تحقیقات تولیدات دامی

سال هفتم/شماره اول/بهار ۱۳۹۷ (۶۶-۵۳)

Animal Production Research

اثر پودر دانه گیاه خارمریم (*Silibum marianum*) و گیاه آویشن (*Thymus Vulgaris*) و ترکیب آن‌ها روی برخی خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های خونی و پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین B1

حمید راعی[1*]، رامین نجفی قراجه[2]، محمد امیر کریمی ترشیزی[3]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- دانشیار گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۰۷)

چکیده

به منظور بررسی اثرات پودر گیاهان خارمریم و آویشن روی برخی خصوصیات لاشه، فراسنجه‌های خونی و پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 (۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) طی ۱ تا ۲۱ روزگی، ۲۰۰ قطعه جوجه نر گوشتی راس ۳۰۸ در پنج تیمار و چهار تکرار (۱۰ قطعه به‌ازای هر تکرار) در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد آزمایش قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره شاهد (بدون آلودگی، شاهد منفی)، ۲) جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 (شاهد مثبت)، ۳) شاهد مثبت + ۱ درصد دانه گیاه خارمریم، ۴) شاهد مثبت + ۱ درصد گیاه آویشن، ۵) شاهد مثبت + ۱ درصد دانه گیاه خارمریم + ۱ درصد گیاه آویشن بودند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین B1 به‌تنهایی وزن کبد بالاتری در مقایسه با تیمارهای ۱ و ۳ داشتند و مکمل‌سازی جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 با دانه گیاه خارمریم سبب کاهش اثرات آفلاتوکسین B1 بر وزن کبد شد ($P<۰/۰۵$). پایین‌ترین سطح گلوکز خون در پرندگان گروه شاهد مثبت مشاهده شد ($P<۰/۰۱$). افزودن گیاهان خارمریم، آویشن و یا مخلوط این دو به جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین B1 سبب کاهش معنی‌دار غلظت آلانین آمینو ترانسفراز در مقایسه با گروه شاهد مثبت شد ($P<۰/۰۱$). بالاترین سطح آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز در گروه شاهد مثبت مشاهده شد و مکمل‌سازی جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 با دانه گیاه خارمریم باعث بهبود در سطح این پارامتر شد ($P<۰/۰۱$). سطح آنتی‌بادی کل به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت، در حالی‌که مکمل‌سازی جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 با گیاهان خارمریم، ترکیب خارمریم و آویشن به‌طور معنی‌داری سبب افزایش معنی‌دار پاسخ آزمون تکثیر لنفوسیتی و انفجار تنفسی شد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین B1، آویشن، جوجه گوشتی، خارمریم

* نویسندهٔ مسئول: hamidraei1368@yahoo.com

مقدمه

آفلاتوکسین‌ها از جمله مهمترین مایکوتوکسین‌ها هستند که به‌طور عمده به وسیله دو سویه قارچ آسپرژیلوس به نام‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* تولید می‌شوند (Applegate *et al*., 2009). آفلاتوکسین‌ها قادر به آلوده کردن انواع مختلف محصولات گیاهی مانند ذرت، گندم، بادام زمینی و همچنین غذای انسانی مانند شیر هستند (Yu Fan *et al*., 2015). سمیت آفلاتوکسین در طیور به‌طور وسیعی مورد بررسی قرار گرفته است. آفلاتوکسین‌ها می‌توانند تغییرات مهم ماکروسکوپی و میکروسکوپی در ارگان‌هایی نظیر کبد، طحال و کلیه (دومین اندام هدف در مایکوتوکسیکوزیس) ایجاد کنند (Magnoli *et al*., 2012). علاوه بر این، کم‌خونی، عملکرد پایین سیستم ایمنی، هپاتوتوکسیکوزیس، خونریزی، ناقص الخلقه‌زایی، سرطان‌زایی و جهش‌زایی همراه با آفلاتوکسیکوزیس از علائم مسمومیت آفلاتوکسین‌ها هستند (Oguz, 2012).

بسیاری از پیشنهادات به منظور مقابله با مایکوتوکسین‌ها با استفاده از روش‌های فیزیکی، شیمیایی، تغذیه‌ای و زیستی ارائه شده است (Manafi *et al*., 2009). با توجه به این‌که روش‌های فیزیکی و شیمیایی برای حذف آفلاتوکسین‌ها از منابع اولیه غذایی یا غذاهای آماده در تمام موارد موثر نیستند و حتی گاهی اوقات اثرات نامطلوبی نیز بر ارزش تغذیه‌ای منابع غذایی به‌جای می‌گذارند، لذا تحقیقات و بررسی‌هایی به منظور تعیین امکان استفاده از برخی گیاهان دارویی برای کاهش آفلاتوکسین‌ها و حذف آن‌ها از منابع غذایی و غذاهای آلوده صورت گرفته است و تحقیقات گسترده نشان می‌دهد برخی گیاهان و یا متابولیت‌های فعال آن‌ها در بازدارندگی از رشد قارچ و ممانعت از سنتز آفلاتوکسین در سویه‌های تولید کننده سم موثر هستند (گران و همکاران، ۱۳۹۴). گیاهانی مانند خارمریم، رزماری و آویشن از جمله مواردی هستند که می‌توانند به مایکوتوکسین‌ها اتصال یابند و از جذب آن‌ها به وسیله دستگاه گوارش و یا ساخت متابولیت‌های آن در بدن حیوان جلوگیری کنند (Huwing *et al*., 2001).

گیاه خارمریم از تیره کاسنی با نام علمی *Silibum marianum* و با نام انگلیسی Milk Thistle گیاهی خودرو بوده که در کنار جاده‌های متروک اراضی بایر در مناطق جنوب و شمال غرب ایران یافت می‌شود (زرگری، ۱۳۷۵). در بذر گیاه خارمریم فلاونویدهای مختلفی ساخته و ذخیره می‌شود. فلاونویدهای بذر گیاه خارمریم شامل سیلی‌بین، سیلی‌دیانین و سیلی‌کریستین هستند که مجموعه آن‌ها تحت عنوان سیلی‌مارین شناخته می‌شود (Tedesco *et al*., 2004). این فلاونوید (سیلی‌مارین) ضد مسمومیت کبدی و دارای اثر آنتی‌اکسیدانی قوی است (Lstedler *et al*., 2004). سیلی‌مارین با مکانیسم‌های متعدد از جمله تحریک DNA پلی‌مراز، تثبیت غشای سلولی، مهار رادیکال‌های آزاد و افزایش غلظت گلوتاتیون سلولی اثر محافظت خود را بر کبد اعمال می‌کند (Muriel and Mureno, 2004). یافته‌های بسیاری به نقش موثر سیلی‌مارین در پایداری و تثبیت غشای کبدی اشاره می‌نماید که مانع از پیوند بسیاری از سموم و داروها با این غشاها می‌شود (فانی مکی و همکاران، ۱۳۹۲). احتمال می‌رود که سیلی‌مارین موجود در خارمریم از راه اثر بر فعالیت‌های مربوط به هسته سلول و تاثیر بر میکروزوم سلولی کبد، می‌تواند رادیکال‌های آزاد ناشی از مصرف سم آفلاتوکسین را کاهش و فعالیت سلولی جهت سنتز پروتئین را افزایش دهد (Radko and Cybulski, 2007). علاوه بر خارمریم، سیلی‌مارین به مقدار جزئی‌تر در زردچوبه و کنگر فرنگی یافت می‌شود.

گیاه آویشن از تیره نعناییان با نام علمی *Thymus vulgaris* و با نام انگلیسی Thyme است که در نواحی از اروپا و شمال آفریقا و آسیا می‌روید (Moghtader, 2012). تا حدودی اثرات ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، ضدکوکسیدیائی، ضدقارچ و ضد ویروسی این گیاه مشخص شده است (Saki *et al*., 2014). تانن‌ها، ساپونین‌ها، گلیکوزیدها و اسانس‌ها مهم‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده عصاره آویشن هستند. تیمول، کارواکرول، پاراسیمول، لینالول و سینئول اجزای اصلی تشکیل‌دهنده آویشن هستند. گزارش شده است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آویشن معادل اسید آسکوربیک است. توانایی آنتی‌اکسیدانی روغن‌های ضروری آویشن به ترکیبات فنولی تیمول، کارواکرول و

تیموهیدروکینون نسبت داده می‌شود (پیرمحمدی و همکاران، ۱۳۹۴). از طرف دیگر مطالعات آزمایشگاهی نشان داد عصاره آویشن و تیمول می‌توانند از فعالیت قارچ‌هایی مانند *آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس* جلوگیری کنند و به طور کامل سنتز و رشد آفلاتوکسین را سرکوب کنند (Pina Vaz *et al*., 2004). به نظر می‌رسد حضور ترکیبات فنولی نظیر تیمول و کارواکرول به عنوان ترکیبات عمده آویشن می‌تواند در بدست آوردن نتایج ضد قارچی بر ضد آسپرژیلوس پارازیتیکوس موثر باشد (فکور و همکاران، ۱۳۸۶). با توجه به اثرات کاهنده عوارض ناشی از مصرف آفلاتوکسین به وسیله گیاهان خارمریم و آویشن، هدف از این مطالعه بررسی تاثیر گیاهان خارمریم و آویشن در کاهش عوارض ناشی از آفلاتوکسین B1 بر خصوصیات لاشه، سیستم ایمنی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی است.

مواد و روش‌ها

برای انجام آزمایش حاضر، تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه نر گوشتی سویه راس ۳۰۸ در ۵ تیمار با ۴ تکرار و ۱۰ قطعه به ازای هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی از سن ۱ تا ۲۱ روزگی در محل مرغداری تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره شاهد (بدون آلودگی، شاهد منفی)، ۲) جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 (شاهد مثبت)، ۳) جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 + ۱ درصد دانه گیاه خارمریم، ۴) جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 + ۱ درصد گیاه آویشن، ۵) جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 + ۱ درصد دانه گیاه خارمریم و ۱ درصد گیاه آویشن بودند. دانه خارمریم دارای ۱۷ درصد پروتئین خام، ۱۳ درصد چربی خام، ۲۶ درصد فیبر و ۱۸/۹۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک ترکیبات فلاونوئیدی است (شلایی و حسینی، ۱۳۹۳، Fani makki *et al*., 2018). همچنین آویشن دارای ۱۵/۵۱ درصد پروتئین خام، ۲۱/۸ درصد فیبر خام و ۲۸/۵۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ترکیبات فنولی است (پیرمحمدی و همکاران، ۱۳۹۴، آذرفر و همکاران، ۱۳۹۲). گیاهان مورد استفاده در آزمایش به صورت تازه چیده شده، خشک شده و آسیاب شده آماده گردیده و به عنوان افزودنی به جیره پایه افزوده شدند. دسترسی جوجه‌ها به آب و دان در طول مدت آزمایش آزاد بود. جیره پایه تیمارهای آزمایش بر اساس ذرت- سویا و بر اساس راهنمای تغذیه‌ای سویه راس ۳۰۸ (سال ۲۰۱۴) تنظیم شد (جدول ۱). به منظور تولید آفلاتوکسین B1، ویال استاندارد آسپرژیلوس فلاووس PTCC-5004 از بخش گنجینه میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی کشور ایران تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. سویه قارچ فوق روی محیط کشت سابرو دکستروز آگار کشت داده شد و به مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگه‌داری شد. در مرحله بعد، اسپورهای قارچی در حجم ۵ میلی‌لیتر از محلول یک درصد تریتون ایکس- ۱۰۰ (Triton X-۱۰۰) به حالت تعلیق درآورده شدند، به این صورت که به هر یک از پلیت-های محیط کشت حاوی اسپور قارچ، مقداری محلول تریتون ایکس-۱۰۰ اضافه شد. به منظور تولید انبوه قارچ و افزایش میزان سم از فلاسک‌های یک لیتری استفاده شد، به این ترتیب که در هر فلاسک مقدار ۱۰۰ گرم برنج به همراه ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و به خوبی مخلوط شد. فلاسک‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱۵ اینچ بر مربع اتوکلاو شده و سپس خنک شدند. پس از آن در شرایط کاملاً استریل، دو میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچ حاوی $۶/۵\times۱۰^{۶}$ در هر میلی‌لیتر به داخل فلاسک‌ها تلقیح شد. فلاسک‌ها به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور قرار داده شدند. بعد از آلوده شدن برنج طی این مدت، فلاسک‌ها دوباره در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱۵ اینچ بر مربع اتوکلاو شدند. برنج‌های آلوده آسیاب شده و به وسیله روش HPLC (کروماتوگرافی مایع با فشار بالا) تعیین غلظت شدند (فانی مکی و همکاران، ۱۳۹۲). در پایان دوره آزمایش (۲۱ روزگی) از هر تکرار، یک قطعه جوجه خون‌گیری شده و بلافاصله به منظور توزین اندام‌های داخلی و بررسی خصوصیات لاشه کشتار شدند. سرم جداسازی شده در فریزر در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان آزمایش‌های بعدی نگه‌داری شد. جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های سیستم ایمنی نمونه‌های خونی از ورید گردنی به صورت جداگانه خونگیری به‌عمل آمد و به روش زیر مورد آزمایش قرار گرفتند.

به طور خلاصه، جهت سنجش قابلیت انفجار تنفسی در سلول‌های فاگوسیتیک خون محیطی، در ابتدا به کمک گرادیانت فایکول، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی جدا شدند. سپس سوسپانسیون سلولی به تعداد ۲×۱۰^{۶} سلول در هرمیلی لیتر تهیه شد. این سلول‌ها در پلیت‌های کشت ۲۴ خانه به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن انکوبه شدند، سپس خانه‌ها به منظور حذف لنفوسیت‌ها با محیط کشت هنکس شستشو داده شدند. سلول‌های باقیمانده به مدت یک ساعت با مخمر اپسونیزه انکوبه شدند. آن‌گاه ۱۰۰ میکرولیتر محلول زیموزان و NBT (نیترو بلو تترازولیوم) (شرکت Sigma - آمریکا) به هریک از خانه‌ها اضافه و به مدت یک ساعت دیگر انکوبه شدند. در نهایت ۴۰۰ میکرولیتر N-N دی متیل فورماید به هر یک از خانه‌ها اضافه شده و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی از هر یک از خانه‌ها را در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و نتیجه با الایزا نگار در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت شد. به منظور بررسی میزان تکثیر سلول‌های ایمنی با روش MTT مراحل زیر انجام شد: پس از طی مراحلی که در بالا توضیح داده شد، به دنبال شمارش سلول‌ها، سوسپانسیونی حاوی ۲×۱۰^{۶} سلول در هر میلی لیتر تهیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از آن در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. برای هر نمونه سه تکرار بدون حضور پادگن و سه تکرار در حضور ۵۰ میکرولیتر از محلول گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) ۱۰ درصد، در نظر گرفته شد. به عنوان بلانک نیز در سه چاهک از محیط RPMI (Roswell Park Memorial Institute) خالی استفاده شد. بعد از ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری در گرمخانه حاوی ۵٪ کربن دی اکسید به هر چاهک ۲۵ میکرولیتر محلول MTT (شرکت Sigma -آمریکا) (میلی‌گرم در میلی‌لیتر در محلول نمک فسفات) افزوده شده، به مدت ۴ ساعت دیگر گرمخانه‌گذاری شد. در این مدت، احیاء ماده MTT (۳- (۴،۵ –دی متیل تیازول ۲-ایل)-۵،۲- دی فنیل تترازولیوم بروماید) به وسیله سلول‌های زنده و در حال تکثیر سبب تشکیل کریستال‌های فورمازون شد که با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر DMSO (Dimethyl sulfoxide) به حالت محلول درآمد. سپس شدت رنگ در طول موج ۴۰ نانومتر تعیین و ایندکس تحریک بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Abtahi *et al.*, 2014):

$$\text{اندکس تحریک} = \frac{\text{بلانک OD – PHA درحضور OD}}{\text{بلانکOD– درعدم حضور ODPHA}}$$

تجزیه داده‌های حاصله با استفاده از رویه مدل‌های خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار SAS 9.0 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون مقایسه میانگین‌های دانکن صورت پذیرفت. سطح تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌های تیمارها، ۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تاثیر گروه‌های آزمایشی بر مصرف خوراک، افزای وزن بدن و ضریب تبدیل خوراکی در ۲۱ روزگی در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراکی به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر گروه-های آزمایشی قرار نگرفتند. در حالی‌که مصرف خوراک در جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین B1 به همراه گیاه خارمریم به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های دیگر بود ($P<۰/۰۵$). از سوی دیگر جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین به‌تنهایی (گروه ۲) به‌طور معنی‌داری پایین‌ترین مصرف خوراک را داشتند ($P<۰/۰۵$). موافق با نتایج اخیر، گروهی از محققین نتیجه گرفتند که مصرف آفلاتوکسین سبب کاهش مصرف خوراک در طیور شد و این در حالی است که مصرف همزمان آفلاتوکسین و خارمریم سبب بهبود مصرف خوراک در مقایسه با گروه شاهد شد. به نظر می‌رسد استفاده از گیاه خارمریم ممکن است کیفیت خوراک را با استفاده از ویژگی ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی و پتانسیل آن در کاهش دادن رشد قارچ‌های مایکوتوکسینی بهبود بخشد (Chand *et al.*, 2011; Tedesco *et al.*, 2004). همچنین گزارش شده است تیمول و کارواکرول موجود در آویشن دارای خواص ضد میکروبی و ضد باکتریایی بوده و در نتیجه در روده جوجه‌های گوشتی سبب از بین بردن عوامل بیماریزا شده و از این راه باعث بهبود عملکرد می‌شود (Dalkilic *et al.*, 2005).

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (بر اساس ماده خشک)

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets (DM basis)

Ingredients	Starter diet (1-10)	Grower diet (11-21)
Corn	50.56	55.07
Soy bean meal (CP %44)	40.40	37.31
[1]Rice	0.69	0.69
Soy bean oil	2.95	2.76
Dicalcium Phosphate	2.25	1.95
Calcium carbonate	1.48	0.96
L- lysine	0.27	0.09
DL- Methionine	0.35	0.24
L- Threonine	0.11	0.03
Sodium bicarbonate	0.15	0.06
[2]Vitamin and Mineral premix	0.50	0.50
Common Salt	0.24	0.30
Total	100	100
Analysis of nutrients		
Dry Matter %	85.42	89.20
ME (Kcal/kg)	2900	2950
CP %	22.66	21.34
Ca %	1.13	0.87
Available P %	0.48	0.43
K %	0.95	0.90
Na %	0.16	0.16
Cl %	0.23	0.23
Lys %	1.45	1.24
Met + Cys %	1.04	0.91
Trp %	0.27	0.26
Thr %	0.96	0.84

[1]Rice was contaminated by aflatoxin B1 used in the treatment groups.

[2]Vitamins and Mineral premix provided the following per kilogram of diet: Retinol, 9000 IU; Tocopherolacetate, 18; Cyanocobalamin, 15 mg; Riboflavin, 6.6 mg; Calcium pantothenic acid, 10 mg; Niacin, 30 mg; Choline, 500 mg; Biotin, 1 mg; Thiamin, 8.1 mg; Pyridoxine, 3 mg; Folic acid, 1 mg; Menadione vitamin, 2mg; Anti-Oxidant (Ethoxyquin, 100 mg; Mn, 100 mg; Zn, 50 mg; Fe, 50 mg, Cu, 10 mg; I, 1 mg; Se, 0.2 mg.

نتایج حاصل از تاثیر گروه‌های آزمایشی بر خصوصیات لاشه شامل وزن نسبی لاشه، سینه، بال، کبد، کلیه، پانکراس، چربی محوطه بطنی و قلب در جدول ۳ گزارش شده است. وزن نسبی کبد به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت، به‌طوری‌که کمترین وزن کبد مربوط به گروه شاهد منفی و گروه شاهد مثبت با دانه گیاه خارمریم و بیشترین وزن کبد مربوط به گروه شاهد مثبت بود (P<۰/۰۵). برای سایر خصوصیات لاشه تاثیر تیمارها معنی‌دار نبود. گزارش شده است افزودن ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین به جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش معنی‌دار اندازه کبد و کاهش وزن نسبی بورس نسبت به جوجه‌های گروه شاهد شد. این تغییرات احتمالاً به دلیل تغییر غلظت پروتئین در بافت‌های درگیر است که سبب ایجاد تغییرات ساختاری در کبد و اندام‌های مرتبط می‌شود (Kubena *et al*., 1989). از سوی دیگر، سایر محققان، اختلال در سوخت و ساز چربی‌ها و رسوب هر چه بیشتر این مواد در کبد را عاملی بر افزایش وزن این اندام طی آفلاتوکسیکوزیس معرفی کرده‌اند (Shaline *et al*., 1980). بیان شده است افزودن ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین به‌تنهایی به جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش وزن نسبی کبد و کاهش وزن نسبی بورس فابرسیسوس در مقایسه با مصرف همزمان ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین با ۱ درصد گیاه خارمریم و گروه شاهد شد (Fani Makki *et al*., 2013). گزارش شده است افزودن آفلاتوکسین به جیره جوجه‌های گوشتی سبب تغییرات پاتولوژیکی در کبد شد و افزودن سیلی‌مارین باعث کاهش عوارض ناشی از مصرف

آفلاتوکسین بر کبد شد (Tedesco *et al*., 2004). گزارش شده است افزودن عصاره آبی آویشن دنایی در سطح ۲۰۰۰ قسمت در میلیون باعث کاهش اثرات منفی مصرف آفلاتوکسین در بلدرچین ژاپنی شد (گران و همکاران، ۱۳۹۳). نشان داده شده است افزودن ۲۰ گرم در کیلوگرم آویشن شیرازی به جیره آلوده به آفلاتوکسین جوجه‌های گوشتی سبب بهبود وضعیت کبد نسبت به جوجه‌های مصرف‌کننده ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین به‌تنهایی شد. آزمایش‌های بافت‌شناسی، بهبود وضعیت کبد در جوجه‌های مصرف‌کننده جیره آلوده به آفلاتوکسین همراه با آویشن را نشان داد (Fani Makki *et al*., 2015). به نظر می‌رسد اثرات فارماکولوژیکی و محافظت کبدی آویشن می‌تواند ناشی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده که به‌طور عمده ناشی از توانایی در حذف رادیکال‌های آزاد و یا ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدی است (گران و همکاران، ۱۳۹۳).

جدول ۴ تاثیر تیمارهای آزمایشی را بر سطوح سرمی گلوکز، تری‌گلسیرید، کلسترول، کلسیم، فسفر، اوریک اسید، آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) در جوجه‌های گوشتی در ۲۱ روزگی نشان می‌دهد. گروه شاهد مثبت به‌طور معنی‌داری کمترین میزان گلوکز را دارا بود (P<۰/۰۵). علاوه بر آن، به‌طور معنی‌داری گروه شاهد مثبت، بیشترین میزان آنزیم‌های ALT و AST را داشت، در حالی‌که گروه شاهد منفی کمترین میزان سطوح ALT و AST را نشان داد (P<۰/۰۵). به‌طور کلی آفلاتوکسین اثرات مضری بر غلظت اجزای گوناگون سرم نظیر مجموع پروتئین سرم، گلوبولین، بیلی روبین، کلسترول و اسید اوریک دارد (Thaxton *et al*., 1974). گزارش شده است که افزایش میزان اسید اوریک سرمی خون جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با آفلاتوکسین B1 به عنوان شاخص بیوشیمیایی آسیب به فعالیت کلیه در طیور به شمار می‌آید (Gowda *et al*., 2008). اسید اوریک محصول اصلی اولیه متابولیسم پروتئین در پرندگان است که در کبد ساخته شده و از راه کلیه دفع می‌شود. در پرندگان مبتلا به نارسایی کلیه به علت کاهش دفع اسید اوریک به وسیله کلیه‌ها انتظار می‌رود که میزان اسید اوریک سرم افزایش یابد (عظیمی و همکاران، ۱۳۹۱).

در آزمایش حاضر از لحاظ میزان اسید اوریک سرم خون تفاوتی بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. گزارش شده است جوجه‌های تغذیه شده با ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین سطوح سرمی پایین‌تری برای گلوکز، پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و کلسیم نسبت به جوجه‌های گروه

جدول ۲- اثر گروه‌های شاهد منفی، مثبت (آفلاتوکسین B1، ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم)، شاهد مثبت + خارمریم (۱٪)، شاهد مثبت + آویشن (۱٪) و شاهد مثبت + خارمریم (۱٪) با آویشن (۱٪) بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در ۲۱ روزگی

Table 2. Effect of negative control, positive control (aflatoxin B1, 2 ppm), positive control + *Silibum marianum*, positive control+ *Thymus vulgaris* and positive control + *Silibum marianum* along with *Thymus vulgaris* groups on performance of broilers at 21 days of age

Group	Feed intake (g)	Body weight gain (g)	Feed conversion ratio
Negative control	1129.99[ab]	746.26	1.51
Positive control	1071.13[b]	665.12	1.64
Positive control +*Silibum marianum*	1147.85[a]	735.85	1.57
Positive control +*Thymus vulgaris*	1107.52[ab]	686.18	1.62
Positive control + *Silibum marianum* + *Thymus vulgaris*	1134.90[ab]	713.34	1.59
SEM	9.20	11.75	0.02
P value	0.02	0.96	0.41

[a-c] Means in the same column with no common superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۳- اثر گروه‌های شاهد منفی، مثبت (آفلاتوکسین B1، ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم)، شاهد مثبت + خارمریم (۱٪)، شاهد مثبت + آویشن (۱٪) و شاهد مثبت + خارمریم (۱٪) با آویشن (۱٪) بر وزن نسبی لاشه ، کبد، کلیه، پانکراس، چربی محوطه بطنی و قلب و بر اساس درصد لاشه سینه و بال جوجه‌های گوشتی در ۲۱ روزگی

Table 3. Effect of negative control, positive control (aflatoxin B1, 2 ppm), positive control + *Silibum marianum*, positive control+ *Thymus vulgaris* and positive control + *Silibum marianum* along with *Thymus vulgaris* groups on the relative weight of carcass, liver, kidney, pancreas, abdominal fat and heart and percentage of carcass of breast and wings of broilers at 21 days of age

Group	Carcass	Breast	Wings	Liver	Kidney	Pancreas	Abdominal fat	Heart
Negative control	58.67	34.89	9.18	2.39[b]	0.81	0.35	0.58	0.56
Positive control	58.45	35.42	9.26	2.75[a]	0.83	0.41	1.03	0.50
Positive control +*Silibum marianum*	58.87	36.44	9.50	2.40[b]	0.79	0.36	0.72	0.49
Positive control +*Thymus vulgaris*	58.35	35.25	10.07	2.51[ab]	0.73	0.34	1.02	0.54
Positive control + *Silibum marianum* + *Thymus vulgaris*	58.92	35.59	8.96	2.49[ab]	0.71	0.33	1.01	0.49
SEM	0.91	0.01	0.55	0.04	0.03	0.02	0.13	0.02
P value	0.98	0.87	0.68	0.0005	0.96	0.16	0.08	0.25

[a-c] Means in the same column with no common superscripts differ significantly ($P<0.05$).

شاهد داشتند (Neef *et al*., 2013). این محققان حساسیت اندام‌های کبد و کلیه و تخریب این اندام‌ها طی آفلاتوکسیکوزیس را عاملی بر تغییرات بیوشیمیایی سرم معرفی کردند. بیان شده است جوجه‌های تغذیه شده با ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین نسبت به جوجه‌های گروه شاهد سطوح گلوکز، پروتئین تام، آلبومین کمتر و اوریک اسید بیشتر را دارا بودند. این محققان بالا بودن میزان گلوکز را به اختلال در متابولیسم قندها و چربی مرتبط دانستند (Oguz *et al*., 2000). در مقابل گزارش شده است که آفلاتوکسین‌ها سبب کاهش میزان گلوکز سرم خون می‌شوند. بررسی‌ها نشان می‌دهند که کاهش فعالیت گلیکوژن سنتتاز و ترانس گلیکوزیلاز از اختلالاتی است که در این مسیر به وجود می‌آید. کاهش مشاهده شده در سطوح گلوکز خون پرندگان تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 را می‌توان به کاهش ذخایر گلوکز و تاثیر آفلاتوکسین بر مسیرهای متابولیسم و آنزیم‌های موثر در چرخه متابولیسم کربوهیدرات‌ها مربوط دانست (منافی و همکاران، ۱۳۹۴). محققین دیگری، سطوح پایین‌تر گلوکز، HDL و کلسیم برای جوجه‌های تغذیه شده با ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین نسبت به جوجه‌های تغذیه شده با ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم به همراه ۱ درصد گیاه خارمریم را گزارش کردند (Amirdumari *et al*., 2013). گزارش شده است که جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین از نظر سطوح سرمی پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، گلوکز، بیلی‌روبین، کلسیم و فسفر اختلاف معنی‌داری با جوجه‌های تغذیه شده با گروه شاهد و گروه آفلاتوکسین به همراه سیلی‌مارین نداشتند (Tedesco *et al*., 2004). محققان گزارش کرده‌اند جوجه‌های تغذیه شده با ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین میزان پروتئین تام، کلسیم، آلبومین و کلسترول پایینی نسبت به جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین به‌همراه پودر زردچوبه داشتند (Gowda *et al*., 2008). بهبود فراسنجه‌های خونی جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین به همراه خارمریم نسبت به جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین به‌تنهایی به این دلیل است که سیلی‌مارین علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی، موجب تثبیت غشای سلولی و افزایش گلوتاتیون سلولی می‌شود که احتمالاً در کاهش جذب روده‌ای کلسترول و کاهش قند خون و بهبود متابولیسم کبدی موثر است (Sobolova *et al*., 2006). محققان گزارش کرده‌اند تیمول موجود در آویشن و همچنین کارواکرول دارای خواص ضدالتهابی است که به‌عنوان محرک کبد عمل نموده و باعث تحریک عمل رونویسی mRNA و پروتئین‌سازی در زمان مصرف

آفلاتوکسین می‌شود (Uyanoglu *et al*., 2008). بیان شده است که جوجه‌های تغذیه شده با ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین فعالیت ALT، AST و GGT بالاتری نسبت به جوجه‌های گروه شاهد داشتند (Eraslan *et al*., 2005, Aravind et al., 2003). این محققان تغییر در ساختار کبد و افزایش ترشح این آنزیم‌ها به وسیله کبد را دلیل این نتایج می‌دانند. همچنین گزارش شده است که جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین به‌تنهایی میزان آنزیم ALT کمتری نسبت به جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین به‌همراه سیلی‌مارین و همچنین جوجه‌های گروه شاهد داشتند (Tedesco *et al*., 2004). علاوه بر این گزارش شده است که سیلی‌مارین می‌تواند سبب جلوگیری از تغییر آنزیم سیتوکروم P-450 و همچنین باعث محدود شدن فعال‌سازی آفلاتوکسین، کاهش رادیکال‌های آزاد سمی و افزایش گروه آنزیمی در ارتباط با گلوتاتیون سوپر اکسید دیسموتاز شود، در نتیجه اثرات سمی ناشی از آفلاتوکسین بهبود می‌یابد (Basga *et al*., 1977). نشان داده شده است موش‌های صحرایی تغذیه شده با آفلاتوکسین، سطوح سرمی بالایی برای آنزیم‌های کبدی ALP، ALT و AST در مقایسه با موش‌های صحرایی تغذیه شده با آفلاتوکسین به همراه عصاره آویشن و همچنین موش‌های صحرایی گروه شاهد داشتند (Hamzawy *et al*., 2012). در آزمایش دیگری مشخص شد تغذیه موش‌های صحرایی با آفلاتوکسین به میزان ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سبب افزایش سطوح فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT و AST نسبت به گروه شاهد شد، در حالی‌که اضافه کردن عصاره آویشن باعث تعدیل در تغییر سرمی این آنزیم‌ها شد (El-Nekeety *et al*., 2012).

جدول ۵ نتایج تاثیر گروه‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های سیستم ایمنی را نشان می‌دهد. نتایج آزمایش نشان داد که استفاده از تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر میزان پادتن کل نداشت (P<۰/۰۵). در حالی‌که برای آزمون‌های MTT و NBT، به‌طور معنی‌داری کمترین سطح متعلق به گروه شاهد مثبت و بیشترین میزان آن به گروه شاهد منفی تعلق داشت (P<۰/۰۵). گزارش شده است که آفلاتوکسین سبب سرکوب شدید سیستم ایمنی به وسیله کاهش فعالیت فاگوسیتوزی مونوسیت‌ها و سرکوب فعالیت کمپلمان‌ها می‌شوند (Wilasrusmeebcef *et al*., 2002). آفلاتوکسین‌ها با

جدول ۴- اثر گروه‌های شاهد منفی، مثبت (آفلاتوکسین B1، ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم)، شاهد مثبت + خارمریم (۱٪)، شاهد مثبت + آویشن (۱٪) و شاهد مثبت + خارمریم (۱٪) با آویشن (۱٪)بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در ۲۱ روزگی

Table 4. Effect of negative control, positive control (aflatoxin B1, 2 ppm), positive control + *Silibum marianum*, positive control+ *Thymus vulgaris* and positive control + *Silibum marianum* along with *Thymus vulgaris* groups on blood parameters of broilers at 21 days of age

Group	Glucose (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	Calcium (mg/dl)	Phosphorus (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)	[1]ALT (U/L)	[1]AST (U/L)	[1]GGT (U/L)
Negative control	187.75[a]	132.25	140.55	9.85	7.12	5.30	21.75[c]	193.25[c]	14.75
Positive control	158.72[b]	144.04	156.05	7.12	6.42	6.82	33.50[a]	243.25[a]	16.00
Positive control +*Silibum marianum*	181.07[a]	133.06	148.05	9.25	6.65	5.15	26.00[bc]	214.00[bc]	14.50
Positive control +*Thymus vulgaris*	176.06[a]	136.52	147.53	8.97	6.67	5.45	27.50[b]	229.50[ab]	16.50
Positive control + *Silibum marianum* + *Thymus vulgaris*	178.72[a]	137.23	144.52	9.40	6.72	5.37	27.50[b]	223.50[ab]	14.25
SEM	4.38	3.89	6.01	0.68	0.29	0.47	1.76	7.99	2.15
P value	0.006	0.26	0.48	0.11	0.58	0.13	0.005	0.006	0.92

1ALT: Alanine Aminotransferase; AST: Aspartate Aminotransferase; GGT: Gamma- Glutamyltransferase.

[a-c] Means in the same column with no common superscripts differ significantly (P<0.05).

مهار DNA و سنتز پروتئین از راه اختلال در انتقال اسیدهای آمینه و رونویسی mRNA باعث سرکوب سیستم ایمنی می‌شوند (Thaxton *et al*., 1974). آفلاتوکسین‌ها با مهار ایمنوگلوبولین‌های G و A، مهار مهاجرت ماکروفاژها، تداخل با فعالیت همولیتیک کمپلمان‌ها، کاهش تعداد لنفوسیت‌ها، تغییر ساختار بورس فابریسیوس و اختلال در تشکیل سیتوکین‌ها به وسیله لنفوسیت‌ها سبب سرکوب سیستم ایمنی در طیور می‌شوند (Gabal and Azzam, 1998). به‌طور کلی مکانیسم تحریک ایمنی به وسیله گیاهان داروئی به خوبی شناخته نشده است. گزارش شده است که افزودن اسانس‌های نعناع و اکالیپتوس به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی باعث افزایش MTT و NBT در مقایسه با جوجه‌های گروه شاهد و گروه تحت تنش گرمایی شد (اصغریان و همکاران، ۱۳۹۴). نشان داده شده است که تغذیه جوجه‌های گوشتی با ۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین به‌تنهایی باعث کاهش معنی‌دار عیار پادتن علیه بیماری نیوکاسل نسبت به گروه شاهد و گروه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین و خارمریم در ۲۱ روزگی شد (Amiridumari *et al*., 2014). در تحقیق دیگری گزارش شد جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین دارای عیار پادتن پایین‌تری علیه بیماری‌های نیوکاسل، برونشیت و بورس عفونی بودند، در حالی‌که تغذیه جوجه‌های گوشتی با آفلاتوکسین به همراه خارمریم باعث افزایش پاسخ پادتن علیه بیماری‌های نیوکاسل، برونشیت و بورس عفونی شد (Chand *et al*., 2011). سیلی‌مارین می‌تواند وارد هسته شود و با تحریک رونویسی rRNA سبب افزایش ترکیب ریبوزومی شود و در نتیجه سنتز پروتئین تحریک شود. این تحریک ممکن است سلول را قادر به مقابله در زمان بیماری‌ها کند. این عمل می‌تواند باعث ترمیم سلول‌های کبدی آسیب دیده شود. علاوه بر این، گزارش شده است سیلی‌بین موجود در خارمریم سبب افزایش فعالیت گلبول‌های سفید و افزایش توانایی سیستم ایمنی می‌شود (Radko and Cybulski, 2004). نتایج درون‌تنی موش‌های تیمار شده با سیلی‌مارین نشان داد که سطوح پایین سیلی‌مارین باعث سرکوب لنفوسیت‌های T و سطوح بالای آن سبب تحریک روند التهابی شود. بنابراین توانایی سیستم ایمنی بدن در مقابل عفونت‌های باکتریایی در دوزهای بالاتر افزایش می‌یابد (Johnson *et al*., 2002). از طرف دیگر، گزارش شده است تغذیه جوجه‌های گوشتی با بذر خارمریم و آویشن هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در میزان عیار پادتن‌های طیور علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفلونزا ایجاد نکرد، در حالی‌که مصرف آویشن و بذر خارمریم به صورت ترکیبی در جیره طیور، افزایش معنی‌داری را در تعداد سلول‌های هتروفیل سرمی خون جوجه‌های گوشتی در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد نمود. همچنین، بیشترین تعداد سلول‌های لنفوسیت سرمی خون جوجه‌های گوشتی در تیمار دریافت‌کننده آویشن به‌تنهایی، در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد (فانی مکی و همکاران، ۱۳۹۲). در آزمایش دیگری گزارش شد که استفاده از گیاهان خارمریم و آویشن در جیره طیور سبب ایجاد تغییر معنی‌دار در پاسخ پادتن علیه بیماری‌های نیوکاسل، آنفلونزا، گامبرو و برونشیت در مقایسه با گروه شاهد نشد (Ansarinik *et al*., 2015). این محققان گزارش کردند که گیاهان خارمریم و آویشن سبب ایجاد تغییر در میزان درصد لنفوسیت‌ها، هتروفیل و ایمنوگلوبولین‌های جوجه‌های تغذیه شده نشد. همچنین گزارش شده است که استفاده از مخلوط گیاهان خارمریم و آویشن (به نسبت‌های مساوی) باعث افزایش درصد لنفوسیت و هتروفیل شده است که حاکی از اثرات مفید این نوع ترکیب از این دو گیاه بر سطح ایمنی جوجه‌های گوشتی است (Toghyani *et al*., 2011). آویشن به واسطه ترکیبات فلاونوئیدی باعث افزایش فعالیت ویتامین C، که به عنوان یکی از اصلی‌ترین آنتی-اکسیدان‌هاست، و همچنین سبب بروز اثرات مثبت بر سیستم ایمنی پرنده می‌شود (Cook and Samman, 1996). علاوه بر این گزارش شده است که آویشن دارای ترکیبات ضد باکتریایی و ضد قارچی است و روغن‌های ضروری تیمول و کارواکرول موجود در آن به واسطه خواص آنتی‌اکسیدانی قادر به افزایش پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی هستند (Sadeghi *et al*., 2012).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که آفلاتوکسین B1 می‌تواند اندازه کبد (به عنوان اندام مهم در آفلاتوکسیکوزیس) و

همچنین برخی فراسنجه‌های خونی مانند آنزیم‌های کبدی و سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی را تحت تاثیر قرار دهد. مواد فعال موجود در گیاهان خارمریم و آویشن از جمله سیلی‌مارین و تیمول با تاثیر آنتی‌اکسیدانی و تحریک سیستم آنزیمی پرنده می‌توانند سبب به تعویق افتادن اثرات سوء آفلاتوکسین B1 در جوجه‌های مصرف‌کننده شوند.

جدول ۵- اثر گروه‌های شاهد منفی، مثبت (آفلاتوکسین B1، ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم)، شاهد مثبت + خارمریم (۱٪)، شاهد مثبت + آویشن (۱٪) و شاهد مثبت + خارمریم (۱٪) با آویشن (۱٪)بر روی فراسنجه‌های سیستم ایمنی شامل میزان آنتی‌بادی کل، تست تکثیر لنفوسیت (MTT)، تست شدت انفجار تنفسی (NBT) جوجه‌های گوشتی در ۲۱ روزگی

Table 5. Effect of negative control, positive control (aflatoxin B1, 2 ppm), positive control + *Silibum marianum*, positive control+ *Thymus vulgaris* and positive control + *Silibum marianum* along with *Thymus vulgaris*groups on immune parameters including total antibody level, lymphocyte proliferation response (MTT) and respiratory burst in monocytes (NBT) of broilers at 21 days of age

Group	Total antibody (mg/dl)	MTT (light absorbance)	NBT (light absorbance)
Negative control	1.394	2.456[a]	0.870[a]
Positive control	1.179	1.739[c]	0.390[d]
Positive control +*Silibum marianum*	1.315	2.537[a]	0.699[b]
Positive control +*Thymus vulgaris*	1.353	1.866[c]	0.500[cd]
Positive control + *Silibum marianum* + *Thymus vulgaris*	1.413	2.201[b]	0.610[bc]
SEM	0.24	0.06	0.04
P value	0.96	<0.0001	<0.0001

[a-d] Means in the same column with no common superscripts differ significantly ($P<0.05$).

فهرست منابع

اصغریان ن. ۱۳۹۴. بررسی تأثیر اسانس نعناع و اکالیپتوس و یک داروی گیاهی تجاری بر عملکرد و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش گرمایی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه، صفحات ۱۵۰-۱۴۵.

آذرفر س.، نوبخت ع. و مهمان‌نواز ی. ۱۳۹۲. تأثیر استفاده از آویشن *Thymus Vulgaris* L. و آنزیم کمین بر عملکرد و متابولیت-های خون بلدرچین‌های تخمگذار ژاپنی. تولیدات دامی، ۱۵(۲): ۱۴۸-۱۳۹.

پیرمحمدی ع.، دانشیار م. و فرهومند پ. ۱۳۹۴. بررسی تأثیر پودر گیاهان آویشن و پونه بر عملکرد، خصوصیات لاشه و برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی. مجله دامپزشکی ایران، ۱۱(۴): ۲۵-۱۲.

زرگری ع. ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. چاپ پنجم. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، جلد سوم، صفحات ۳۸-۳۴.

شلایی م. و حسینی س. م. ۱۳۹۴. اثر افزودن سطوح مختلف دانه‌های خارمریم و خرفه به جیرهٔ غذایی بر عملکرد، صفات کیفی تخم‌مرغ و ترکیب لیپیدهای خون و زرده تخم‌مرغ در مرغ‌های تخمگذار. پژوهش‌های علوم دامی. ۲۵(۱): ۱۷۸-۱۶۳.

عظیمی ج.، کریمی ترشیزی م. ا. و علامه ع. ۱۳۹۱. مقایسه کارآیی افزودنیهای جاذب سموم قارچی در تغییرات بیوشیمیایی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی. پژوهش‌های علوم دامی، ۲۲(۳): ۶۲-۴۹.

فانی مکی ا.، ابراهیم زاده ا.، انصاری نیک ح.، قزاقی م. ۱۳۹۲. اثر گیاهان داروئی خارمریم و آویشن بر سیستم ایمنی و برخی از فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی. آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۷(۲): ۱۸۴۳-۱۸۳۶.

فانی مکی ا.، افضلی ن.، امیدی آ. و محمدی ح. ر. ۱۳۹۲. روش تولید و سنجش نیمه صنعتی آفلاتوکسین در محیط کشت برنج. تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی، ۵(۲): ۱۰۴-۹۵.

فکور م. ه.، علامه ع. ا.، رسولی ا. و مظاهری م. ۱۳۸۶. اثر ضد قارچی اسانس‌های *Thymus eriocalyx* Jalas و *Zataria multiflora* Boiss بر قارچ مولد آفلاتوکسین آسپرژیلوس پارازیتیکوس. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان داروئی و معطر ایران، ۲۳(۲): ۲۷۷-۲۶۹.

گران ا.، شیوازاد م. و قاسم پور ع. ۱۳۹۴. تاثیر سم‌زدایی ذرت آلوده به آفلاتوکسین با عصاره‌ی آبی آویشن بر عملکرد و پروتئین تام خون بلدرچین ژاپنی. تحقیقات دامپزشکی، ۷۰(۱): ۸۷-۷۹.

منافی م.، آراک ه. و هدایتی م. ۱۳۹۴. اثر افزودن سطوح مختلف آفلاتوکسین B1 در جیره بر عملکرد، وزن نسبی اندام‌های داخلی و پارامترهای خونی بلدرچین ژاپنی طی دوره رشد (۲۸-۱ روزگی). نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی)، ۱۰۷: ۴۰-۳۳.

Abtahi Froushani S. M., delirezh N., Hobbenaghi R. and Mosayebi G. 2014. Synergistic effects of atorvastatin and all-trans retinoic acid in ameliorating animal model of multiple sclerosis. Immunol Investigation, 43(1): 54-68.

Amiri Dumari M., Sarir H., Fani Makki O. and Afzali N. 2014. Effect of milk thistle (*Silybum marianum* L.) on biochemical parameters and immunity of broiler chicks fed Aflatoxin B1 after three weeks. Iranian Journal of Toxicology, 26: 1098-1103.

Amiridumari H., Sarir H., Afzali N. and FaniMakki O. 2013. Effects of milk thistle seed against aflatoxin B1 in broiler model. Journal of Research in Medical Sciences, 18: 786-790.

Ansari Nik H., Fani Makki O., Ebrahimzadeh A. and Omidi A. 2015. Evaluation of blood chemical, lipids profile and immune response on broiler chicks fed with milk thistle (*Silybum marianum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) seeds in south-eastern Iran. Veterinary Science Development, 56: 21-24.

Applegate T. J., Schatzmayr G., Pricket K., Troche C., Jiang Z. 2009. Effect of aflatoxin culture on intestinal function and nutrient loss in laying hens. Poultry Science, 88: 1235–1241.

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. Poultry Science, 82: 571-576.

Azzam A. H. and Gabal M. A. 1997. Interaction of aflatoxin in feed and immunization against selected infectious disease. I. Infectious bursal disease. Avian Pathology, 26: 317-325.

Basaga H., Poli G., Tekkaya C. and Aras I. 1997. Free radical scavenging and antioxidant properties of silibin complexes on microsomal lipid peroxidation. Cell Biochemistry and Function.,15: 27-33.

Chand N., Din Muhammad F., Durrani R., Subhan Qureshi M. and Shahibzada S. U. 2011. Protective effect of milk thistle (*Silybum marianum*) against aflatoxin B1 in broiler chicks. Journal of Animal Science, 24: 1011-1018.

Cook N. C. and Samman S. 1996. Flavonoids chemistry, metabolism, cardio protective effects and dietary sources. Journal of Nutrition and Biotechnology, 7: 66-76.

Dalkilic B., Guler T., Ertas O. R. and Ciftci M. 2005. The effect of Thyme and anise oils and antibiotic on total cecum coliform bacteria number. III. National Animal Nutrition Congress, 7-10 September, Adana-Turkey: 378-382.

El-Nekeety A. A., Mohamed S. R., Hathout A. S., Hassan N. S., Aly S. E. and Abdel-Wahhab M. A. 2011. Antioxidant properties of Thymus vulgaris oil against aflatoxin-induce oxidative stress in male rats. Toxicon Journal, 57: 984–991.

Eraslan G. K., Akdouan M., Yarsan E., Pahundokuyucu F., Epsuz D. and Alitntap L. 2005. The effects of aflatoxins on oxidative stress in broiler chickens. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29: 701–707.

Fani Makki O., Omidi A., Ansari Nik H. and Hasheminejad S. 2018. *In vitro* assessment of Milk Thistle seeds as a natural anti-aflatoxin B1. Acta Veterinaria Eurasia, 44: 1-5.

Fani Makki O., Afzali N. and Omidi A. 2013. Effect of different levels of Silymarin (*Silybum marianum)* on growth rate, carcass variables and liver morphology of broiler chickens contaminated with aflatoxin B1. Poultry Science Journal, 2: 105-116.

Fani Makki O., Omidi A., Afzali N., Sarir H., Frouzanmehr M. and Shibak A. 2013. Efficacy of *Silybum marianum* seeds in ameliorating the toxic effects of aflatoxin B1 in broilers. Journal of Herbal Drugs, 24: 977-982.

Fani Makki O., Omidi A., Ansari Nik H., Hasheminejad A. and Hosseini Senjedak M. 2015. Anti-aflatoxin B1 effects of Shirazi thyme (*Zataria multiflora*) in broilers: evaluation of performance and liver histopathology. Veterinary Science Development, 60: 36-40.

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: 1120-1130.

Hamzawy A., El-Denshary E. S. M., Hasan N. S., Manaa F. and Abdel-Wahhab M. A. 2012. Antioxidant and hepatorenoprotective effects of Thyme vulagis extract in rats during aflatoxicosis. Global Journal of Pharmacology, 2: 106-117.

Huwing A., Freimund S., Kappeli O. and Dutler H. 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicology, 122: 179–188.

Johnson V. J., Osuchowski M. F. Q. and Sharma R. P. 2002. Physiological responses to a natural antioxidant flavonoids mixture, silymarin, in BALB/c mice: II Alterations on thymic differentiation correlate with changes in c-myc gene expression. Planta Medica, 68: 289-296.

Kubena L. F., Harvey R. B., Bailey R. H., Buckley S. A. and Rottinghaus G. E. 1989. Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-Bind) on mycotoxicosis in young broiler chickens. Poultry Science, 68: 622–626.

Lstedler R., Galletti S., Tameni M., Sonzogni O. and Tedesco D. 2004. Efficacy of silymarin-phospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. Poultry Science, 83: 43-1839.

Magnoli A. P., Monge M. P., Nazar F. N., Magnoli C. E., Cavaglieri L. R., Bagnis G., Dalcero A. M. and Marin R. H. 2012. Combined effects of aflatoxin B1 and corticosterone treatment on selected performance indices and liver histopathology in Japanese quail. Poultry Science, 91: 354–361.

Manafi M., Narayanaswamy H. D. and Pirany N. 2009. *In vitro* binding ability of mycotoxin binder in commercial broiler feed. African Journal of Agricultural Research, 2: 141-143.

Moghtader M. 2012. Antifungal effects of the essential oil from *Thymus vulgaris L.* and comparison with synthetic thymol on *Aspergillus niger*. Journal of Yeast and Fungal Research, 3: 83 – 88.

Muriel P. and Moreno M. G. 2004. Effects of silymarin and vitamins E and C on liver damage induced by prolonged biliary obstruction in the Rat. Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology, 94: 99-104.

Neeff D. V., Ledoux D. R., Rottinghaus G. E., Bermudez A. J., Dakovic A., Murarolli R. A. and 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: 131-136.

Oguz H. 2012. Detoxification of aflatoxin in poultry feed: a review from experimental trials. Lohmann Information, 2: 45.

Oguz H., KececiI T., Birdane Y. O., Onder F. and Kurtiglu V. 2000. Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during experimental aflatoxicosis. Research in Veterinary Science, 69: 89-93.

Pina-Vaz C., Goncalves Rodrigues A., Pinto E., Costa-de-Oliveira S., Tavares C., Salgueiro L., Cavaleiro C. and Gonçalves M. J. 2004. Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. European Academy of Dermatology and Venereology, 18: 73–78.

Radco L. and Cybulski W. 2007. Application of silymarin in human and animal medicine. Journal of Pre-Clinical and Clinical Research, 11: 022-026.

Sadeghi G. H., Karimi A., Padidar Jahromi S. H., Azizi T. and Daneshmand A. 2012. Effects of cinnamon, thyme and turmeric infusions on the performance and immune response in of 1-to 21-day-old male broilers. Revista Brasileira De Ciência Avícola, 14: 15-20.

Saki A. A., Kalantar M. and Khoramabadi V. 2014. Effects of drinking thyme essence (*Thymus vulgaris* L.) on growth performance, Immune response and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. Poultry Science, 2: 113-117.

Shaline K. S. B., Howrth Jr B. and Wyatt R. D. 1980. Effect of dietary aflatoxin in reproductive performance on mature White Leghorn. Poultry Science, 59: 1311-1315.

Sobolova L., Skottova N., Vecera R. and Urbanek K. 2006. Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. Pharmacological Research Journal, 53: 104-112

Tedesco D., Domeneghini C., Sciannimanico D., Tameni M., Steidler S. and Galletti S. 2004. Efficacy of silymarin phospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. Journal of Poultry Science, 83: 1839-1843.

Thaxton P., Young C. R., Cogburn L. A. and Parkhurst C. R. 1974. Hermatology of mercury compounds in young chickens. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 12: 46.

Thaxton J. P., Tung H. T. and Hamilton P. B. 1974. Immunosuppression in chicken by Aflatoxin. The chicken broiler fattening. Poultry Science, 53: 721-725.

Toghyani M., Toghyani M., Mohammadrezaei M., Gheisari A., Tabeidian S. A. and Ghalamkari G. 2011. Effect of cocoa and thyme powder alone or in combination on humoral immunity and serum biochemical metabolites of broiler chicks. 2nd International Conference on Agricultural and Animal Science IPCBEE. Singapore, pp. 22.

Uyganoglu M., Canbek M., Aral E. and Husru C. B. K. 2008. Effect of carvacrol upon the liver of rats undergoing partial hepatectomy. Phytomedicine, 15: 226-229.

Wilasrusmeebcef C., Kitturac S., Shahb G., Siddiquib J., Bruchbe D., Wilasrusmeeb S. and Kittur D. S. 2002. Immunostimulatory effect of Silybum marianum (milk thistle) extract. Signature, 8: 439-43.

Yu Fan, Lihong Z., Cheng J., Xiaoying L., Ru J., Lin X., Jianyun Z and Qiugang M. 2015. Protective effects of *Bacillus subtilis* ANSB060 on serum biochemistry, histopathological changes and antioxidant enzyme activities of broilers fed moldy peanut meal naturally contaminated with aflatoxins. Toxins, 7: 3330-3343.

Animal Production Research

Vol. 7, No. 1, 2018 (53-66)

University of Guilan

Effect of *Silibum marianum* seed and *Thymus vulgaris* powders and their combination on some carcass chracteristices, blood metaboiltes and immune system responses of broilers fed aflatoxin B1 contaminated diet

H. Raei[1*], R. Najafi-Gharajeh[2], M. A. Karimi-Torshizi[3]

1. MSc. Graduated student, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Urmia, Urmia, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Urmia, Urmia, Iran
3. Associate Professor, Department of Poultry Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Tarbiat Modares, Tehran, Iran

(Received: 10-05-2017 – Accepted: 26-02-2018)

Abstract

In order to assess the effects of *Silibum marianum* seed (SMS) *and Thymus vulgaris* (TM) powders on carcass traits, some blood metabolites and immune system responses of chickens which fed by aflatoxin B1 (AFB1) contaminated diet (2 mg/kg) during 1 to 21 d of age, a total of 200 male broilers (Ross 308) were used in completely randomized design with five treatments and four replicates (10 birds per replicate). The experimental dietary treatments included: 1) control diet (without contamination, negative control), 2) AFB1 contaminated diet (positive control), 3) AFB1 contaminated diet + 1% SMS, 4) AFB1 contaminated diet + 1 % TM, 5) AFB1 contaminated diet + 1% SMS + 1 % TM. The results of current study indicated that feeding AFB1 containing diet increased liver weight compared with 1 and 3 groups and supplementation of AFB1 contaminated diet with SMS attenuated effects of AFB1 on liver weight ($P<0.05$). The lowest glucose level was observed in positive control group birds ($P<0.01$). Addition of SMS, TM and their combination to AFB1 contaminated diets caused a significant decrease in plasma alanine aminotransferase concentration versus positive control group ($P<0.01$). The highest aspartate aminotransferase level was observed in the positive control group and supplementation of SMS caused this parameter restored to level similar to negative control group ($P<0.01$). Total antibody level was not significantly affected by dietary treatment ($P>0.05$), while supplementation of AFB1 contaminated diets with SMS and SMS and TM combination significantly increased lymphocyte proliferation test and respiratory burst in monocytes ($P<0.01$). In general, these results confirmed the positive impact of SMS, TM and their combination in reducing the adverse effects of AFB1 on liver weight, blood metabolites and immune system response in broilers.

Keywords: Aflatoxin B1, *Thymus vulgaris*, Broiler, *Silibum marianum*

[*]Corresponding author: hamidraei1368@yahoo.com