شدند و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۲ (SAS, 2001) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۰/۰۵ انجام شد. مدل آماری طرح به صورت زیر بود.

$$X_{ij}=\mu+\delta_i+\varepsilon_{ij}$$

X_{ij}= مقدار عددی هر مشاهده (داده) در آزمایش

μ = میانگین کل

δ_i = اثر تیمار آزمایشی

ε_{ij}= اثر خطای آزمایش

نتایج و بحث

عملکرد

همانگونه که نتایج جدول ۲ نشان می‌دهند، در دوره آغازین، استفاده از توکسین بایندرها بر عملکرد جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری نداشت. همچنین در دیگر دوره ها نیز مقدار خوراک مصرفی تحت تأثیر افزودن توکسین بایندرها قرار نگرفت. در دوره‌های رشد و پایانی، آفلاتوکسین اثرات منفی بر وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی داشت ولی افزودن توکسین بایندرها توانست اثرات منفی آفلاتوکسین را تخفیف دهد ($P<0/05$). بهترین پاسخ در گروه‌های مصرف کننده توکسین بایندرهای ®ASRI1 و ®ASRI2 به همراه پروبیوتیک دیده شد. نشان داده شده است که سلامت و حتی عملکرد طیور توسط مصرف خوراک‌های آلوده به آفلاتوکسین، شدیدا آسیب دیده است (Khan و همکاران، ۲۰۱۷). در آزمایشی بر روی جوجه های گوشتی، آفلاتوکسین B_1 موجب کاهش وزن بدن و آسیب به کلیه‌ها به شد (Naseem و همکاران، ۲۰۱۸). گزارش شده است که حضور آفلاتوکسین در سطوح زیاد، منجر به تأخیر در رشد و حتی تلفات می‌گردد (Bilal و همکاران، ۲۰۱۴؛ Marin and Taranu, 2015). آفلاتوکسین‌ها از طریق تأثیر بر سوخت و ساز و کاهش سنتز پروتئین و افزایش لیپولیز، سبب کاهش رشد می‌گردند که در این مطالعه نیز مشاهده شد.

جدول ۲- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورش

تیمارها/ صفت	خوراک مصرفی			وزن بدن			ضریب تبدیل غذایی		
	آغازین	رشد	پایانی	آغازین	رشد	پایانی	آغازین	رشد	پایانی
شاهد منفی	۲۵۲/۰۰	۱۰۸۰/۰۰	۲۵۰۰/۰۰	۲۵۸/۰۰	۵۶۵/۰۰ a	۱۳۹۳/۰۰ a	۰/۹۷۳	۱/۹۵ c	۱/۸۳ c
شاهد مثبت	۲۵۲/۰۰	۱۰۶۰/۰۰	۲۵۸۰/۰۰	۲۶۶/۰۰	۴۸۱/۰۰ d	۱۲۵۶/۰۰ d	۰/۹۵۶	۲/۲۲ a	۲/۱۰ a
تیمار شاهد مثبت + پروبیوتیک	۲۵۸/۰۰	۱۰۸۵/۰۰	۲۵۸۵/۰۰	۲۵۲/۰۰	۵۲۰/۰۰ c	۱۲۹۲/۰۰ c	۱/۰۴	۲/۱۰ b	۲/۰۰ a
شاهد مثبت + توکسین بایندر ASRI1®	۴۴۲/۰۰	۱۰۷۷/۰۰	۲۵۸۸/۰۰	۲۵۰/۰۰	۵۱۷/۰۰ c	۱۲۹۵/۰۰ c	۰/۹۸۱	۲/۱۱ b	۲/۰۱ a
شاهد مثبت + توکسین بایندر ASRI2®	۲۴۰/۰۰	۱۰۸۲/۰۰	۲۵۴۲/۰۰	۲۴۹/۰۰	۵۱۸/۰۰ c	۱۲۹۸/۰۰ c	۰/۹۶۴	۲/۱۰ b	۱/۹۹ a
شاهد مثبت + توکسین بایندر ASRI1® + پروبیوتیک	۲۴۳/۰۰	۱۰۵۲/۰۰	۲۵۰۷/۰۰	۲۵۹/۰۰	۵۴۰/۰۰ b	۱۳۲۵/۰۰ b	۰/۹۴۶	۱/۹۹ c	۱/۹۱۰ b
شاهد مثبت + توکسین بایندر ASRI2®+ پروبیوتیک	۲۵۸/۰۰	۱۰۹۹/۰۰	۲۵۸۴/۰۰	۲۵۲/۰۰	۵۴۸/۰۰ b	۱۳۳۵/۰۰ b	۱/۰۵	۲/۰۱ c	۱/۹۳ b
سطح احتمال معنی داری	۰/۵۶۱	۰/۴۲۱	۰/۶۰۱	۰/۵۴۲	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	۰/۰۷۱	۰/۰۲۳	۰/۰۳۲
خطای استاندارد میانگین‌ها	۴/۶۱	۷/۱۰	۲۰/۳۰	۴/۲۰	۱۵/۱۰	۲۲/۱۲	۰/۲۰	۰/۰۴	۰/۰۵

a-d در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P≤۰/۰۵).

در این مطالعه، پروبیوتیک نتوانست تأثیر مثبتی بر خوراک مصرفی نشان دهد. پروبیوتیک‌ها در صنعت پرورش طیور به عنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک‌ها توجه زیادی را به خود جلب نموده‌اند. برخی محصولات پروبیوتیکی به شکل گسترده‌ای در صنعت پرورش طیور بدلیل ظرفیت اسپورزایی استفاده می‌شوند (Griggs and Jacob, 2015). گزارش شده است که افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، مصرف خوراک را بطور معنی‌داری افزایش داد (Bai و همکاران، ۲۰۱۶). مغایر با نتایج این تحقیق، دیگر مطالعات نشان داده‌اند که افزودن پروبیوتیک به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی بر مصرف خوراک تأثیر معنی‌داری داشت (Lee و همکاران، ۲۰۱۰). اختلاف بین نتایج این تحقیق و سایر پژوهش‌ها می‌تواند به دلیل اختلاف از نظر سویه‌های پروبیوتیکی مورد استفاده، مقدار مصرف پروبیوتیک، سن پرنده، ساختار جیره و وضعیت سلامت و بهداشت گله باشد (Lee و همکاران، ۲۰۱۰؛ Zhang و همکاران، ۲۰۱۳). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که افزودن پروبیوتیک‌هایی از سویه‌های مختلف به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، وزن بدن را به شکل معنی‌داری افزایش داد (Bai و همکاران، ۲۰۱۶؛ Zhang و همکاران، ۲۰۱۶). تحقیقات دیگر نشان داده‌اند که افزودن پروبیوتیک‌های مختلف به جیره، تأثیر معنی‌داری بر وزن بدن نداشته است (Lee و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات انجام شده، همبستگی مثبتی را بین مصرف خوراک و افزایش وزن بدن، گزارش کرده‌اند به گونه‌ای که حیوانات دارای مصرف خوراک بالاتر، افزایش وزن بیشتری داشتند (Attia، ۲۰۰۳). با این حال در

مطالعه حاضر چنین نتیجه‌ای یافت نشد که ممکن است به این دلیل باشد که افزایش مصرف خوراک در حدی نبوده است که وزن بدن را افزایش دهد.

در تحقیقی که به منظور بررسی اثرات مخمر نانوایی (ساکارومایسس سرویسیه)، کوله تتراسایکلین و استفاده توأم از این دو ماده در جیره حاوی ۲۰۰ نانو گرم آفلاتوکسین B_1 به ازای هر گرم جیره بر عملکرد جوجه‌های گوشتی صورت گرفت، مصرف خوراک و افزایش وزن بدن به طور معنی‌داری در گروه شاهد (جیره حاوی آفلاتوکسین B_1 و فاقد مخمر و آنتی بیوتیک) کاهش یافت. نتایج آزمایش حاکی از آن بود که در گروه شاهد، کبدها بزرگ و زرد رنگ بودند. بازده مصرف خوراک در گروه دریافت کننده آفلاتوکسین B_1 به اضافه کوله تتراسایکلین نسبت به دیگر گروه‌ها، بهتر بود. یافته‌های حاصل بیانگر این بود که استفاده از ۲ درصد مخمر نانوایی تا حدودی می‌تواند اثرات سمی آفلاتوکسین B_1 را تعدیل نماید (Kemal و همکاران، ۲۰۰۳).

در این مطالعه، مقدار مصرف خوراک توسط افزودن پروبیوتیک به جیره تحت تأثیر قرار نگرفت و مسلما افزایش وزن نیز نباید تحت تاثیر قرار گیرد ولی چنین پدیده‌ای مشاهده نشد. نشان داده شده است که پروبیوتیک‌ها اثر مثبت خود بر عملکرد را از طریق حفظ تعادل پویای میکروبیوتا (جمعیت میکروبی) و فعالیت مثبت کولونی‌های باکتریایی، اعمال می نمایند. این اثرات سودمند، اختلالات هضمی را کاهش می‌دهند و منجر به استفاده بهینه از مواد مغذی می‌شوند و از این طریق به بهبود رشد کمک می‌نمایند (Mookiah و همکاران، ۲۰۱۴). به هرحال، توکسین بایندرهای ®ASRI1 و ®ASRI2 توانستند اثرات مثبتی را نشان دهند که علت آن ممکن است از طریق ساز و کارهایی مشابه باشد. نشان داده شده است که افزودن هیدرات سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات به جیره، آسیب‌های کبدی را در گروه‌های تیمار شده با آفلاتوکسین بطور معنی‌داری کاهش داد (Gowda و همکاران، ۲۰۰۸).

مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که افزودن پروبیوتیک از سویه‌های مختلف، ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی را در مقایسه با گروه شاهد، کاهش داد (Zhang و همکاران، ۲۰۱۳؛ Bai و همکاران، ۲۰۱۶). در تضاد با نتایج این تحقیق، دیگر مطالعات نشان داده‌اند که افزودن پروبیوتیک به جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشت (Lee و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات نشان داده‌اند که بهبود ضریب تبدیل غذایی توسط افزودن پروبیوتیک به جیره، به علت تعادل در جمعیت میکروبی روده، کاهش جمعیت میکروب‌های مضر و افزایش قابلیت هضم مواد مغذی می‌باشد (Mookiah و همکاران، ۲۰۱۴). احتمالا توکسین بایندرها تأثیر بیشتری بر قابلیت هضم خوراک مصرفی دارند که در این تحقیق مورد اندازه‌گیری قرار نگرفته است و درک علت این عدم تأثیر، نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. این اختلاف ممکن است به این دلیل باشد که پروبیوتیک‌ها و احتمالا دیگر توکسین بایندرها، کارایی خود را بیشتر در شرایط تنش مانند آلودگی با آفلاتوکسین، نشان می‌دهند (Bai و همکاران، ۲۰۱۶).

جمعیت میکروبی ایلئوم

نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان می‌دهند که آفلاتوکسین، جمعیت لاکتوباسیلوس موجود در روده را به شکل معنی‌داری کاهش و جمعیت اشریشیا کولی را بطور معنی‌داری افزایش داد ولی افزودن پروبیوتیک توانست جمعیت باکتری‌های مفید را به صورت معنی‌داری افزایش دهد و از جمعیت باکتری‌های مضر بکاهد. استفاده از توکسین بایندرها بر جمعیت میکروبی روده تاثیر معنی‌داری نداشت.

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی

تیمارها	لاکتوباسیلوس	اشریشیا کولی
شاهد منفی	۱۴/۱۰[a]	۶/۵۰[c]
شاهد مثبت	۸/۱۵[c]	۹/۳۳[a]
تیمار شاهد مثبت + پروبیوتیک	۱۰/۱۵[b]	۷/۰۰[b]
شاهد مثبت + توکسین بایندر ®ASRI1	۸/۱۰[c]	۸/۶۶[a]
شاهد مثبت + توکسین بایندر®ASRI2	۸/۰۷[c]	۸/۱۶[a]
شاهد مثبت + توکسین بایندر ®ASRI1 + پروبیوتیک	۱۱/۱۰[b]	۷/۱۰[b]
شاهد مثبت + توکسین بایندر®ASRI2+ پروبیوتیک	۱۱/۰۲[b]	۷/۱۰[b]
سطح احتمال معنی داری	۰/۰۴۰	۰/۰۱
خطای استاندارد میانگین‌ها	۰/۱۰	۰/۲۶

[a-c] در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P\leq ۰/۰۵$).

در طیور، عدم وجود جمعیت میکروبی نرمال یا طبیعی در روده‌های کور به عنوان مهمترین عامل مستعد بودن جوجه‌ها به عفونت‌های باکتریایی، در نظر گرفته می‌شود. باکتریوسین‌ها (ترکیبات کشنده باکتری‌ها)، پپتیدهای ضد میکروبی هستند که به منظور کنترل و یا کشتن سایر باکتری‌های مرتبط یا غیرمرتبط، تولید می‌شوند و فعالیت آنها به طیف‌های مختلفی از گونه‌های باکتریایی، مربوط می‌شود. جمعیت میکروبی روده در بسیاری از مسیرهای سوخت و ساز، شرکت می‌کند. این آنزیم‌ها برای تغذیه جوجه مهم هستند. از آنجایی که پرندگان نمی‌توانند از فیبر، سلولز، پکتین و ترکیبات پلی‌ساکاریدی غیرنشاسته‌ای استفاده کنند، غلات دارای مقادیر بالای پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای، ویسکوزیته محتویات روده را افزایش می‌دهند و سبب افزایش جمعیت باکتری‌های مضر در روده می‌شوند (Beski and AL-Zarghi ؛Sardary, 2015 و همکاران، ۲۰۱۲). در مطالعه‌ای، استفاده از محلوطی از سویه‌های باکتریایی بعنوان پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی، جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترها را بطور معنی‌داری افزایش و جمعیت اشریشیا کولی را کاهش داد. در توجیه این یافته‌ها بیان شده است که کاهش pH روده در اثر تولید اسیدهای چرب غیرفرار و فرار باعث می شود که جمعیت باکتری‌های مضر بطور معنی‌داری کاهش یابد و باکتری‌های سودمند با آنها رقابت نمایند (Mookiah و همکاران، ۲۰۱۴). جمعیت میکروبی روده می‌تواند برای این مشکل، یک راه حل داشته باشد. با توجه به مطالب فوق الذکر، هدف نهایی از تخمیر باکتریایی کربوهیدات‌ها، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است که خود عامل محدود کننده‌ای برای جمعیت میکروبی بیماری‌زا و از طرفی منبع بزرگی از مواد مغذی و انرژی برای حیوان میزبان است. بر طبق مطالعات انجام شده، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر برای حیوان میزبان، ضروری هستند. برای مثال اسید بوتیریک مهمترین منبع انرژی برای سلول‌های کولون است و رشد این سلول‌ها را تحریک و باعث تکثیر و تمایز آنها می‌شود و برای نمو پرزهای روده بسیار ضروری است (Panda و همکاران، ۲۰۰۹). تغییر محیط روده باعث افزایش جمعیت باکتری‌های سودمند می‌شود که از این طریق جذب مواد مغذی افزایش می‌یابد و بر رشد تأثیر می‌گذارد. با این حال در این تحقیق، pH روده تنها توسط گروه‌های پروبیوتیکی تحت تأثیر قرار گرفت و اثرات متقابل سه گانه مشاهده نشد که می‌توان استدلال نمود که تولید اسیدهای چرب همراه با تغییرات pH می‌تواند اثر خود را بر جمعیت باکتریایی اعمال نماید.

غلظت آفلاتوکسین کبد و ماهیچه

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت آفلاتوکسین در ماهیچه و کبد جوجه‌های گوشتی تیمار شده با آفلاتوکسین، در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی در جدول ۴ نشان داده شده است. همانگونه که نتایج نشان می‌دهند، مصرف جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین بطور معنی‌داری باعث افزایش بقایای آفلاتوکسین در کبد و ماهیچه در سنین ۲۸ و ۴۲ روزگی شد ولی افزودن توکسین بایندر و پروبیوتیک به جیره، سطوح بقایای آفلاتوکسین را بطور معنی‌داری کاهش داد. همچنین نتایج نشان دادند که با افزایش سن، سطوح بقایای آفلاتوکسین در کبد و ماهیچه افزایش می‌یابند.

این یافته‌ها با نتایج مطالعات قبلی مبنی بر این که افزودن آفلاتوکسین به جیره بطور معنی‌داری باعث افزایش بقایای آفلاتوکسین در بافت کبدی جوجه‌های گوشتی شد (Hussain و همکاران، ۲۰۱۰)، مطابقت دارند اما در مطالعه حاضر، افزودن توکسین بایندرها و پروبیوتیک بطور معنی‌داری سطح بقایای آفلاتوکسین را کاهش داد. ممکن است که این افزودنی‌ها در روده با آفلاتوکسین باند شده و از این طریق تا حد زیادی سطوح آفلاتوکسین را کاهش دهند و در نتیجه باعث کاهش غلظت آفلاتوکسین در کبد و ماهیچه شوند. اثبات این ساز و کار نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد. همچنین پروبیوتیک‌ها ممکن است که از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی، به محافظت از کبد کمک نمایند.

جدول ٤- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت آفلاتوکسین در ماهیچه و کبد (نانوگرم/گرم) جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین در سنین ۲۸ و ٤۲ روزگی

تیمار/ صفت	آفلاتوکسین ماهیچه (سن ۲۸ روزگی)	آفلاتوکسین ماهیچه (سن ۴۲ روزگی)	آفلاتوکسین کبد (سن ۲۸ روزگی)	آفلاتوکسین کبد (سن ۴۲ روزگی)
شاهد منفی	شناسایی نشد	شناسایی نشد	شناسایی نشد	شناسایی نشد
شاهد مثبت	۰/۳۰[a]	۰/۳۱[a]	۲/۸۵[a]	۲/۹۳[a]
تیمار شاهد مثبت + پروبیوتیک	۰/۲۵[b]	۰/۲۶[b]	۲/۳۵[b]	۲/۴۰[b]
شاهد مثبت + توکسین بایندر ®ASRI1	۰/۲۴[b]	۰/۲۴[b]	۲/۳۰[b]	۲/۳۶[b]
شاهد مثبت + توکسین بایندر ®ASRI2	۰/۲۳[b]	۰/۲۴[b]	۲/۲۷[b]	۲/۲۶[b]
شاهد مثبت + توکسین بایندر ®ASRI1 + پروبیوتیک	۰/۱۷[c]	۰/۱۸[c]	۱/۷۰[c]	۱/۸۰[c]
شاهد مثبت + توکسین بایندر®ASRI2+ پروبیوتیک	۰/۱۶[c]	۰/۱۸[c]	۱/۷۲[c]	۱/۶۰[c]
سطح احتمال معنی داری	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
خطای استاندارد میانگین‌ها	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۲۰	۰/۳۶

[a-c] در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند (P≤۰/۰۵).

نتیجه‌گیری

در مجموع، بر اساس نتایج بدست آمده، وزن بدن در دوره‌های رشد و پایانی در گروه شاهد منفی در مقایسه با شاهد مثبت به طور معنی‌داری بیشتر و ضریب تبدیل خوراک بطور معنی‌داری پایین‌تر بود. جمعیت باکتری‌های مضر و غلظت آفلاتوکسین کبد و ماهیچه در گروه شاهد مثبت در مقایسه با شاهد منفی بیشتر بود. افزودن توکسین بایندرهای تجاری و پروبیوتیک به ویژه ترکیب هر دوی آنها توانست اثرات آفلاتوکسین بر عملکرد، غلظت آفلاتوکسین کبد و ماهیچه و جمعیت میکروبی روده را به طور معنی‌داری کاهش دهد. بنابراین به نظر می‌رسد که افزودن توکسین بایندرها و پروبیوتیک به جیره می‌تواند استراتژی کارایی

برای تخفیف دادن اثرات منفی آفلاتوکسین در صنعت پرورش طیور باشد.

منابع

Abdallah, M.F., Girgin, G. and Baydar, T. (2015). Occurrence, prevention and limitation of mycotoxins in feeds. *Animal Nutrition and Feed Technology*. 15: 471-490.

Agboola, A.F., Omidiwura, B.R.O., Odu, O., Odupitan, F.T. and Iyayi, E.A. (2015). Effect of probiotic and toxin binder on performance, intestinal microbiota and gut morphology in broiler chickens. *Journal of Animal Science Advances*. 5: 1369-1379.

Alzawqari, M., Kermanshahi, H., Nassiri Moghaddam, H., Tawassoli, M.H. and Gilani, A. (2013). Alteration of gut microflora through citric acid treated drinking water in preslaughter male broilers. *African Journal of Microbiology Research*. 7: 564-567.

AOAC. (2004). Official Methods of Analysis. 18th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Attia, Y.A. (2003). Responses of growth performance, carcass characteristics, meat quality and plasma constituents of male Campbell ducks to dietary levels of methionine and phytase, and their interaction. *Egyptian Poultry Science Journal*. 23: 557-580.

Awad, W.A., Böhm, J., Razzazi-Fazeli, E., Faukal, K. and Zentek, J. (2006a). Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. *Poultry Science*. 85: 974-979.

Awad, W.A., Böhm, J., Razzazi-Fazeli, E. and Zentek, J. (2006b). Effects of feeding deoxynivalenol contaminated wheat on growth performance, organ weights and histological parameters of the intestine of broiler chickens. *Journal of Animal Nutrition and Animal Physiology*. 90: 32-37.

Azizpour, A., and Moghadam, N. (2015). Effects of Yeast Glucomannan and Sodium Bentonite on the Toxicity of Aflatoxin in Broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 17:7-13.Bai, K., Huang, Q., Zhang, J., He, J., Zhang, L. and Wang, T. (2016). Supplemental effects of probiotic *Bacillus subtilis* fmbJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*. 0: 1-9.

Bayankaram, P.P. and Sellamuthu, P.S. (2016). Antifungal and antiaflatoxigenic effect of probiotics against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Toxin Review*. 35: 10-15.

Beski, S.S.M. and AL-Sardary, S.Y.T. (2015). Effects of dietary supplementation of probiotic and symbiotic on broiler chickens hematology and intestinal integrity. *International Journal of Poultry Science*, 14: 31-36.

Bhatti, S.A., Khan, M.Z., Saleemi, M.K. and Saqib, M. (2016). Aflatoxicosis and ochratoxicosis in broiler chicks and their amelioration with locally available bentonite clay. *Pakistan Veterinary Journal*. 36: 68-72.

Bilal, T., Aksakal, D.H., Sunnetci, S., Keser, O. and Eseceli, H. (2014). Detection of aflatoxin, Zearalenone and deoxynivalenol in some feed and feedstuffs in Turkey. *Pakistan Veterinary Journal*. 34: 459-463.

Celyk, K., Denly, M. and Savas, T. (2003). Reduction of toxic effects of Aflatoxin B_1 by using baker yeast (*Sacharomyces cerevisiae*) in growing broiler chicken diets. *Revista Brasileira Zootecnia*. 32: 615-619.

Gowda, N.K.S., Ledoux, D.R., Rottinghaus, G.E., Bermudez, A.J. and Chen, Y.C. (2008). Efficacy of turmeric (*Curcuma longa*), containing a known level of curcumin, and a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of Aflatoxin in broiler chicks. *Poultry Science*. 87: 1125-1130.

Griggs, J.P. and Jacob, J.P. (2015). Alternatives to antibiotics for organic poultry production. *Journal of Applied Poultry Research*. 14: 750-756.

Han, W., Zhang, X.L., Wang, D.W., Li, L.Y., Liu, G.L and Zhao, Y.X. (2013). Effects of microencapsulated *Enterococcus faecalis* CG1.0007 on growth performance, antioxidation activity, and intestinal microbiota in broiler chickens. *Journal of Animal Science*. 91: 4374-4382.

Heo, J.M., Opapeju, F.O., Pluske, J.R., Kim, J.C., Hampson, D.J. and Nyachoti, C.M. (2012). Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhea without using in-feed antimicrobial compounds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 97: 207-237.

Hussain, Z., Zargham Khan, M., Khan, A., Javed, I., Saleemi, M., Mahmood, S. *et al*. (2010). Residues of Aflatoxin B_1 in broiler meat: Effect of age and dietary Aflatoxin B_1 levels. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 3304-3307.

Idahore, K.O. (2013). Alternative feedstuffs utilisation in Nigerian poultry industry: potentials, problems and prospects. *Worlds Poultry Science Journal*. 69: 666-675.

Khan, A., Aalim, M.M., Khan, M.Z., Saleemi, M.K., He, C., Khatoon, A., *et al*. (2017). Amelioration of immunosuppressive effects of Aflatoxin and Ochratoxin A in white Leghorn layers with distillery yeast sludge. *Toxin Review*. 1: 1-7.

Lee, K., Lillehoj, H.S. and Siragusa, G.R. (2010). Direct-Fed microbials and their impact on the intestinal microflora and immune system of chickens. *Japanese Poultry Science*. 47: 106-114.

Marin, D.E. and Taranu, I. (2015). Ochratoxin A and its effects on immunity. *Toxin Review*. 34: 11-20.

Mogadam, N. and Azizpour, A. (2011). Ameliorative effect of glucomannan-containing yeast product (Mycosorb®) and sodium bentonite on performance and antibody titers against Newcastle disease in broilers during chronic aflatoxicosis. African Journal of Biotechnology. 10: 17372-17378.Mookiah, S., Sieo, C.C., Ramasamy, K., Abdullah, N. and Ho, Y.W. (2014). Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of Science, Food and Agriculture*. 94: 341-348.

Nemati, Z., Karimi, A. and Besharati, M. (2015). Effects of Aflatoxin B_1 and yeast cell wall supplementation on the growth performance of broilers. International Conference on Innovations in Chemical and Agricultural Engineering (ICICAE'2015); 2015 Feb 8-9; Kuala.

Naseem, M.N., Saleemi, M.K., Khan, A., Khatoon, A., Gul, S.T., Rizvi, F., Ahmad, I., and Fayyaz, A. (2018). Pathological effects of concurrent administration of aflatoxin B_1 and fowl adenovirus-4 in broiler chicks. Microbial Pathogenesis. 121:147-154.

Panda, A.K., Rama Rao, S.V., Raju, M.V. and Shyam Sunder, G. (2009). Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 22: 1026-1031.

Rezar, V., Frankič, T., Narat, M., Levart, A. and Salobir, J. (2007). Dose-dependent effects of T-2 toxin on performance, lipid peroxidation, and genotoxicity in broiler chickens. *Poultry Science*. 86:1155-1160.

Ross Broiler Management Manual. (2007). Ross 308 Broiler: Nutrition Specification. Aviagen, UK.

Saleemi, M.K., Khan, M.Z. and Khan, A. (2017). Study of fungi and their toxigenic potential isolated from wheat and wheat bran. *Toxin Review*. 36: 80-88.

Salem, R., El-Habashi, N., Fadl, S.E., Sakr, O.A. and Elbialy, Z.I. (2018). Effect of probiotic supplement on aflatoxicosis and gene expression in the liver of broiler chicken. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 60: 118-127.

SAS. (2001). SAS User's Guide: Statistics. Version 9.2, SAS Institute Inc., NC., USA.

Shotwell, O.L., Hesseltine, C.W., Stubblefield, R.D. and Sorenson, G.W. (1966). Production of Aflatoxin on rice. *Applied Microbiology*. 14: 425-428.

Wang, R.J., Fui, S.X., Miao, C.H. and Feng, D.Y. (2006). Effects of different mycotoxin adsorbents on performance, meat characteristics and blood profiles of avian broilers fed mold contaminated corn. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 19: 72-79.

Zarghi, H., Golian, A., Kermanshahi, H., Raji, A.R. and Heravi, A. (2012). The effect of dietary levels of triticale and enzyme supplementation on performance, gut morphology and blood chemistry of very young broiler chicks. *Iranian Journal of Animal Science Research*. 3: 324-334.

Zhang, C., Li, F.Y., Liu, W.H., Zou, L., Yan, C. and Lu, K. (2013). T_4-Like Phage Bp_7, a potential antimicrobial agent for controlling drug-resistant *Escherichia coli* in chickens. *Applied Environmental Microbiology*. 79: 5559-5565.

Zhang, L., Zhang, L., Zhan, X., Zeng, X., Zhou, L., Cao, G. *et al*. (2016). Effects of dietary supplementation of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 7: 10-25.