Journal of Animal Biology, Spring 2024; 16(3):151-164

Research Article

Comparison of the effect of *Chlorella vulgaris* microalgae extract with sodium bentonite on performance, immune response and Blood parameters of broiler chickens infected with aflatoxin

Seyed Saman Saif [1], Amir Fattah[1*], Mohsen Mohammadi Saee[2]

1- Department of Animal Sciences, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Animal Science Research Department, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Khorramabad, Iran
*Corresponding author: amir1356fattah@yahoo.com

Received: 6 September 2023 Accepted: 15 October 2023

DOI: 10.22034/ascij.2023.1995843.1531

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of *Chlorella vulgaris* microalgae extract with sodium bentonite on the performance, immune responses and blood parameters of broiler chickens fed with aflatoxin-contaminated diet. The experiment was conducted using 384 chicken pieces in a completely random design and were divided into 6 experimental groups in 4 repetitions and 16 pieces in each repetition. Experimental rations include: 1- negative control treatment (rations without aflatoxin); 2- Positive control treatment (rations contaminated with 0.5 mg/kg of aflatoxin); 3- Healthy diet + *Chlorella vulgaris* extract (0.4 g/kg feed); 4- Contaminated diet + chlorella extract (0.4 g/kg of feed); 5- Healthy diet + sodium bentonite (2 grams per kilogram of feed); 6- Contaminated diet + sodium bentonite (2 grams per kilogram of feed). In this study, functional parameters, hematological and immune parameters were determined. The results of the research showed that the addition of bentonite and chlorella food supplements to the basic diet in the final period did not affect weight gain and feed consumption, but in the initial period of growth and the whole period improved weight gain and feed consumption compared to the control group ($p < 0.05$). There was no statistically significant difference between the control treatment and the aflatoxin treatment in any of the experimental periods in the field of food conversion coefficient ($p < 0.05$). Chickens fed with 0.4 g/kg of chlorella had the best performance in terms of blood biochemical metabolites compared to other experimental treatments. Adding *chlorella* supplement to the food diet compared to the control diet showed a positive and significant effect on the antibody titer and the relative weight of the lymphatic organs ($p < 0.05$), but bentonite did not showe a significant difference with the control in the spleen, thymus, and bursa.

Keywords: Aflatoxin, bentonite, chicken, performance, *Chlorella vulgaris*

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر عصاره میکروجلبک *Chlorella vulgaris* با بنتونیت سدیم بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی آلوده به آفلاتوکسین

سید سامان سیف[۱]، امیر فتاح[۱*]، محسن محمدی ساعی[۲]

۱- گروه علوم دامی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، خرم آباد، ایران

*مسئول مکاتبات: amir1356fattah@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۳

DOI: 10.22034/ascij.2023.1995843.1531

چکیده

این مطالعه به منظور تاثیر عصاره میکروجلبک *کلرلا ولگاریس* (*Chlorella vulgaris*) با بنتونیت سدیم بر عملکرد، پاسخ‌های ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین انجام شد. آزمایش با استفاده از تعداد ۳۸۴ قطعه جوجه در قالب طرح کاملا تصادفی به ۶ گروه آزمایشی در ٤ تکرار و ۱۶ قطعه در هر تکرار تقسیم شدند. جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد منفی (جیره‌های بدون آفلاتوکسین)؛ ۲- تیمار شاهد مثبت (جیره‌های آلوده به ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین)؛ ۳- جیره سالم + عصاره *کلرلا ولگاریس* (۰/٤ گرم در کیلوگرم خوراک)؛ ٤- جیره آلوده + عصاره *کلرلا* (۰/٤ گرم در کیلوگرم خوراک)؛ ۵- جیره سالم + بنتونیت سدیم (۲ گرم در کیلوگرم خوراک) و ٦- جیره آلوده + بنتونیت سدیم (۲ گرم در کیلوگرم خوراک) بودند. در این مطالعه فراسنجه‌های عملکردی، خونی و فراسنجه‌های ایمنی تعیین شد. نتایج پژوهش نشان داد افزودن مکمل غذایی بنتونیت و *کلرلا* به جیره غذایی پایه در دوره پایانی تأثیری بر افزایش وزن و مصرف خوراک نداشت، ولی در دوره آغازین رشد و کل دوره سبب بهبود افزایش وزن و مصرف خوراک در مقایسه با گروه شاهد شد (p < ۰/۰۵). اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار آفلاتوکسین در هیچکدام از دوره‌های آزمایشی در زمینه ضریب تبدیل غذایی وجود نداشته است (p >۰/۰۵). جوجه‌های تغذیه شده با ۰/٤ گرم در کیلوگرم *کلرلا* در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بهترین عملکرد را در زمینه متابولیت‌های بیوشیمیایی خون داشته‌اند. افزودن مکمل *کلرلا* به جیره غذایی در مقایسه با جیره شاهد تأثیر مثبت و معنی‌داری بر تیتر آنتی‌بادی و وزن نسبی اندام‌های لنفاوی نشان داد (p <۰/۰۵)، ولی بنتونیت اختلاف معنی‌داری را با شاهد در مورد طحال، تیموس و بورس نشان نداد.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین، بنتونیت، جوجه‌گوشتی، عملکرد، *کلرلا ولگاریس*.

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه تولیده شده توسط قارچ‌های میکروسکوپی و کپک‌های رشد یافته بر روی مواد غذایی هستند که با داشتن خاصیت سمی حتی در مقادیر اندک نیز سبب آسیب رساندن به اندام‌های داخلی، کاهش عملکرد و در موارد حاد مرگ پرنده می‌شوند (۲۷). همچنین این مواد از طریق

فرآورده‌های طیوری نظیر گوشت و تخم‌مرغ وارد زنجیره غذایی انسان شده و زمینه‌ساز بروز مسمومیت‌ها و مشکلاتی نظیر آسیب‌های کبدی-کلیوی، سقط و یا ناهنجاری جنین و سرطان کبد می‌گردند (۳، ۹). مایکوتوکسین‌ها امروزه در تمام جیره‌های طیور وجود دارند، آفلاتوکسین‌ها گروهی از مایکوتوکسین‌ها هستند که به وسیله گونه‌های مختلف قارچی از جنس *آسپرژیلوس* به‌ویژه توسط دو گونه *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* تولید می‌شوند (۲۸). از مهم‌ترین عوارض ناشی از مسمومیت با آفلاتوکسین در طیور تضعیف سیستم ایمنی است (۲۲). در هرحال تضعیف سیستم ایمنی ناشی از مسمومیت با آفلاتوکسین می‌تواند پرنده را برای ابتلا به برخی از بیماری عفونی از قبیل کوکسیدوز، بیماری بورس عفونی و عفونت‌های تنفسی مستعد نماید و یا آنکه موجب تشدید این بیماری‌ها شود (۱۰، ۲۳). در کل آفلاتوکسین باعث ایجاد مشکلات شدید سلامتی در جوجه‌ها مانند کاهش وزن بدن، سرکوب شدید سیستم ایمنی و غیره می‌شود (۲۲). روش‌های متعددی برای کاهش آلودگی به آفلاتوکسین در منابع خوراک پرندگان صنعتی پیشنهاد شده است. از آنجایی که استفاده از آنتی-بیوتیک‌ها به عنوان مواد افزودنی به تدریج محدود شد (۲٤) و در اتحادیه اروپا از سال ۲۰۰٦ ممنوع شد. به همین دلیل، کشف کردن ترکیبات جایگزین جدید یک موضوع بسیار دارای اهمیت می‌باشد. یک جایگزین برای آنتی‌بیوتیک‌ها، ترکیبات با منشأ گیاهی است که امروزه این امر توجه زیادی به ویژه در مورد جوجه‌های گوشتی به خود جلب کرده است (۲، ۱۱). مطالعات آزمایشگاهی نشان دادند که ترکیبات با منشأ گیاهی همانند محرک‌های رشد از جمله آنتی‌بیوتیک، اسیدهای آلی، پری‌بیوتیک و پروبیوتیک‌ها در حفظ سلامت عمومی و عملکرد جوجه‌های گوشتی اثرات سودمندی دارند (۲، ٤). از میان ترکیبات با منشأ گیاهی، میکروجلبک دریایی یکی از ترکیباتی است که در سال‌های اخیر تحقیقات روی آن در حال افزایش یافتن است. ویژگی‌های مختلف ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی میکروجلبک‌ها استفاده آن‌ها را به عنوان افزودنی‌های خوراکی امکان‌پذیر کرده است. ساختار سلولی ساده این گیاهان سبب می‌شود تا آن‌ها سریع و موفقیت آمیز در شرایط مختلف محیطی رشد کنند. این ویژگی سبب شده است تا این گیاهان در اکثر اکوسیستم‌ها (دریا، رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و مرداب‌ها) که برای سایر گونه‌های گیاهی نامناسب است وجود داشته باشند. *کلرلا ولگاریس* (*Chlorella vulgaris*) یک میکروجلبک کروی و تک سلولی است که قطر آن حدود ۲ تا ۱۰ میکرومتر است و در آب رشد می‌کند (۲٦). گزارشاتی وجود دارند که نشان می‌دهند حتی زمانی که مقادیر پایینی از میکروجلبک‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اثرات مثبتی روی سیستم ایمنی (۲٦) و سوخت و ساز لیپید (۲٦) مشاهده شده است و اثرات ضدویروسی و ضدباکتریایی و بهبودی در عملکرد دستگاه گوارش و مقاومت در برابر تنش‌ها نیز گزارش شده است (۱۳)، و علاوه بر اینها منبع مناسبی از پروتئین، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها و سایر ترکیبات شیمیایی با منشاء گیاهی دارای فعالیت زیستی می‌باشند (۱). بنابراین هدف ما از اجرای این تحقیق بررسی اثر سطوح مختلف عصاره میکروجلبک *کلرلا ولگاریس* با بنتونیت سدیم بر عملکرد، پاسخ‌های ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تولید آفلاتوکسین: تولید آفلاتوکسین B1 به روش شاتول انجام گرفت (۳۰). سویه قارچی Aspergillus

parasiticus PTTC 5286 به صورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران متعلق به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد. سویه قارچی Aspergillus parasiticus PTTC 5286 در محیط کشت عصاره سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) در تکثیر و به محیط کشت جدید (برنج) منتقل شد. کشت‌های قارچی آماده شده به مدت هفت روز در دمای ۲۸ درسانتی‌گراد انکوباسیون شد. برای انتقال قارچ به برنج در هر فلاسک ارلن‌مایر (۲۵۰ میلی‌لیتر) ۲۵ گرم برنج و حدود ۱۴ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. در فلاسک‌ها با پنبه بسته شد و روی آن فویل آلومینیمی قرار گرفت و به‌مدت یک ساعت نگه‌داری شد. فلاسک‌های در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. پس از سرد شدن برنج‌های اتوکلاو شده، قسمتی از محیط کشت قارچ *آسپرژیلوس پارازیتکوس* درون پتریدیش به فلاسک حاوی برنج اضافه شد. در فلاسک بسته و محتویاتش را تکان داده شد تا همهٔ دانه‌های برنج به‌خوبی از یکدیگر جدا و تمامی دانه‌های برنج با قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس آلوده شود. در پایان، فلاسک‌های با رعایت احتیاط، روزانه به شدت تکان داده شد تا تمامی دانه‌های برنج از هم جدا شود. فلاکس‌های حاوی برنج آلوده به قارچ *آسپرژیلوس پارازیتکوس* پس از هفت روز در دمای ۱۲۱ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. برنج‌های در ظرفی تخلیه و در محیطی استریل و دور از نور خورشید قرار گرفت تا خشک و سپس آسیاب شود. جهت تعیین مقدار دقیق سم تولید شده سه نمونه به آزمایشگاه مرجعان خاتم فرستاده شد و با روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) مقدار آفلاتوکسین هر نمونه اندازه‌گیری شد.

تهیه عصاره میکروجلبک *کلرلا*: عصاره‌گیری بوسیله ۲۰ گرم از پودر خشک شده میکروجلبک *کلرلا ولگاریس* و ۲۰۰ میلی لیتر حلال متانول ۹۹/۸ درصد (نسبت ۱:۱۰) به مدت ۷۲ ساعت در درجه حرارت معمولی اتاق انجام شد. عصاره استخراج شده بوسیله کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) صاف شد، و سپس بوسیله دستگاه تبخیر کننده چرخان در خلا در دمای حدود ۵۰ درجه سانتی گراد تغلیظ شد. عصاره خشک شده تا زمان استفاده شدن در آزمایش در ۱۸- درجه سانتیگراد ذخیره شد. عصاره ذخیره شده جهت استفاده در زمان انجام آزمایش در دی متیل سولفوکسید ۵ درصد حل شد.

پرنده‌ها، شرایط محیطی و جیره آزمایشی: این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان (ایستگاه تحقیقات سراب چنگایی خرم‌آباد) انجام شد، از تعداد ۳۸۴ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه تجاری راس ۳۰۸ به مدت ۶ هفته (۴۲ روز) استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۶ تیمار در ۴ تکرار (با اعمال تنش آفلاتوکسین) و تعداد ۱۶ قطعه جوجه در هر تکرار انجام گرفت. پس از ورود جوجه‌ها به سالن و توزین آن‌ها، تعداد ۱۶ قطعه جوجه بطور تصادفی در هر پن قرار گرفتند. جوجه‌ها در سه روز اول به مدت ۲۴ ساعت در معرض روشنایی مداوم قرار گرفته و سپس برنامه نوری به مدت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی در طول روز تا پایان دوره پرورش اعمال شد. در طول انجام آزمایش، تمامی پرندگان دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند. از ابتدای ۱ روزگی تغذیه پرندگان با تیمارهای آزمایشی اعمال خواهد شد و سپس تا پایان دوره (۴۲ روزگی) پرورش ادامه داشت. تمامی جیره‌های آزمایشی توسط برنامه جیره نویسی UFFDA با سطوح پروتئین و انرژی قابل متابولیسم یکسان تنظیم شدند. برای تنظیم جیره‌ها که شامل سه مرحله آغازین (۱۰-۰ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و

پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) است، از مواد مغذی ارائه شده در جدول NRC (۱۹۹۴) برای مواد خوراکی و هم چنین احتیاجات ارائه شده در راهنمای پرورش سویه راس ۳۰۸ استفاده شد (جدول ۱). جیره‌های آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد منفی (جیره های بدون آفلاتوکسین)؛ ۲- تیمار شاهد مثبت (جیره های آلوده به ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین)؛ ۳- جیره سالم + عصاره *کلرلا ولگاریس* (۰/۴ گرم در کیلوگرم خوراک)؛ ۴- جیره آلوده + عصاره *کلرلا ولگاریس* (۰/۴ گرم در کیلوگرم خوراک)؛ ۵- جیره سالم + بنتونیت سدیم (۲ گرم در کیلوگرم خوراک)؛ ۶- جیره آلوده + بنتونیت سدیم (۲ گرم در کیلوگرم خوراک) بودند.

خوراک مصرفی: خوراک هر تکرار در ابتدای هر هفته وزن و در درون کیسه‌های نگهداری مربوط به هر تکرار ریخته می‌شد و سپس به تدریج در طول هفته به دانخوری‌های مربوطه افزوده می‌شد. سپس در پایان هر هفته از سن جوجه‌ها خوراک باقیمانده بعد از الک کردن جهت تفکیک پوشال و مدفوع احتمالی موجود در آن توزین می‌شد. به علت این‌که در طول دوره آزمایش در بعضی واحدهای آزمایشی تلفات وجود داشت، بنابراین محاسبه دقیق خوراک مصرفی بر اساس روز مرغ برای هر واحد محاسبه گردید که تعداد روز مرغ و دان مصرفی سرانه با رابطه زیر محاسبه گردید:

مجموع سن جوجه‌های تلف‌شده + (تعداد روزهای دوره × تعداد جوجه در پایان هر دوره) = روز مرغ

مقدار خوراک مصرفی روزانه = روز مرغ/مقدار خوراک مصرفی در یک دوره

تعداد روزهای دوره × خوراک مصرفی روزانه = مقدار خوراک مصرفی هر جوجه در یک دوره

افزایش وزن بدن: در ابتدای دوره پرورش، جوجه‌های هر تکرار وزن شد و میانگین وزن آن‌ها محاسبه گردید. در پایان هر هفته جوجه‌های هر واحد آزمایشی بصورت گروهی بعد از ۳ ساعت گرسنگی وزن و میانگین وزن هر جوجه در آن سن محاسبه گردید. برای محاسبه افزایش وزن در هر مقطع زمانی، اختلاف وزن ابتدا و انتهای هفته پرورش تعیین گردید. افزایش وزن هر جوجه بر حسب گرم با رابطه زیر محاسبه شد: افزایش وزن (گرم) = تعداد جوجه/(وزن جوجه ابتدای هفته - وزن جوجه انتهای هفته)

ضریب تبدیل خوراک: ضریب تبدیل خوراک با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

افزایش وزن (گرم) = (میانگین افزایش وزن هر جوجه (گرم))/(میانگین مصرف خوراک هر جوجه (گرم))

نمونه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمیایی پلاسمای خون: در روز پایانی دوره پژوهش به‌منظور بررسی متابولیت‌های خون پلاسما، از هرتکرار دو قطعه پرنده انتخاب و با استفاده از سرنگ یکبار مصرف ۵ میلی-لیتر خون از سیاهرگ زیر بال خون‌گیری انجام شد، و نمونه خون به لوله‌ها EDTA انتقال داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسما جدا گردید، و تا زمان آزمایش در فریزر با دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری گردید. مقدار پروتئین‌کل، آلبومین، گاما-گلوتامیل ترانسفراز (GGT)، گلوکز، نیتروژن اوره‌ای خون (BUN)، کراتینین، کلسترول، تری گلیسیرید، LDL و HDL، کلسیم و فسفر با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون) با دستگاه اتوآنالایز (آلیسون (ALYSON-300)- ۳۰۰، آمریکایی) اندازه-گیری شدند. همچنین آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) (2.6.1.2EC)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) (2.6.1.1EC) اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های ایمنی: در روز ۲۸ پرورش یک قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی انتخاب و مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از گلبول قرمز شسته شده گوسفندی در بافر فسفات استریل به ماهیچه سینه سمت راست تزریق شد. سپس در روزهای ۳۵ و ۴۲ روزگی مقدار ۲ میلی لیتر از بال سمت چپ جهت تعیین پاسخ‌های پادتن توسط تست میکروهماگلوتیناسیون از این پرندگان خونگیری انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات مورد نظر با استفاده مدل آماری طرح کاملاً تصادفی (CRD) با استفاده از روند PROC GLM توسط نرم‌افزار SAS 9.2 (SAS Institute, 2003) آنالیز شد. $Yij=\mu + Ti + \varepsilon ij$. در این مدل Yij: نماد متغیر وابسته، μ: بیانگر میانگین جامعه برای متغیر مورد نظر، Ti: نشانکر اثر ثابت i امین تیمار و εij: خطای جزء مربوط به هر مشاهده برای هر متغیر است. از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین های تیمارها برای هر متغیر به کار گرفته شد. در تمام آزمون‌ها سطح حداکثر احتمال قابل قبول برای خطای نوع اول ۵ درصد در نظر گرفته شد.

جدول۱- ترکیب و اجزای تشکیل دهنده جیره در مراحل آغازین، رشد و پایانی

Table 1. The composition and components of the ration in the initial, growth and final stages

Ration Components (percentage)	Initial	Growth	Final
Corn	55.46	59.10	62.92
Soy Flour (43.8 percent)	36.30	31.92	27.51
Soy Oil	2	2.93	3.82
Fish Powder	2.5	2.5	2.5
Monocalcium Phosphate	1.27	1.21	1.10
Calcium Carbonate	1.20	1.11	0.98
Sodium Bbicarbonate	0.01	0.01	0.01
Choline	0.05	0.05	0.05
Salt	0.21	0.19	0.18
Mineral Supplement[1]	0.25	0.25	0.25
Vitamin Supplement[2]	0.25	0.25	0.25
D-L Methionine	0.26	0.25	0.21
L-lysine Hydrochloride	0.21	0.20	0.18
L-Threonine	0.03	0.03	0.04
Total	100	100	100
Composition of nutrients			
Metabolizable energy (kcal/kg)	2925	3025	3125
Crude protein (g/kg)	223	203	186
Calcium (g/kg)	9.8	9.3	8.6
Available phosphorus (g/kg)	4.8	4.5	4.2
Digestible methionine (g/kg)	5.5	5.1	4.5
Digestible methionine + cysteine (g/kg)	8.5	7.9	7.25
Digestible lysine (g/kg)	11.5	10.5	9.4

Digestible threonine (g/kg)	7.3	6.8	6.3
Digestible tryptophan (g/kg)	2.7	2.1	1.87

[1]هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی شامل: ۸۰ گرم آهن، ۱۰ گرم مس، ۲ گرم کبالت، ۵۰ گرم روی، ۶۰ گرم منگنز، ۱ گرم ید. [2]هر کیلوگرم مکمل مواد ویتامینی شامل: ۱۵۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۳ گرم ویتامین K3، ۲ گرم ویتامین B1، ٤ گرم ویتامین B2، ۳ گرم ویتامین B6، ۰/۰۱۵ گرم ویتامین B12، ۲ گرم نیاسین، ۱۰ گرم پانتوتنیک اسید، ۱ گرم اسید فولیک، ۲۵۰ گرم کولین، ۱۰۰ گرم سلنیم.

[1]Each kilogram of mineral supplements includes: 80 g of iron, 10 g of copper, 2 g of cobalt, 50 g of zinc, 60 g of manganese, 1 g of iodine. [2]Each kilogram of vitamin supplements includes: 15000000 international units of vitamin A, 1500000 international units of vitamin D3, 15000 international units of vitamin E, 3 grams of vitamin K3, 2 g of vitamin B1, 4 g of vitamin B2, 3 g of vitamin B6, 015 0.0 g of vitamin B12, 2 g of niacin, 10 g of pantothenic acid, 1 g of folic acid, 250 g of choline, 100 g of selenium

نتایج

افزایش وزن: اثر تیمارهای مختلف بر افزایش وزن در سه دوره آغازین، رشد و پایانی در جدول ۲ نشان داده شده است. افزودن مکمل غذایی بنتونیت و *کلرلا* به جیره غذایی پایه در دوره پایانی تأثیری بر افزایش وزن بدن نداشت، ولی در دوره آغازین، رشد و کل دوره سبب بهبود افزایش وزن در مقایسه با گروه شاهد شد ($p < ۰/۰۵$). تغذیه جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین به جوجه‌های گوشتی به میزان ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در مقایسه با جیره آزمایشی شاهد سبب کاهش وزن گیری جوجه‌ها در طی دوره‌های پرورشی شد ($p < ۰/۰۵$) به طوری که در کل دوره شاخص افزایش وزن بدن به میزان ۱۸ درصد کاهش نشان داد. مکمل‌سازی جیره غذایی با بنتونیت و *کلرلا* در جیره جوجه‌های آلوده، کاهش وزن ناشی از آفلاتوکسین را بطور کامل جبران نکرد، اما سبب بهبود افزایش وزن جوجه‌ها در مقایسه با جوجه‌های دریافت کننده جیره غذایی آلوده با آفلاتوکسین شد ($p < ۰/۰۵$).

مصرف خوراک: اثر تیمارهای مختلف بر افزایش وزن در سه دوره آغازین، رشد و پایانی در جدول ۳ نشان داده شده است. افزودن مکمل غذایی بنتونیت و *کلرلا* به جیره غذایی پایه در دوره پایانی تأثیری بر مصرف خوراک نداشت، ولی در دوره آغازین، رشد و کل دوره سبب بهبود مصرف خوراک در مقایسه با گروه شاهد شد ($p <۰/۰۵$). تغذیه جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین به جوجه‌های گوشتی در مقایسه با جیره آزمایشی شاهد سبب کاهش خوراک مصرفی جوجه‌ها در طی دوره های پرورشی شد ($p <۰/۰۵$) به طوری که در کل دوره مصرف خوراک حدودا به میزان ۱۷ درصد کاهش نشان داد. مکمل سازی جیره غذایی با بنتونیت و *کلرلا*، کاهش وزن ناشی از آفلاتوکسین را بطور کامل جبران نکرد، اما افزودن این ترکیبات به جیره غذایی سبب بهبود افزایش مصرف خوراک در مقایسه با جوجه‌های دریافت کننده جیره غذایی آلوده با آفلاتوکسین شد ($p <۰/۰۵$).

ضریب تبدیل غذایی: اثر تیمارهای مختلف بر ضریب تبدیل غذایی در سه دوره آغازین، رشد و پایانی در جدول ٤ نشان داده شده است. افزودن مکمل غذایی بنتونیت و *کلرلا* به جیره غذایی پایه در دوره رشد و پایانی تأثیری بر ضریب تبدیل غذایی نداشت، و فقط در دوره آغازین سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد شد ($p < ۰/۰۵$).

فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون: اثرات تیمارهای آزمایشی روی متابولیت‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهند که تا حد زیادی جوجه‌های تغذیه شده با ۰/٤ گرم در کیلوگرم عصاره *کلرلا ولگاریس* در

مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بهترین عملکرد را در زمینه متابولیت‌های بیوشیمیایی خون داشته‌اند. از طرف دیگر جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های آلوده با آفلاتوکسین دارای ضعیف‌ترین نتایج در این زمینه بودند. در مورد گلوکز، تیمارهای *کلرلا* با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت، و بیشترین غلظت گلوکز را نشان داد (p <۰/۰۵). در مورد کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL داده‌ها نشان داد که تیمار *کلرلا* با سایر تیمارها تفاوت معنی دار داشت و کمترین غلظت را به دست آورد (p <۰/۰۵). در مورد HDL و پروتئین‌کل نیز تیمار *کلرلا* در مقایسه با سایر تیمارها بالاترین مقدار را به دست آورد و از نظر آماری معنی‌دار بود (۰/۰۵> p). در مورد آنزیم AST داده‌ها نشان می‌دهند که تیمار آفلاتوکسین بالاترین غلظت این آنزیم را ایجاد کرده است. در مورد آلبومین، اوره و آنزیم GGT، هیچکدام از تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (p >۰/۰۵). داده‌های متابولیت‌های بیوشیمیایی خون نشان می‌دهند که *کلرلا* توانسته است به میزان معنی‌داری اثرات منفی تنش آفلاتوکسین روی متابولیت‌های بیوشیمیایی خون را کاهش دهد و این مقادیر را به حد نرمال نزدیک کند.

فراسنجه‌های ایمنی و وزن نسبی اندام‌های لنفاوی:

نتایج مربوط به جیره‌های آزمایشی بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی و تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی در جوجه‌های گوشتی در جدول ٦ ارائه شده است. میزان تیتر آنتی بادی و وزن نسبی طحال، تیموس و بورس فابرسیوس در جوجه‌های گوشتی به صورت معنی داری تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفتند (p <۰/۰۵). افزودن مکمل *کلرلا* به جیره غذایی در مقایسه با جیره شاهد تأثیر مثبت و معنی داری بر تیتر آنتی‌بادی و وزن نسبی اندام های لنفاوی نشان داد ولی بنتونیت اختلاف معنی‌داری را با شاهد در مورد طحال، تیموس و بورس نشان نداد. در آزمایش حاضر، وزن نسبی بورس فابرسیوس، طحال و میزان آنتی‌بادی تولیدی علیه گلبول‌های قرمز گوسفند در گروهی که آفلاتوکسین B1 دریافت کرده بود کمتر از سایر گروه‌ها بود. جیره غذایی حاوی آفلاتوکسین در مقایسه با جیره شاهد سبب کاهش تیتر آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن گلبول‌های گوسفندی از ۵/۵ به ۳/٤ شد. همچنین جیره آلوده با آفلاتوکسین در مقایسه با جیره شاهد وزن نسبی بورس فابرسیوس را از ۰/۱۸ به ۰/۰۹ و وزن تیموس را از ۰/۷۵ به ۰/۵٦ کاهش داد و وزن طحال را از ۰/۱۵ به ۰/۱۸ افزایش داد.

جدول ۲- اثر تیمارهای مختلف بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of different treatments on weight gain of broiler chickens

Breeding period	Negative control (-Aflatoxin)	Positive control (+Aflatoxin)	*Chlorella*	Aflatoxin + Chlorella	Bentonite	Aflatoxin + Bentonite	*p*	SEM
0-14 days old	271.07b	246.8d	288.2a	257.9bcd	270bc	257cd	0.002	0.39
15-28 days old	823a	651.76b	856.87a	817.28a	820a	679b	0.006	3.5
29-42 days old	1029.9	859.2	1061.3	970.4	1020	894	0.36	7.04
0-42 days old	2139a	1753c	2176a	2039ab	2135a	1827bc	0.004	6.86

a-d: حروف متفاوت در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (p < ۰/۰۵).

a-d: Different letters in each row have a significant difference (p < 0.05).

جدول ۳- اثر تیمارهای مختلف بر مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی

Table 3. Effect of different treatments on feed consumption of broiler chickens

Breeding period	Negative control (-Aflatoxin)	Positive control (+Aflatoxin)	*Chlorella*	Aflatoxin + Chlorella	Bentonite	Aflatoxin + Bentonite	*p*	SEM
0-14 days old	435.9a	379.17c	400.18bc	387.50bc	434.06a	407.6b	0.0001	0.78
15-28 days old	1506a	1231.16b	1373.97ab	1400ab	1500a	1323ab	0.06	6.11
29-42 days old	2237.2	2202.2	1988.7	2068.4	2240.1	2009	0.84	17.72
0-42 days old	4157.4a	3485.2b	37413b	3802.5b	4160a	3747b	0.002	9.22

جدول ٤- اثر تیمارهای مختلف بر ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی

Table 4. Effect of different treatments on food conversion ratio of broilers

Breeding period	Negative control (-Aflatoxin)	Positive control (+Aflatoxin)	*Chlorella*	Aflatoxin + Chlorella	Bentonite	Aflatoxin + Bentonite	*p*	SEM
0-14 days old	1.60a	1.53ab	1.39b	1.49ab	1.60a	1.58a	0.04	0.004
15-28 days old	1.83	1.90	1.60	1.71	1.82	1.94	0.24	0.009
29-42 days old	2.19	2.56	1.87	2.18	2.20	2.24	0.48	0.02
0-42 days old	1.93ab	1.98a	1.72b	1.87ab	1.94ab	2.04a	0.09	0.006

جدول ۵- اثر تیمارهای مختلف بر روی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون جوجه‌های گوشتی

Table 5. The effect of different treatments on blood biochemical parameters of broiler chickens

Breeding period	Negative control (-Aflatoxin)	Positive control (+Aflatoxin0	*Chlorella*	Aflatoxin + Chlorella	Bentonite	Aflatoxin + Bentonite	*p*	SEM
Glucose (mg/dL)	205b	185d	225a	200bc	206b	192cd	0.001	0.42
Urea (mg/dL)	3.45	3.85	3.2	3.51	3.45	3.7	0.46	0.02
Cholesterol (mg/dL)	135a	126ab	123b	122b	134a	129ab	0.02	0.33
Triglycerides (mg/dL)	62a	54bc	53bc	47c	60ab	56ab	0.005	0.26
HDL (mg/dL)	55ab	51b	59ab	60a	56ab	59ab	0.21	0.29
LDL (mg/dL)	64a	60abc	54bc	52c	63ab	57abc	0.04	0.31
Total protein (g/dL)	4.12ab	3.80b	5.10a	4.17ab	4.10ab	4.00b	0.15	0.03
Albumin (g/dL)	2.43	2.32	2.62	2.41	2.55	2.38	0.38	0.01
AST (U/L)	352cd	387a	349d	361bc	350cd	370b	0.0001	0.41
ALT (U/L)	4.00c	5.33b	4.33c	4.67bc	4.25c	6.13a	0.0001	0.02
GGT (U/L)	21	22.50	20.60	21.50	21.20	22.15	0.92	0.14

جدول ٦- اثر تیمارهای مختلف بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی

Table 6. The effect of different treatments on the immune system of broilers

Organs	Negative control (Aflatoxin-free)	Positive control (aflatoxin)	Chlorella	Aflatoxin + Chlorella	Bentonite	Aflatoxin + bentonite	*p*	SEM
SRBC	5.5b	3.42e	7.12a	4.80bc	4.62cd	3.87de	0.25	0.03
Spleen	0.15abc	0.18a	0.11c	0.14bc	0.13bc	0.16ab	0.02	0.001
Thymus	0.75ab	0.56d	0.81a	0.64cd	0.78ab	0.12de	0.001	0.002
Bursa	0.18ab	0.09e	0.21a	0.14cd	0.16bc	0.12de	0.001	0.001

بحث

مهمترین اثر آفلاتوکسین بر روی پرندگان کاهش نرخ رشد است. نتایج نشان داد که آفلاتوکسین در سطح ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به طور قابل توجهی عملکرد پرنده را تحت تأثیر قرار داد. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های دنلی و همکاران (۷) که روی جوجه‌های گوشتی انجام شد مطابقت دارد. نتایج

تحقیق حاضر نشان داد که تغذیه جیره حاوی آفلاتوکسین به طور معنی‌داری مصرف خوراک را کاهش داد و متعاقب آن وزن بدن نیز کاهش یافت. در تأیید یافته‌های ما دوئر و همکاران (۸) گزارش کردند که تغذیه آفلاتوکسین به جوجه‌های گوشتی سبب کاهش افزایش وزن در مقایسه با گروه شاهد شد. کاهش مصرف خوراک در جیره آلوده به آفلاتوکسین ممکن است مربوط به کاتابولیسم پروتئین باشد که سبب آسیب به کلیه و سبب نقص در فیلتراسیون گلومرولی می‌شود (۳٤). اثرات مضر آفلاتوکسین بر عملکرد رشد با کاهش مورد استفاده قرار گرفتن انرژی و پروتئین مرتبط است (۳٦)، احتمالاً این موضوع به عنوان پیامد از بین رفتن بازده متابولیک و هضم پرندگان است. شبانی و همکاران (۳۱) در مطالعه تغذیه آفلاتوکسین در جوجه‌های گوشتی گزارش کردند که پرندگان تغذیه شده با ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین افزایش وزن کمتری نسبت به تیمار شاهد داشتند. آفلاتوکسین می‌تواند با کاهش فعالیت آنزیم‌های دستگاه گوارش قابلیت دسترسی پروتئین را کاهش دهد و در نهایت تأثیر منفی بر وزن پرنده داشته باشد (۳۲). همچنین سایر پژوهشگران گزارش کردند که کاهش رشد ناشی از حضور آفلاتوکسین در جیره می‌تواند با کاهش مصرف خوراک و یا کاهش بازدهی تبدیل خوراک در ارتباط باشد و با گزارش‌های پیشین مبنی بر تأثیر منفی آفلاتوکسین بر عملکرد مطابقت دارد (۱۷ و ۲۵). میکروجلبک *کلرلا* دارای مزیت‌های بسیار مثبتی مانند افزایش رشد، فعالیت ضداکسیدانی، بازیابی مجدد رشد و تعدیل سیستم ایمنی می‌باشد (۱۳)، که ناشی از غلظت بالای پروتئین خام موجود در این ترکیب (۷۸/۱ درصد) است و به دلیل اینکه حاوی تمام اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد (۱)، می‌تواند جایگزین مناسبی برای کنجاله سویا و پودر ماهی به میزان ۵ تا ۱۰ درصد بدون اینکه هیچگونه اثر سوئی شود. در پژوهشی میکروجلبک *کلرلا* مورد استفاده به طور مؤثری اثرات منفی آفلاتوکسین B1 بر عملکرد را تعدیل کرد. *کلرلا* به میزان ۱٤ درصد کاهش وزن‌گیری ناشی از آفلاتوکسین را جبران کرد و در کل دوره کاهش مصرف خوراک را به میزان ۹۱ درصد مصرف خوراک گروه شاهد رساند. مطالعه سبحانی و همکاران (۳۳) نشان داد که استفاده از *کلرلا* پیرنوییدوزا همراه با AFB1 سبب افزایش عملکرد رشد گردید که البته این افزایش وابسته به دز این ترکیبات بود. جلبک *کلرلا* غنی از مواد مغذی نظییر اسیدآمینه‌ها، گاما لینولئیک اسید، فیتوسانین‌ها، توکوفرول‌ها، کلروفیل و بتاکاروتن و ویتامین‌ها (نظیر تیامین، ریبوفلاوین، پیریدکسین، ویتامین B12، ویتامین C) است (۱٦). می‌تواند دلیل بهبود وزن مشاهده شده در این پژوهش باشد. جلبک *کلرلا* یک منبع غنی از اسیدهای چرب ضروری گاما لینولئیک اسید است که سبب بهبود عملکرد میشود (۱). نوکنو و همکاران (۲۱) گزاش دادند که فقدان سلولز در ساختار سلولی جلبک سبب می‌شود که به راحتی هضم شود، بنابراین اشتهایی پرنده را افزایش و بهبود مصرف خوراک و قابلیت هضم مواد مغذی می‌شود که می‌تواند دلیل افزایش مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی باشد. آفلاتوکسین B1 سبب کاهش غلظت گلوکز در گروه آلوده شده به آفلاتوکسین در مقایسه با گروه شاهد شد (۳۳). همچنین داده‌های مشابه ای توسط سنتیکومار و همکاران (۲۹) گزارش شد که نفروپاتی دیابتیک را با *کلرلا پیرنویدوزا* درمان کردند و اثرات مثبتی را روی سلامتی موش های آلبینو مشاهده کردند. در ارزیابی آسیب‌های کبدی ناشی از آفلاتوکسین از تعیین سطح آنزیم‌ها استفاده می‌شود، AST، ALT و ALP حساس‌ترین مارکرهای استفاده شده در تشخیص

آسیب‌های کبدی هستند. زیرا آن‌ها بعد از آسیب سلولی آزاد شده و سپس وارد گردش خون می‌شوند. در مطالعه حاضر فعالیت AST و ALT به عنوان معرف‌های فعالیت کبد در پرندگان تغذیه شده با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین به طور معنی‌داری افزایش یافت (p <۰/۰۵). افزایش فعالیت آنزیم‌های AST و ALT به علت حضور آفلاتوکسین در جیره به وسیله دافالا و همکاران (٦) گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. به طور معمول AST و ALT به سرم خون محدود نمی‌شوند بلکه بیشتر در سلول وجود دارند و به علت آسیب‌های سلولی وارد پلاسما می‌شوند، یک دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی AST و ALT در این مطالعه می‌تواند آسیب هپاتوسیت‌ها باشد که به واسطه آفلاتوکسین ایجاد شده است (۱۵). کاهش ظرفیت ضداکسیداسیونی، افزایش اکسیداسیون لیپوپروتئین و فعالیت های آنزیم‌های کبدی ممکن است ناشی از انواع متفاوتی از تخریب‌های ایجاد شده در بافت‌های کبدی در میان جوجه‌های گوشتی تیمار شده با AFB1 باشد. هرچند، زخم‌های کبدی با مقادیر متفاوتی از تخریب چربی و واکوئل در سلول‌های کبدی در طول مطالعات هیستولوژیکی مشاهده شده است که تایید کننده مشاهده سایر پژوهشگران می‌باشد (۳۸). در میان گروه‌های تیمار شده با *کلرلا*، یک بهبودی وابسته به دز در ساختار کبد مشاهده شد. استفاده از *کلرلا* (۵۰۰ میلی‌گرم) در جوجه‌های گوشتی دارای تخریب کبدی القاء شده توسط AFB1 تنها به میزان ناچیزی سبب تخریب ساختار سلول‌های کبدی شد. در مطالعه حاضر پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی آفلاتوکسین در مقایسه با گروه شاهد مقدار گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL، LDL، توتال پروتئین و آلبومین کمتری داشتند. این نتایج با یافته‌های مطالعات قبلی (١٤) که در ارتباط با کاهش توتال پروتئین به علت حضور سطوح مختلف آفلاتوکسین در جیره جوجه-های گوشتی انجام شد، مطابقت دارد. کاهش سطح توتال پروتئین به علت حضور آفلاتوکسین در جیره ممکن است ناشی از نقص در انتقال اسیدهای آمینه و رونوشت برداری از mRNA به دلیل مهار آنزیم RNA- پلیمراز وابسته به DNA باشد که بدین ترتیب از سنتز DNA و در نهایت از سنتز پروتئین در بدن پرندگان جلوگیری می‌شود (۱۹)، که در سرم به صورت توتال پروتئین نمایان می‌شود. آفلاتوکسین‌ها سنتز اسیدهای آمینه، پروتئین، اسیدهای نوکلئیک و همچنین سنتز پروتئین و چربی در کبد را تحت تأثیر قرار می‌دهند. کاهش سطح کلسترول با کاهش لیپوژنز سازگار است. از طرفی آفلاتوکسین در انتقال چربی از کبد اختلال ایجاد کرده و همچنین مانع از بیوسنتز کلسترول کبدی می‌شود (۲۰). بنابراین می‌توان بیان کرد که آفلاتوکسین از طریق تأثیر بر انتقال اسیدهای چرب از کبد و سنتز و انتقال تری‌گلیسریدها از کبد، غلظت کلسترول را در سرم کاهش می‌دهد. افزایش اوره سرم از علایم منعکس کننده کارکرد نامناسب کلیه‌ها هستند. در پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی آفلاتوکسین در مقایسه با گروه کنترل سطح اوره افزایش یافت و به عبارتی بالاترین مقدار اوره در جیره‌های حاوی آفلاتوکسین مشاهده شد که با نتایج مطالعه گلاهن (۱۲) مطابقت دارد. مطالعه سبحانی و همکاران (۳۳) نشان داد که استفاده از *کلرلا* پیرنوییدوزا همراه با AFB1 سبب افزایش یافتن عملکرد رشد شد که البته وابسته به دز این ترکیبات بود. نتایج این آزمایش با گزارش‌های قبلی که بیان کرده بودند آفلاتوکسین سبب کاهش وزن نسبی اندام‌های بورس فابرسیوس و تعداد فولیکول‌های آن (۵) و علیه گلبول‌های قرمز گوسفند و اختلال در سیستم ایمنی با کاهش پروتئین‌های ایمنی‌ساز M، G و A و نسبت آلبومین به گلوبولین (۳۷) می‌شود،

مطابقت داشت. لیکن نتایج دیگر محققین (۳۷) مبنی بر افزایش وزن نسبی اندام‌های لنفاوی در جوجه اردک را تأیید نمی‌کند. دلیل این امر احتمالا می‌تواند ناشی از تأثیر گونه حیوان و خلوص آفلاتوکسین باشد. مکمل‌سازی جیره غذایی با بنتونیت در مقایسه با جیره آلوده با آفلاتوکسین تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های ایمنی داشت و سبب افزایش وزن نسبی بورس فابرسیوس، تیموس و تیتر آنتی‌بادی بر علیه گلبول‌های قرمز گوسفند و کاهش وزن طحال شد. منافی (۱۸) در آزمایشی با بررسی تغذیه جیره غذایی آلوده به ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین و ۰/۷۵ و ۱ درصد بنتونیت سدیم بر جوجه‌های گوشتی، بهبود اثرات منفی آفلاتوکسین بر وزن بورس فابرسیوس و تیتر آنتی‌بادی به وسیله مکمل بنتونیت را گزارش کردند که مطابق با نتایج آزمایش حاضر بود. تضعیف سیستم ایمنی به وسیله آفلاتوکسین می‌تواند ناشی از مهار سنتز آنتی‌بادی از طریق اثرات سم بر لنفوسیت‌ها باشد که منجر به تجزیه و سنتز آنتی‌بادی و کاهش نیمه‌عمر آنتی‌بادی (۳۹) و یا تحلیل برگچه‌های اپیتلیوم بورس فابرسیوس و تخریب کورتکس تیموس، در نتیجه القاء افزایش فعالیت آنزیم لیزوزوم (۳۵) در جوجه‌های گوشتی باشد. اختلال در کارکرد برگچه‌های اپیتلیوم بورس فابرسیوس سبب نقص جدی در سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در هر دو پاسخ سلولی و همورال می‌شود (۳۵) چراکه برگچه‌های اپیتلیوم بورس فابرسیوس نقش اساسی در معرفی آنتی‌ژن به جمعیت سلول‌های لینفوییدی ایفاء می‌کند.

نتیجه‌گیری

در کل نتایج پژوهش نشان داد افزودن مکمل غذایی بنتونیت و *کلرلا* به جیره غذایی پایه سبب بهبود افزایش وزن، مصرف خوراک می‌شود، اما تاثیری روی ضریب تبدیل غذایی نداشت. جوجه‌های تغذیه شده با ۰/٤ گرم در کیلوگرم عصاره *کلرلا ولگاریس* در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بهترین عملکرد را در زمینه متابولیت‌های بیوشیمیایی خون داشته‌اند. افزودن مکمل *کلرلا* به جیره غذایی تأثیر مثبت بر تیتر آنتی‌بادی و وزن نسبی اندام‌های لنفاوی نشان داد.

منابع

1. Agustini T.W., Suzery M., Sutrisnanto D., Hadiyanto W.F.M. 2015. Comparative study of bioactive substances extracted from fresh and dried Spirulina sp. *Procedia Environmental Sciences*, 23:282-289.

2. Alcicek A.H., Bozkurt M., Cabuk M. 2003. The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*, 33(2):89-94.

3. Al-Ruwaili M., Alkhalaileh N.I., Herzallah S.M., Rawashdeh A., Fataftah A., Holley, R. 2018. Reduction of aflatoxin b1 residues in meat and organs of broiler chickens by lactic acid bacteria. *Pakistan Veterinary Journal*, 38(3):325-328.

4. Bozkurt M., Kucukyilmaz K., Catli A.U., Cinar, M. 2008. Growth performance and carcass yield of broiler chickens given antibiotic, mannan oligosaccharide and dextran oligosaccharide supplemented diets. *International of poultry Science*, 7(10):969-977

5. Campbell T.C., Hayes J.R. 1976. The role of aflatoxin metabolism in its toxic lesion. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 35:199-222.

6. Dafalla R., Yagi A., Adam, S.E. 1987. Experimental aflatoxicosis in hybro-type chicks: sequential changes in growth and serum constituents and histopathological changes. *Veterinary and Human Toxicology*, 29(3):222-226.

7. Denli M., Blandon J.C., Guynot M.E., Salado S., Perez, J.F. 2009. Effects of dietary AflaDetox on performance, serum biochemistry, histopathological changes, and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B1. *Poultry Science*, 88(7):1444-1451.

8. Doerr J.A., Huff W.E., Wabeck C.J., Chaloupka G.W., May J.D., Merkley, J.W. 1983. Effects of low level chronic aflatoxicosis in broiler chickens. *Poultry Science*, 62(10):1971-1977.

9. Fratamico P.M., Bhunia A.K., Smith J.L., 2008. Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology. Horizon Scientific Press, Norofolk, UK978-1-898486-52-57.

10. Gabal M. A., Azzam, A.H. 1998. Interaction of aflatoxin in the feed and immunization against selected infectious diseases in poultry. II. Effect on one- day- old layer chicks simultaneously vaccinated against Newcastle disease, infectious bronchitis and infectious bursal disease. *Avian Pathology*, 27(3):290-295.

11. Garcia V., Catala-Gregori P., Hernandez F., Megias M.D., Madrid, J. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(4):555-562.

12. Glahn R.P. 1993. Mycotoxins and the avian kidney: assessment of physiological function. *World's Poultry Science Journal*, 49(3):242-250.

13. Gupta M., Dwivedi U.N., Khandelwal, S. 2011. C-Phycocyanin: an effective protective agent against thymic atrophy by tributyltin. *Toxicology Letters*, 204(1), 2-11.

14. Jan Van Rensburg C.J., Van Rensburg C.E.J., Van Ryssen J.B.J., Casey N.H. and Rottinghaus G.E. 2006. In vitro and in vivo assessment of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens. *Poultry Science*, 85(9):1576-1583.

15. Jayasri A., Srikanth N.R. 2016. Combined effect of aflatoxin and ochratoxin on liver enzymes of broilers and amelioration using adsorbents. *Journal Lives Science*, 7:26-29.

16. Kumar V., Bhatnagar A.K., Srivastava, J.N. 2011. Antibacterial activity of crude extracts of Spirulina platensis and its structural elucidation of bioactive compound. *Journal of Medicinal Plants Research*, 32:7043-7048.

17. La Y., Sun M., He Y., Lei J., Han Y., Wu Y., Zhang B. 2022. Mycotoxins binder supplementation alleviates aflatoxin B1 toxic effects on the immune response and intestinal barrier function in broilers. *Poultry Science*, 101(3):101683.

18. Manafi M., Umakantha M., Ali M.N., Swamy H.N. 2012. Study of the combination effects of aflatoxin and T-2 Toxin on performance parameters and internal organs of commercial broilers. *Global Veterinaria*, 8(4):393-396.

19. Marquardt R.R., Frohlich, A.A. 1992. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *Journal of Animal Science*, 70(12):3968-3988.

20. Maurice D.V., Bodine A.B, Rehrer, N.J. 1983. Metabolic effects of low aflatoxin B1 levels on broiler chicks. *Applied and environmental microbiology*, 45(3):980-984.

21. Nakono T., Yamaguchi T., Sato M., Iwama, G.K. 2003. Biological effects of carotenoids in fish. In International Seminar Effective Utilization of Marine Food Resource, Songkhla, Thailand, (pp. 1-15).

22. Okoye J.O.A., Gugnani H.C., Okeke C.N. 1989. Pulmonary Infections due to Aspergillus flavus in turkey poults and goslings: lungeninfektionen durch Aspergillus flavus bei Puten-und Gansenküken. *Mycoses*, 32(7):336-339.

23. Ortatatli M., Oguz, H. 2001. Ameliorative effects of dietary clinoptilolite on pathological changes in broiler chickens during aflatoxicosis. *Research in Veterinary Science*, 71(1):59-66.

24. Plail R. 2006. The innovative power of probiotics-A successful attempt to identify the most important characteristics of a probiotic product for poultry. *Poultry International*, 45(7):34-37.

25. Rashidi N., Khatibjoo A., Taherpour K., Akbari-Gharaei M., Shirzadi, H. 2020. Effects of licorice extract, probiotic, toxin binder and poultry litter biochar on performance, immune function, blood indices and liver histopathology of broilers exposed to aflatoxin-B1. *Poultry Science*, 99(11):5896-5906.

26. Rezvani M., Shivazad M., Zaghari M., Moravej H. 2012. A survey on Chlorella vulgaris effects on performance and cellular

ameliorate the hepatotoxic effects of aflatoxin B1 in broiler chickens. *Pakistan Veterinary Journal*, 38(1):13-18.

34. Tessari E.N.C., Oliveira C.A., Cardoso A.L., Ledoux D.R., Rottinghaus, G.E. 2006. Effects of aflatoxin B1 and fumonisin B1 on body weight, antibody titres and histology of broiler chicks. *British poultry Science*, 47(3):357-364.

35. Tung H.T., Smith J.W., Hamilton P.B. 1971. Aflatoxicosis and bruising in the chicken. *Poultry Science*, 50(3):795-800.

36. Verma J., Swain B.K., Johri T. S. 2002. Effect of various levels of aflatoxin and ochratoxin A and combinations thereof on protein and energy utilisation in broilers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(12):1412-1417.

37. Wan X.L., Yang Z.B., Yang W.R., Jiang S.Z., Zhang G.G., Johnston S.L., Chi F. 2013. Toxicity of increasing aflatoxin B1 concentrations from contaminated corn with or without clay adsorbent supplementation in ducklings. *Poultry Science*, 92(5):1244-1253.

38. Yogeswari R., Murugesan S., Jagadeeswaran A. 2012. Hepatoprotective effect of oyster mushroom *(Pleurotus sajor caju)* in broilers fed aflatoxin. *International Journal of Veterinary Science*, 1(3):104-107.

39. Yunus A.W., Bohm J. 2011. A simple method for producing aflatoxin b1 on rice medium for use in experimental animal feeds. *Journal of Animal and Plant Sciences,* 21(2): 303-304.

immunity in broiler. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 3(1):10-15.

27. Saleemi M.K., Khan M.Z., Khan A., Hameed M.R., Khatoon A., Abadin Z.U. Hassan, Z.U. 2017. Study of fungi and their toxigenic potential isolated from wheat and wheat bran. *Toxin Reviews*, 36(1):80-88.

28. Sana S., Anjum A.A., Yaqub T., Nasir M., Ali M.A., Abbas M. 2019. Molecular Approaches for Characterization of Aflatoxin Producing Aspergillus flavus Isolates from Poultry Feed. *Pakistan Veterinary Journal*, 39(2):169-172.

29. Senthilkumar T., Sangeetha N., Ashokkumar N. 2012. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and renoprotective effects of Chlorella pyrenoidosa in diabetic rats exposed to cadmium. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 22(8):617-624.

30. Shotwell O.L, Hesseltine C.W, Stubblefield R.D., Sorenson W.G. 1966. Production of aflatoxin on rice. *Applied Microbiology* 14(3):418-425.

31. Shabani A., Dastar B., Khomeiri M., Shabanpur B. Hasani S. 2010. Effect of nanozeolite on performance, some blood parameters and ileal bacteria population in broiler chicks fed aflatoxin contaminated diets. *Research on Animal Production*, 1(2):58-68.

32. Smith J.W. and Hamilton P.B. 1970. Aflatoxicosis in the broiler chicken. *Poultry Science*, 49(1):207-215.

33. Subhani Z., Shahid M., Hussain F., Khan, J.A. 2018. Efficacy of Chlorella pyrenoidosa to