Journal of Animal Biology, Winter 2025; 17(2):199-212

ISSN: 1735-9724

Research Article

The Effect of Bentonite and Aflatoxin Absorbing Compounds on the Liver and Blood Parameters of Ross Breed Broiler Chickens

Mahsa Mohareri, Reza Vakili*, Nafise Rahmanian Sharif Abad

Department of Animal Science, Kashmar Branch, Islamic Azad University, Kashmar, Iran
*Corresponding author: reza.vakili@iau.ac.ir

Received: 28 April 2024 Accepted: 1 July 2024

DOI:

Abstract

The purpose of this research was to investigate the effects of bentonite and some aflatoxin absorbing compounds on the liver and blood parameters in Ross broiler chickens. The experiment was conducted in the form of a completely randomized design using 280 one-day-old broilers in 7 treatments and 4 replications. The experimental treatments included 7 groups including the control sample and the sample containing corn contaminated with aflatoxin and treatments with different percentages of bentonite and other compounds. In three phases of 10, 24, and 42 days, one sample was randomly selected from each treatment, slaughtered, and blood sampling was done. Then, the level of liver enzymes, cholesterol, triglyceride, uric acid, and glucose were measured by an auto-analyzer and the livers were checked for damage. Results showed that the enzyme aspartate aminotransferase and trans amino and glucose had a significant difference ($p < 0.05$). No significant difference was observed in the factors of cholesterol, triglycerides, and uric acid. Liver in The second treatment (infected corn) suffered from inflammation, bleeding and necrosis in all three sampling periods, and the rest of the treatments except one sample in the fifth treatment (1.5% bentonite and 5% copper sulfate) were healthy at 42 days. In general, in this research, the greatest effect of bleeding and necrosis of the liver was observed in the second treatment containing contaminated corn, while in other treatments with processed bentonite, the positive effect of absorbing toxins by bentonite was observed.

Keywords: Bentonite, Aflatoxin, Liver damage, Blood parameters, Broilers.

زیست‌شناسی جانوری، سال هفدهم، شماره دوم، زمستان ۱۴۰۳، صفحات ۲۱۲-۱۹۹

ISSN:۱۷۳۵-۹۷۲۴

مقاله پژوهشی

اثر بنتونیت و ترکیبات جاذب آفلاتوکسین بر کبد و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی نژاد راس

مهسا محرری، رضا وکیلی*، نفیسه رحمانیان شریف‌آباد

گروه علوم دامی، واحد کاشمر، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشمر، ایران

*مسئول مکاتبات: reza.vakili@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۱

DOI:

چکیده

هدف از این تحقیق، بررسی اثرات بنتونیت و برخی ترکیبات جاذب آفلاتوکسین بر کبد و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی نژاد راس بود. آزمایش در قالب یک طرح به صورت کاملاً تصادفی و با استفاده از ۲۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه در هفت تیمار و چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۷ گروه شامل نمونه شاهد و نمونه حاوی ذرت آلوده به آفلاتوکسین و تیمارهایی با درصدهای مختلف بنتونیت و سایر ترکیبات بود. در سه فاز ۱۱، ۲۴ و ۴۲ روزگی از هر تیمار یک نمونه به صورت تصادفی انتخاب، کشتار و خون‌گیری و نمونه‌گیری از کبد انجام شد. سپس میزان آنزیم‌های کبدی و میزان کلسترول و تری گلیسرید و اوریک اسید و گلوکز توسط دستگاه اتوانالایزر اندازه‌گیری و کبدها از لحاظ داشتن ضایعات بررسی شدند. نتایج نشان داد که آانزیم آسپارات امینوترانسفراز و ترانس‌آمینو و گلوکز اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < ۰/۰۵$). در فاکتورهای کلسترول و تری‌گلیسرید و اوریک اسید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و همین طور بافت کبد در تیمار دوم (ذرت آلوده) در هر سه دوره نمونه‌گیری دچار التهاب و خونریزی و نکروز شده و بقیه تیمارها به جز یک نمونه در تیمار پنجم (۱/۵ درصد بنتونیت و ۵ درصد سولفات مس) در ۴۲ روزگی سالم بودند. بطور کلی در این تحقیق بیشترین اثر خونریزی و نکروز کبد در تیمار دوم حاوی ذرت آلوده مشاهده شد که در سایر تیمارهای دارای بنتونیت فرآوری شده اثر مثبت جذب سموم توسط بنتونیت مشاهده شد.

کلمات کلیدی: بنتونیت، آفلاتوکسین، آسیب‌های کبدی، فراسنجه های خونی، جوجه‌های گوشتی.

مقدمه

با توجه به اهمیت منابع دامی در تغذیه انسان و مزایای تامین پروتئین از طریق فرآورده‌های دامی، لزوم توجه هرچه بیشتر به صنعت پرورش دام و طیور و عوامل موثر در آن، اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. برطبق برآوردهای انجام شده، بیش از ۲۵ درصد غله دنیا به سموم قارچی شناخته شده آلوده هستند (٤). این امر در ایران نیز به دلیل تنوع شرایط محیطی، زراعی و همچنین شرایط نامناسب ذخیره و حمل‌ونقل به‌ویژه برای محصول دانه ذرت کاملاً صادق می‌باشد. از میان انواع سموم قارچی شناخته شده، تعداد کمی از آن‌ها در صنعت مرغداری مطرح بوده که می‌توان به آفلاتوکسین‌ها، اکراتوکسین‌ها، تریکوتسین‌ها،

زرالنون‌ها و سیترینین‌ها اشاره کرد. آفلاتوکسین بسیار سمی بوده و از بیش‌ترین میزان بیماری‌زایی برخوردار می‌باشد که توسط *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و *آسپرژیلوس فلاووس* تولید می‌شوند. از جمله مهم‌ترین آفلاتوکسین‌ها، انواع B1، B2، G1 و G2 بوده که سمی‌ترین آنها آفلاتوکسین B1 می‌باشد و این قارچ‌ها، قارچ غالب در دانه ذرت کپک‌زده می‌باشد (۲، ۱۷). کاهش میزان ویتامین D در فرم ۲۵ هیدروکسی در گردش خون می‌تواند ناشی از مهار سنتز این هورمون در کبد باشد و کاهش ویتامین D در فرم ۱/۲۵ دی هیدروکسی در پلاسما ممکن است ناشی از کاهش سنتز ۲۵ هیدروکسی ویتامین D در کبد و یا کاهش سنتز ۲۵ و ۱ دی هیدروکسی ویتامین D در کلیه باشد (۱۸). برای مقابله با اثرات مخرب مایکوتوکسین‌ها تاکنون روش‌های مختلفی ارائه شده است که برخی از آن‌ها برای مراحل برداشت مطمئن‌ترین روش برای کاهش اثرات سموم قارچی، افزودن مواد جاذب به خوراک‌های آلوده، جهت پیوند با سموم قارچی و کاهش جذب آنها از دستگاه گوارش می‌باشد. عمده‌ترین این مواد شامل بنتونیت‌ها، زئولیت‌ها، آلومینوسیلیکات‌ها و گلوکومانان‌های حاصل از مخمرها می‌باشد که به‌صورت تجاری در دسترس می‌باشند (۱۱). میزان اتصال سموم به ترکیبات فوق به‌طور قابل ملاحظه‌ای متغیر می‌باشد. بعضی از این مواد از قبیل مواد رسی، تنها با آفلاتوکسین‌ها اتصال ایجاد نموده و سموم دیگر را در دستگاه گوارش بدون تغییر باقی می‌گذارند ولی بعضی از این مواد از جمله دیواره سلولی مخمر یا همان گلوکومانان استریفیه شده بر علیه محدوده‌ی وسیعی از سموم قارچی مؤثر می‌باشد (۲). بنتونیت ماده‌ای معدنی از دسته رس‌ها یا شبه‌رس‌هاست و از کانی‌های متورم شونده تشکیل شده است که عموماً حاوی مونتموریلونیت و به مقدار کم بیدلیت است (۱۳). بنتونیت رسی آب زیادی جذب می‌کند و با افزایش تورم به ماده‌ای ژلاتینی تبدیل می‌شود که ذرات خوراک را به هم می‌چسباند و طبیعت خوراک پلت شده را بهبود می‌بخشد (۲۰). با افزودن رس‌ها و از جمله بنتونیت‌ها به خوراک طیور سرعت عبور مواد مغذی از دستگاه گوارش کاهش و بدین وسیله هضم و جذب مواد مغذی افزایش می‌یابد (۲٤). علاوه بر این، استفاده از بنتونیت باعث جذب فلزات سنگین، آفلاتوکسین، باکتری، عوامل سمی و ضد تغذیه ای می‌شود و میزان دسترسی آنها را برای جذب در دستگاه گوارش کاهش می‌دهد (۲۱). افزودن بنتونیت به جیره، قابلیت هضم مواد مغذی و رشد در جوجه‌های گوشتی را بهبود می‌بخشد (۱۵). هدف از این مطالعه اثرات بنتونیت وبرخی ترکیبات جاذب آفلاتوکسین بر کبد و فراسنجه‌های خونی جوجه گوشتی نژاد راس مورد بررسی قرار گرفت.

محصولات تا حمل و انبارداری قابل توصیه است و نیز برخی روش‌ها در مدیریت تغذیه مزارع پرورش دام و طیور کاربرد دارند (۱۳). اخیرا در خصوص رفع این مشکل، از مواد جذب کننده خنثی، به صورت تغذیه‌ای در جیره غذایی جهت جدا کردن مایکوتوکسین‌ها و کاهش جذب آن‌ها از مجاری معده‌ای، روده‌ای (گوارشی)، استفاده کرده‌اند که باعث کاهش اثرات سمی در طیور و چهارپایان و خارج کردن این متابولیت‌های قارچی از داخل تولیدات حیوانات شده‌اند. روش‌های متنوعی جهت کنترل و کاهش اثرات سموم قارچی از قبیل غیرفعال کردن سموم با میکروب یا دما، جداسازی فیزیکی مواد خوراکی آلوده، اشعه دادن، آمونیاکی کردن و تجزیه با اوزون وجود دارند ولی جهت استفاده کاربردی توسعه نیافته‌اند چرا که این روش‌ها نیاز به هزینه بالایی دارد (۱٤).

مواد و روش‌ها

تهیه جیره‌های آزمایشی: جیره‌های غذایی برای دوره‌های مورد بررسی ۱۰، ۲۴ و ۴۲ بر اساس احتیاجات غذایی جوجه‌های گوشتی NRC (۱۹۹۴) تهیه و تنظیم گردید (۱۳). میزان آفلاتوکسین در جیره شاهد پایین تر از حد قابل تشخیص آن (کمتر از یک میکروگرم در هر کیلوگرم جیره) بود. دانه ذرت کپک زده از کارخانجات محلی خوراک دام تهیه و به منظور افزایش رشد کپک، به مدت دو ماه در رطوبت نسبی ۲۰ درصد ذخیره و سپس جهت توقف رشد کپک، به طور کامل خشک گردید. جیره‌های غذایی حاوی ذرت کپک زده یا آفلاتوکسین با جایگزینی ذرت آلوده به قارچ با ذرت سالم تهیه گردید. جهت اجرای آزمایش تعداد ۲۸۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ از شرکت مرغ فریمان خریداری شد و در یک طرح آزمایشی با۷ تیمار شامل: (۱) جیره بدون آفلاتوکسین (گروه شاهد)؛ (۲) جیره شاهد به همراه ذرت آلوده به آفلاتوکسین (۳) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت (٤) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۷۵ درصد زغال فعال (۵) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۰/۵ درصد سولفات مس (٦) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۱درصد دیواره سلولی مخمر (۷) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصدبنتونیت فرآوری شده با سولفات مس + ۷۵ درصد زغال فعال + ۱ درصد دیواره سلولی مخمر تهیه گردید. جوجه‌ها پس از ورود به سالن و توزین به ۲۸ گروه ۱۰ قطعه‌ای با میانگین وزنی مشابه تقسیم و در داخل پن‌ها قرار داده شدند. جیره‌های مربوط به هر واحد آزمایشی در سینی‌های مخصوص دانخوری ریخته شد و این سینی‌ها در پن‌های مربوط به خود گذاشته شدند. در هفته اول روزانه دو مرتبه آب آبخوری‌ها تعویض و فضولات داخل سینی‌های دانخوری تخلیه و دان تازه در سینی‌ها ریخته شد. از هفته دوم تا آخر دوره روزانه سه مرتبه آب آبخوری‌ها تعویض و دان به دانخوری‌ها اضافه شد. آب و غذا به صورت آزاد در دسترس جوجه‌ها قرار داده شد. برنامه واکسیناسیون با توجه به توصیه دامپزشک اجرا شد (جدول ۱). جهت مصرف بهتر واکسن‌های آشامیدنی حدود ۲-۱/۵ ساعت قبل از تجویز آنها، آب آشامیدنی جوجه‌ها قطع می‌شد و سپس محلول واکسن و آب در اختیار جوجه‌ها قرار می‌گرفت. به منظور تهیه نمونه خون، در انتهای ۱۱، ۲٤ و ٤۲ روزگی و پس از ۸ ساعت گرسنگی از هر تکرار ۱ قطعه جوجه با میانگین وزنی مشابه، انتخاب شدند و به کمک سرنگ‌های ۲ میلی لیتری از ورید بال پرنده، نمونه خون تهیه و جهت تعیین مقدار گلوکز، تری گلیسرید، کلسیم، فسفر، اسید اوریک و کلسترول وسدیم و پتاسیم و آنزیم‌های کبدی به آزمایشگاه فرستاده شد. بعد از خوگیری از تمام نمونه‌ها که از هر تکرار یک نمونه گرفته شد، لوله‌ها را داخل داستگاه سانتریفیوژ گذاشته و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ قرار داده و پس از گذشت زمان و تمام شدن کار دستگاه با نوک سمپلر لخته چسبیده شده به دیوار لوله‌ها رو جدا کرد و بعد سرم هارو از داخل لوله با سمپلر تخلیه کرده و داخل میکروتیوپ ریخته و بلافاصله داخل یخ قرار داده تا سرم‌ها فاسد نشوند. سپس این سرم‌ها را در داخل دستگاه اتوآنالایزر مدل A. Biosystem۱۵ قرار داده شد (۲).

کشتار و تجزیه لاشه: در روزهای ۱۱، ۲٤ و ٤۲ پرورش مرغ، از هر قفس ۱ قطعه جوجه که نزدیک به میانگین کل قفس بودند انتخاب و ذبح گردید. پس از کشتار پوست را جدا کرده و تک تک اجزاء و بافت‌ها را جدا کرده و بوسیله ترازوی ۰/۱ وزن گیری شدند و

بصورت درصدی از کل وزن بدن ثبت گردید و بوسیله فرمول درصد وزن هریک از اجزاء اندازه‌گیری شد. در مرحله کشتار و تجزیه لاشه، پس از وزن‌گیری کبد با ترازوی ۱درصد گرمی، قطعه‌ای از کبد به اندازه ۲×۲ سانتی متر جدا شد و در فرمالین ۱۰درصد به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفت و بعد از گذشت ۱ روز دوباره فرمالین را عوض کرده و در فرمالین ۱۰درصد مجدد قرار داده شد، سپس قطعاتی از بافت‌های پایدار شده انتخاب و پس از برش دادن و گذراندن مراحل آماده سازی بافتی و تهیه بلوک‌های پارافینی، مقاطعی به قطر ۵ میکرون تهیه شده و با روش هماتوکسیلین-ائوزین جهت آزمایش‌های هیستوپاتولوژیک رنگ-آمیزی شدند (۷).

تجزیه و تحلیل آماری: طرح آزمایشی مورد استفاده در این تحقیق کاملا تصادفی و به هر تیمار ۳ تکرار اختصاص داده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و به روش آنالیز مدل‌های خطی و مقایسه میانگین به روش دانکن انجام گرفت

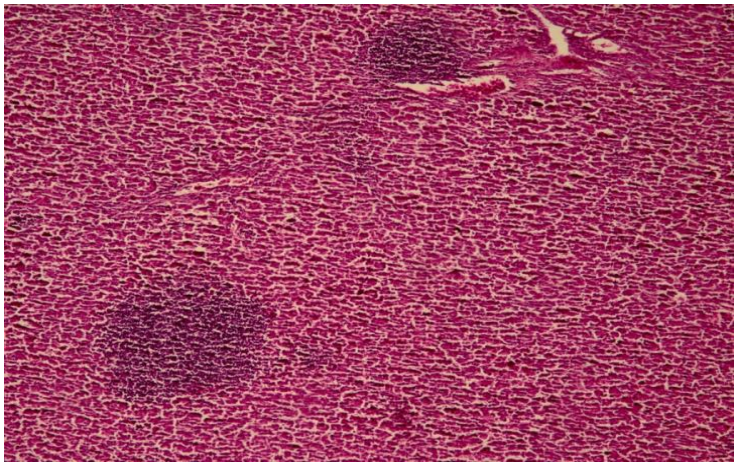
جدول ۱- برنامه واکسیناسیون جوجه‌های گوشتی در دوره پرورش

Table 1- Vaccination schedule for broiler chickens during the breeding period

Type of vaccine	Prescription age	Vaccination method
Bronchitis	3 days old	Eye
Newcastle Oily	3 days old	Injection
Oily flu	3 days old	Injection
Newcastle B1	9 days old	Beverage
Gambro	12 days old	Beverage
Bronchitis	16 days old	Eye

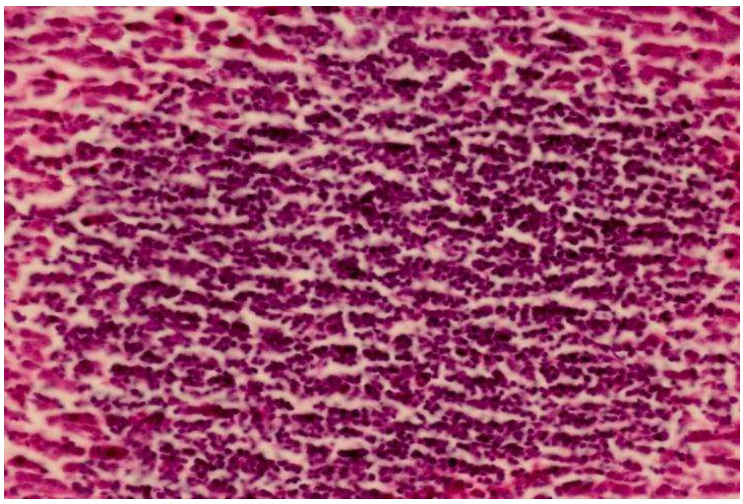
نتایج

در بررسی بافت کبد از نظر ظاهری، اندازه کبد و نوزن کبدها در گروه‌های مورد مورد مطالعه به جزء گروه ۲ که شامل سم آفلاتوکسین B1 بوده تفاوت قابل توجهی با یکدیگر نداشتند. در سن ۱۱ روزگی و ۲٤ روزگی و ٤۲ روزگی پرورش، کبد تیمار دوم که جیره غذایی حاوی آفلاتوکسین B1 بوده و هیچ گونه جاذب آفلاتوکسین در جیره نبوده، کانون‌های خونریزی شدید در بافت کبد و آسیب سلولی کبد یا دژنراسیون و التهاب شدید سلول‌ها دیده شده همچنین واکوئل‌های توخالی در داخل سلول‌های کبدی مشاهده شد. در سن ۲٤ روزگی و ٤۲ روزگی در تیمار دوم نکروز یا مرگ سلول‌های کبدی با فقدان هسته‌های آن و تغییرات هسته در آنها مشاهده شده که بیشترین و شدیدترین حالت در روز ٤۲ روزگی بوده است (شکل‌های ۱ تا ۵). نتایج حاصل از بررسی فاکتورهای خونی کلسیم و گلوکز در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده است. جدوال ۳ تا ۸ به ترتیب اثر جاذب‌های مختلف آفلاتوکسین B1 بر میزان غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول، آنزیم‌های AST، ALT، و اسید اوریک پرنده در دورهای مخلف پرورش را نشان می‌دهند.



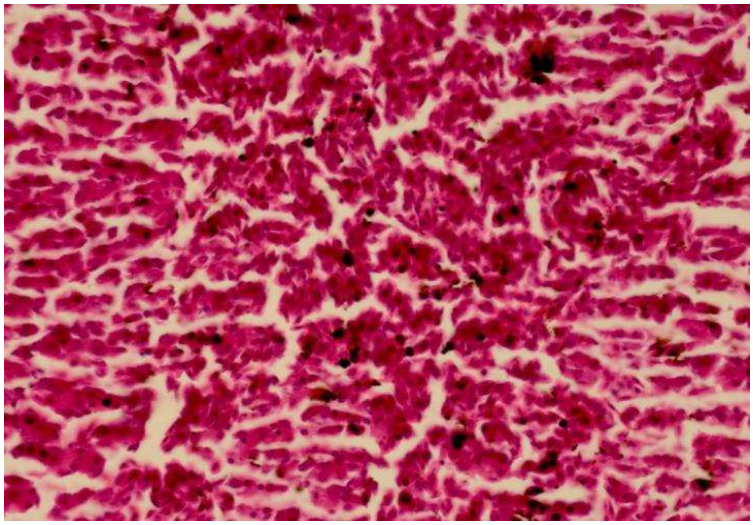
شکل۱- نفوذ سلول‌های لنفوسیت به صورت ۲ کانون با اندازه‌های مختلف در بافت کبد در گروه ۲ تیمار آفلاتوکسین در روز ٤٢ روزگی

Fig. 1. Lymphocyte infiltration in the form of 2 foci with different sizes in the liver tissue in group 2 of aflatoxin-containing treatment on day 42 of age



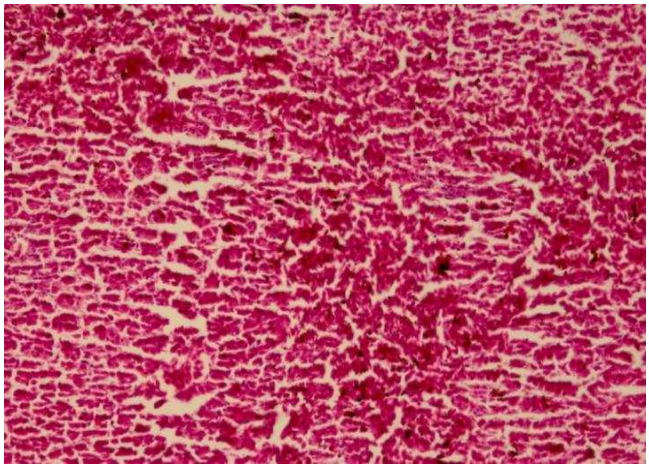
شکل ۲- جایگزینی لنفوسیت‌ها در نواحی نکروزی در تیمار ۲

Fig. 2. Replacement of lymphocytes in necrotic areas in treatment 2



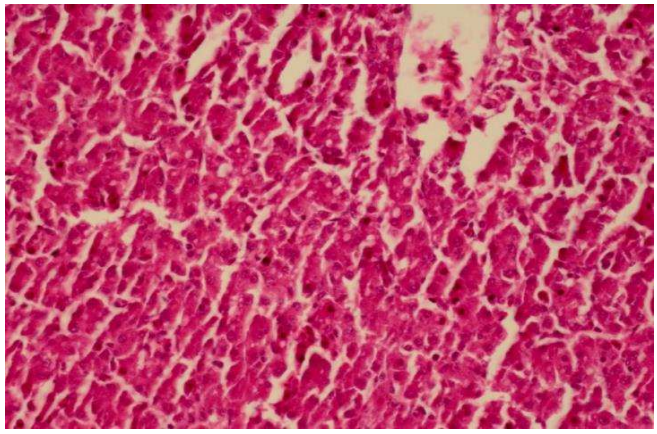
شکل۳- خونریزی شدید و نکروز سلول‌های کبدی در بافت کبد در تیمار ۲ در ٤٢ روزگی

Fig. 3. Severe hemorrhage and necrosis of liver cells in liver tissue in treatment 2 at 42 days of age



شکل ٤- خونریزی در بافت کبد، در بخشی از مناطق هسته از سلول خارج شده و در یک ناحیه کوچک جمع شده در تیمار ۲ در ۲٤ روزگی

Fig. 4. Hemorrhage in liver tissue, in part of the nuclear regions removed from the cell and concentrated in a small area in treatment 2 at 24 days of age



شکل۵- آسیب سلول‌های کبدی با واکوئل‌های روشن در داخل سیتوپلاسم سلول‌های کبدی در تیمار ۲ در سن ۱۱ روزگی

Fig. 5. Hepatocyte damage with bright vacuoles within the cytoplasm of hepatocytes in treatment 2 at 11 days of age.

جدول ۲- اثر جاذب‌های مختلف آفلاتوکسین B1 بر میزان غلظت کلسیم پرنده در دوره‌های مخلف پرورش

Table 2. Effect of different aflatoxin B1 adsorbents on the calcium concentration of birds in different breeding periods

Breeding period	Treatment1	Treatment2	Treatment3	Treatment4	Treatment5	Treatment6	Treatment7	SEM	*p*
Phase 1 (Beginning)	1.22^{a}	1.14^{a}	1.22^{a}	1.19^{a}	1.18^{a}	1.22^{a}	1.22^{a}	0.097	0.995
Phase 2 (Growth)	1.21^{a}	1.07^{c}	1.21^{ab}	1.06^{cd}	1.09^{abc}	1.09^{abc}	0.93^{d}	0.227	0.00
Phase 3 (Final)	1.31^{a}	1.22^{b}	1.23^{b}	1.23^{b}	1.26^{ab}	1.21^{bc}	1.15^{c}	0.014	0.00

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمالی ۵٪ می‌باشد. تیمار عبارتند از (۱) جیره بدون آفلاتوکسین (گروه شاهد)؛ (۲) جیره شاهد به همراه ذرت آلوده به آفلاتوکسین (۳) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت (٤) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۷۵ درصد زغال فعال (۵) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۰/۵ درصد سولفات مس (٦) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۱ درصد دیواره سلولی مخمر (۷) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت فرآوری شده با سولفات مس+۷۵ درصد زغال فعال + ۱ درصد دیواره سلولی مخمر می‌باشد.

Different letters in each row indicate the difference between the means at the 5% probability level. Treatments were (1) aflatoxin-free diet (control group); (2) Control diet with aflatoxin-contaminated corn (3) Control diet + aflatoxin-contaminated corn + 1.5% bentonite (4) Control diet + aflatoxin-contaminated corn + 1.5% bentonite + 75% activated charcoal (5) Control diet + aflatoxin-contaminated corn + 1.5% bentonite + 0.5% copper sulfate (6) Control diet + aflatoxin-contaminated corn + 1.5% bentonite + 1% yeast cell wall (7) Control diet + aflatoxin-contaminated corn + 1.5% bentonite processed with copper sulfate + 75% activated charcoal + 1% yeast cell wall.

جدول ۳- اثر جاذب‌های مختلف آفلاتوکسین B1 بر میزان غلظت گلوکز پرنده در دوره‌های مخلف پرورش

Table 3. Effect of different aflatoxin B1 adsorbents on the glucose concentration of birds in different breeding periods

Breeding period	Treatment1	Treatment2	Treatment3	Treatment4	Treatment5	Treatment6	Treatment7	SEM	*p*
Phase 1	251.09[a]	262.27a	265.09a	233.81a	256.12a	243.25a	238.69a	7.651	0.073
Phase 2	229.09[b]	243.41ab	242.04ab	247.79	266.87a	269.68a	251.13ab	7.93	0.027
Phase 3	223.94[ab]	216.88ab	222.71ab	222.71ab	212.38ab	207.59b	237.75a	6.080	0.022

جدول ٤- اثر جاذب‌های مختلف آفلاتوکسین B1 بر میزان غلظت تری‌گلیسیرید پرنده در دوره‌های مختلف پرورش

Table 4. Effect of different aflatoxin B1 adsorbents on bird triglyceride concentration in different rearing periods

Breeding period	Treatment1	Treatment2	Treatment3	Treatment4	Treatment5	Treatment6	Treatment7	SEM	*p*
Phase 1	46.67b	58.88b	57.60ab	103.97ab	134.19ab	58.31a	72.08ab	18.24	0.028
Phase 2	58.23ab	70.52a	39.35bc	47.96abc	31.70bc	31.17a	65.37a	5.46	0.000
Phase 3	64.33a	28.71a	70.67a	54.48a	40.21a	35.60a	57.94a	13.97	0.319

جدول ٥- اثر جاذب‌های مختلف آفلاتوکسین B1 بر میزان غلظت کلسترول پرنده در دورههای مخلف پرورش

Table 5. Effect of different aflatoxin B1 adsorbents on bird cholesterol concentration in breeding periods

Breeding period	Treatment1	Treatment2	Treatment3	Treatment4	Treatment5	Treatment6	Treatment7	SEM	*p*
Phase 1	161.61ab	159.8ab	136.05b	155.05ab	183.64a	158.22ab	144.88ab	9.831	0.073
Phase 2	134.12a	141.86a	131.27a	126.74a	133.34a	106.87a	162.70a	12.83	0.170
Phase 3	131.55a	135.31a	129.98a	131.34a	129.98a	131.34a	133.83a	8.55	0.985

جدول ٦- اثر جاذب‌های مختلف آفلاتوکسین B1 بر میزان غلظت AST پرنده در دوره‌های مختلف پرورش

Table 6. Effect of different aflatoxin B1 adsorbents on bird AST concentration during brearing periods

Breeding period	Treatment1	Treatment2	Treatment3	Treatment4	Treatment5	Treatment6	Treatment7	SEM	*p*
Phase 1	233.41a	246.30a	214.88b	217.07a	244.12a	214.71a	207.97a	10.76	0.099
Phase 2	190.99a	236.75a	245.38a	245.52a	235.30a	246.61a	246.06a	17.69	0.118
Phase 3	301.78a	315.86a	337.87a	287.53a	256.71a	331.85a	307.82a	37.75	0.776

جدول ۷- اثر جاذب‌های مختلف آفلاتوکسین B1 بر میزان غلظت ALT پرنده در دوره‌های مخلف پرورش

Table 7. Effect of different aflatoxin B1 adsorbents on bird ALT concentration during breeding periods

Breeding period	Treatment1	Treatment2	Treatment3	Treatment4	Treatment5	Treatment6	Treatment7	SEM	*p*
Phase 1	92.01abc	98.27a	81.91abc	78.39ab	96.47ab	79.27abc	73.37bc	4.14	0.001
Phase 2	44.45a	42.69a	46.66a	43.01a	40.78a	39.33a	43.72a	3.47	0.818
Phase 3	16.01a	18.60a	18.82a	23.66a	21.71a	21.57a	18.52a	4.17	0.879

جدول ۸- اثر جاذب‌های مختلف آفلاتوکسین B1 بر میزان غلظت اوریک اسید پرنده در دوره‌های پرورش

Table 8. Effect of different aflatoxin B1 adsorbents on uric acid concentration in birds during breeding periods

Breeding period	Treatment1	Treatment2	Treatment3	Treatment4	Treatment5	Treatment6	Treatment7	SEM	*p*
Phase 1	96.99c	93.78c	96.07c	106.51ab	107.35a	99.93bc	98.05c	1.58	0.000
Phase 2	107.48a	115.18a	100.47a	105.23a	115.38a	107.51a	109.8a	3.86	0.128
Phase 3	108.19a	109.61a	104.40ab	96.75bc	63.75d	100.12ab	88.07c	2.19	0.000

بحث

در نتایج بافت‌شناسی، کانون‌های دژنره شده در سلول‌های کبدی جوجه‌های مسموم بیشتر مشاهده شد. تیمارهای دیگر هسته درشت و سیتوپلاسم یکنواخت و سلول کبدی نرمال دیده شد و اثری از نکروز کبد یا خونریزی و تغییرات هسته‌ای و سلولی نبود به جز یک مورد در تیماری که بنتونیت با سولفات مس فراوری شده و در روز ٤٢ پرورش خونریزی خفیف مشاهده شد. کبد اندام هدف اثرات سمی آفلاتوکسین بوده و در دوزهای پایین آفلاتوکسین اندازه و وزن کبد سریعتر از اندام‌های دیگر تحت تاثیر قرار می‌گیرد. بر اساس مشاهدات ضایعات هیستوپاتولوژیک در بافت کبد در جوجه‌های ٤٢ روزه که هیچ گونه جاذبی در جیره آنها استفاده نشده بود گزارش شد که سلول‌های کبدی دچار تغییر چربی بسیار شدیدی بودند به طوری که در اغلب سلول‌ها، واکوئل‌های درشت چربی تمام سیتوپلاسم سلول را فرا گرفته است. بافت کبد منظره توری مانندی پیدا کرده است. در سن ٢٤ روزگی در کبد جوجه‌ها نکروز و خونریزی وجود نداشت .ضایعات مشاهده شده در جوجه‌های با سن ٢٤ روزگی بسیار شبیه به ضایعات جوجه‌های ٤٢ روزه بود اما وسعت و تعداد کانون‌های در حال رژنره شدن سلول‌های کبدی کمتر بود. مواد جاذب آفلاتوکسین B1 که در جیره غذایی تیمارها قرار گرفته موجب کاهش و خنثی-سازی اثر آفلاتوکسین شده و آفلاتوکسیکوزیس در بافت کبدی مشاهد نشد. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده در فاز اول پرورش (آغازین) غلظت-های مختلف کلسیم تاثیر معنی‌داری بر تیمارها با جیره‌های مختلف نداشته و در تمامی تیمارها یکسان بود. هر چند که تیمار دوم (جیره شاهد به همراه ذرت آلوده به آفلاتوکسین) نسبت به سایر تیمارها کلسیم کمتری داشته ولی باز هم از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در فاز دوم پرورش (رشد) که در روز ٢٤ طرح نمونه‌گیری شد، کمترین مقدار کلسیم در تیمارهفت (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت فرآوری‌شده با سولفات مس+ ۷۵ درصد زغال فعال + ۱درصد دیواره سلولی مخمر) دیده شد در حالیکه در این فاز بالاترین مقدار کلسیم در تیمار شاهد مشاهده گردید هرچند که اختلاف آن با تیمارهای ۳ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت)، و ٦ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۱درصد دیواره سلولی مخمر) معنی‌دار نبود. داده‌های بدست آمده در این فاز نشان داد که جیره‌های حاوی آفلاتوکسین تاثیر منفی بر غلظت کلسیم سرم خون داشته اند ولی افزودن بنتونیت چه بصورت معمولی و چه فراوری شده (تیمارهای ۳ و ۵) تا حدی باعث بهبود افزایش کلسیم و یا جبران ان در خون شده است. بهترین نتیجه در تیمار ۳ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت) بوده که به

لحاظ عددی با تیمار شاهد و تیمار پنجم برابر و اختلاف معنی‌داری نداشته است. در فاز سوم (پایانی) روندی مشابه فاز ۲ گزارش گردید بطوریکه داده‌های بدست آمده در این فاز نیز نماینگر آن است که وجود آفلاتوکسین در جیره سبب کاهش غلظت کلسیم سرمی می‌گردد (تیمار شاهد) ولیکن افزودن توکسین بایندر بویژه بنتونیت این اثر را تقلیل داده است. تیمار حاوی بنتونیت فراوری شده نسبت به سایر توکسین بایندرها اثر بالاتری از خود نشان داد و تیمار ۵ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۰/۵ درصد سولفات مس) با با تیمار ۱ (جیره بدون آفلاتوکسین یا گروه شاهد) از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت، در حالیکه سایر تیمارها با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند. نتایج جدول ۲ نشان داد که وجود آفلاتوکسین در جیره درفازهای مختلف پرورشی نیمچه‌های گوشتی سبب کاهش غلظت کلسیم در سرم شد. نتایج نشان داد که افزایش آفلاتوکسین در جیره سبب تغییر متابولیسم ویتامین D می‌شود و به دنبال ان متابولیسم کلسیم نیز در بدن دچار اختلال می‌شود. در پی این اختلالات چرخه پتاسیم و کلسیم در بدن مختل می‌گردد. افزودن آفلاتوکسین باعث نرمی استخوان پرندگان شده است. از طرفی افزودن آفلاتوکسین در جیره باعث تغییر در ویزگی‌های استخوان تیبا می‌شود هر چند که بررسی وضعیت استخوان فوق در آزمایش ما صورت نگرفت ولی به طور کل محققین دلیل تاثیر آفلاتوکسین را بر روی تغییر شکل استخوان تیبا به واسطه تاثیر این سم بر روی متابولیسم کلسی فلور و سنتز استخوان‌های بدن مرتبط دانسته اند.اطلاعاتی که از سایر مطالعات بدست آمده نشان داد که افزایش آفلاتوکسین در جیره سبب کاهش قابلیت هضم کلسیم و فسفر می‌شود (۲٤). برخی از داده‌ها نشانگر انست که افزایش سم در جیره غذایی پرنده رابطه منفی بر سیستم دفعی گذاشته و ازین رو متابولیسم کلسیم و فسفر تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۷).

جدول ۳ تاثیر آفلاتوکسین بر گلوکز را نشان میدهد. در فاز اول پرورش افزایش آفلاتوکسین در جیره تاثیر خاصی درغلظت گلوکز سرمی خون نداشته و در بین تیمارها مختلف که حاوی توکسین بایندرهای مختلفی نیز بودند اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. ولیکن تاثیرات معنی‌داری سم بر روی غلظت گلوکز در فاز دوم پرورش (۱۱ و ۲٤ روزگی) کاملا محسوس بود. بیشترین غلظت گلوکز در این فاز متعلق به تیمار ٦ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۱درصد دیواره سلولی مخمر) و کمترین ان در تیمار ۱ (شاهد) مشاهده شده است. در فاز سوم پرورش تیمار ۷ که ترکیبی از همه توکسین بایندرها را دریافت کرده مشکلی در دریافت گلوکز نداشت، کمترین مقدار مربوط به تیمار ٦ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۱درصد دیواره سلولی مخمر)که حاوی دیواره سلولی مخمر بوده مشاهده شد که باعث افزایش نفوذپذیری گلوکز به داخل سلول شد. بنابر جدول ۲ عوامل باندکننده سم در تیمارهای حاوی آفلاتوکسین سبب کاهش اثر سم و افزایش نفوذپذیری گلوکز به درون سلول گردید. جدول ٤ نشان داد در فاز اول در گروه ۱ (شاهد) کمترین مقدار تری‌گلیسرید و گروه ۵ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۰/۵ درصد سولفات مس) بالاترین مقدار گزارش شد و افزودن آفلاتوکسین تاثیر معنی‌داری بر تری‌گلیسرید داشت به طوری که افزودن آفلاتوکسین به جیره منجر به افزایش تری گلیسیرید در سرم خون شد. در فاز دوم پرورش (رشد) بیشترین غلظت تری‌گلیسیرید در تیمار ۷ که ترکیبی از بایندرها بود، دیده شد و کمترین مقدار در تیمار ٦ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت +

۱ درصد دیواره سلولی مخمر) بود. گروه شاهد و تیمار ۲ (جیره شاهد به همراه ذرت آلوده به آفلاتوکسین (۳) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت) که حاوی آفلاتوکسین بود معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$) و در فاز سوم پرورش (پایانی) تیمار ۲ (جیره شاهد به همراه ذرت آلوده به آفلاتوکسین (۳) جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت) کمترین مقدار تری گلیسرید و بیشترین مقدار در گروه‌های دارای جیره حاوی بنتونیت گزارش شد. نتایج جدول ۵ نشان داد که در فاز اول بالاترین غلظت کلسترول در تیمار ٤ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت + ۷۵ درصد زغال فعال) و کمترین مقدار در تیمار ۳ (بنتونیت معمولی دریافت کرده) مشاهده شد. به طور کل افزودن بنتونیت به جیره‌های حاوی آفلاتوکسین در فاز دوم (رشد) و سوم (پایانی) پرورش تاثیر معنی‌داری بر غلظت کلسترول جیره نداشت و فاز دوم به بعد آفلاتوکسین و توکسین بایندر مختلف اثر معنی‌داری بر کلسترول نشان نداد و همینطور در فاز سوم همین نتایج مشاهده گردید. کلسترول سرم جوجه‌ها از فاز دوم به بعد تحت تاثیر سموم و یا توکسین بایندرها قرار گرفت. اختلاف در فاز دوم و سوم معنی‌دار نبود. فزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص حساس سرولوژیکی در مسمومیت‌های کبد و کلیه گزارش شده است. افزایش سطوح AST، ALT و ALP ممکن است نشانه تغییرات دژنراتیو در بافت کبد باشد (٦). در مقابل عدم تغییر در فعالیت آنزیم‌های مربوطه در مسمومیت خوراک‌ها به آفلاتوکسین نیز گزارش شده است. به طور کلی این آنزیم‌ها مختص پلاسما نبوده، بلکه بیشتر درون سلول‌ها وجود دارند و در اثر آسیب دیدن سلول‌ها وارد پلاسما می‌شوند. یکی از دلایل افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند آسیب‌های وارده به هپاتوسیت‌ها باشد. طبق نتایج حاضر، AST هیچ تغییر معنی‌داری نداشت ولی از لحاظ عددی با مصرف آفلاتوکسین غلظت آنزیم افزایش یافت و باعث افزایش تخریب بافت کبدی می‌شود. این آنزیم بعنوان شاخص حساس به بیماری‌های کبدی است که در مواردی هم چون التهابات و ضایعات کبدی و نیز به دنبال انسداد مجاری صفراوی غلظت ان در خون افزایش میابد. از این انزیم بعنوان یک شاخص در اندازه‌گیری مسمومیت با آفلاتوکسین در جوجه‌ها استفاده می‌گردد. در فاز اول پرورش افزودن عوامل باندکننده سم باعث کاهش غلظت این آنزیم شده و اثر مفیدی داشت اما در فاز دوم تفاوت بین گروه کنترل و گروهی که آفلاتوکسین در جیره قرار داده نشد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت اما از لحاظ عددی افزایش داشت. تیمار ۵ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین + ۱/۵ درصد بنتونیت + ۰/۵ درصد سولفات مس) در فاز سوم پرورش که دارای بنتونیت فراوری شده بود باعث کاهش غلظت این انزیم در سرم خونی جوجه‌ها شد (۱۹). طبق جدول ۷، بیشترین تفاوت معنی‌دار در فاز اول پرورش مشاهده شد به طوری که تیمار ۲ (جیره شاهد به همراه ذرت آلوده به آفلاتوکسین) که حاوی توکسین بودند بیشترین غلظت ALT در سرم خون نشان داد و کمترین مقدار انزیم در تیمار ۷ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت فرآوری شده با سولفات مس+ ۷۵ درصد زغال فعال + ۱ درصد دیواره سلولی مخمر) که مخلوطی از توکسین بایندرها و آفلاتوکسین بود، مشاهده گردید. افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های ALT و AST در فاز اول پرورش احتمالا به دلیل مسموم شدن حیوان در این دوره پرورش بود و در حقیقت دژنراسیون کبدی که در نتیجه مصرف سم آفلاتوکسین در این دوره منجر به انتشار آنزیم‌ها به درون جریان خون گردید. نتایج

مشابهی گزارش گردیده است (۳، ۱۸). غلظت این آنزیم در تیمارهای مختلف از لحاظ عددی اختلاف معنی‌داری را از خود نشان ندادند. در فاز آفلاتوکسین و بایندرها تاثیر خاصی بر غلظت این آنزیم‌ها در سرم نداشت (۹).

طبق جدول ۸ در فاز اول پرورش (آغازین) بالاترین غلظت اسید اوریک مربوط به تیمار ۵ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین + ۱/۵ درصد بنتونیت + ۰/۵ درصد سولفات مس) و کمترین مقدار مربوط به تیمار ۲ (جیره شاهد به همراه ذرت آلوده به آفلاتوکسین) گزارش شد. در فاز ۲ پرورش (رشد) غلظت اسید اوریک خون در تیمارهای مختلف اختلاف معناداری را نشان نداد، فاز سوم پرورش تیمار ۷ (جیره شاهد + ذرت آلوده به آفلاتوکسین+ ۱/۵ درصد بنتونیت فرآوری شده با سولفات مس + ۷۵ درصد زغال فعال + ۱ درصد دیواره سلولی مخمر) استفاده از جیره حاوی مخلوط توکسین بایندر کمترین غلظت اوریک اسید در سرم خون و در تیمار ۱ (شاهد) بیشترین غلظت اسید اوریک را نشان داد. آفلاتوکسین سبب کاهش غلظت پروتئین کل، آلبومین، کلسترول، اسید اوریک و افزایش آنزیم‌های کبدی همچون آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلانین-شمینوترانسفراز می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در دوره آغازین بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، اما در فاز دوم و کل دوره با افزودن ۱/۵ درصد بنتونیت به جیره، مقدار کلسیم خون و آنزیم‌های کبدی کاهش یافت. همچنین افزودن بنتونیت به جیره اثر معنی‌داری روی فراسنجه‌های خونی داشت. استفاده از بنتونیت به مقدار ۱/۵ درصد در بهبود عملکرد موثر بوده و آفلاتوکسین سبب کاهش غلظت پروتئین کل، آلبومین، کلسترول، اسید اوریک و افزایش آنزیم‌های کبدی همچون آسپارتات‌آمینوترانسفراز و آلانین‌ترانسفراز می‌گردد. حضور آفلاتوکسین در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در قالب ذرت آلوده به آن، اثرات زیان‌آوری بر عملکرد رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی خون، آنزیم‌های کبدی جوجه‌های گوشتی داشته و بدین ترتیب خسارات اقتصادی مهمی را به عملکرد گله وارد می نماید.

منابع

1. Abas, I., Bilal, T., Eseceli, H. 2011. The effect of organic acid, zeolite, or their combination on performance, some serum indices, and ileum pH values in broilers fed with different phosphorus. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 35:337-344.

2. Abdelhamid, A.M., Salem, M.F.I., Mehrim, A.I., ElSharawy, M.A.M. 2007. Nutritious attempts to detoxify aflatoxin diets of tilapia fish: 1. Fish performance, feed and nutrients utilization, organs indices, residues and blood parameters. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 10:205-223.

3. Azimi, J., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A. 2013a. Comparison of effectiveness of some mycotoxin absorbents on alteration of biochemical and hematological parameters in broiler chickens. *Journal of Animal Science Research*, 22(3):49-62. (In Persian).

4. Azimi, J., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A., Ahari, H. 2013b. Effect of adding two commercial absorbent materials and natural zeolite in feeds contaminated with aflatoxin B1 on broiler performance and immune system. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 4(4):292-297. (In Persian).

5. Azizpour, A., Moghadam, N. 2015. Assessment of serum biochemical parameters and pathological changes in broilers with chronic aflatoxicosis fed

glucomannan-containing yeast product (Mycosorb) and sodium bentonite. *Bulletin of the Veterinary Institute in Puławy*, 59:205-211.

6. Bagherzadeh Kasmani, F., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A.A., Sharitmadari, F. 2012. A novel aflatoxin binding Bacillus probiotic: performance, serum biochemistry and immunological parameters in Japanese quail. *Poultry Science*, 91:1846-1853.

7. Barati, M., Chamani, M., Mousavi, S. N., Hoseini, S.A., Taj Abadi Ebrahimi, M. 2018. Effects of biological and mineral compounds in aflatoxin-contaminated diets on blood parameters and immune response of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 46:707-713.

8. Bovo, F., Franco, L.T., Kobashigawa, E., Rottinghaus, G.E., Ledoux, D.R, Oliveira, C.A.F. 2015. Efficacy of beer fermentation residue containing Saccharomyces cerevisiae cells for ameliorating aflatoxicosis in broilers. *Poultry Science*, 94:934-942.

9. Cheema, M., Qureshi, M., Havenstein. G. 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 random bred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science*, 82:1519-1529.

10. Chen, X., Horn, N., Applegate, T.J. 2014. Efficiency of hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of graded levels of aflatoxin B1 in broiler chicks. *Poultry Science*, 93:2037-2047.

11. Haskard, C.A., El-Nezami, H.S., Kankaanpaa, P.E., Salminen, S., Ahokas, J.T. 2001. Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 67:3086-3091.

12. Khanian, M., Karimi Torshizi, M.A., Allameh, A. 2019. Alleviation of aflatoxin-related oxidative damage to liver and improvement of growth performance in broiler chickens consumed Lactobacillus plantarum 299v for entire growth period. *Toxicon*, 158:57–62.

13. Mahmoodtbar, A., Karimi Torshizi, M.A., Sharafi, M., Mojgani, N. 2018. The effect of some poultry probiotics produced in Iran on performance parameters, economic indices and small intestinal morphology of broilers. *Iranian Journal of Animal Science*, 49(3):415-425.

14. Mahmoodtabar, A., Karimi Torshizi, M.A., Sharafi, M., Mojgani, N. 2017. Comparing the effects of antibiotic growth promoter, some Iranian probiotics and similar imported products on performance, economic indicators and small intestinal morphology of broilers. *Iranian Journal of Animal Science*, 48(3):321-334.

15. Manafi, M. 2018. Impact of application of natural toxin binder on performance, humoral immune response, cecal microbial population and changes in small intestine morphology of broilers fed with diet contaminated with aflatoxin B1. *Journal of Veterinary Research*, 73(3):273-282.

16. Manafi, M. (2012). Counteracting effect of high grade sodium bentonite during aflatoxicosis in broilers. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14:539-547.

17. Osweiler, G.D., Jagannatha, S., Trampel, D.W., Imerman, P.M., Ensley, S.M., Yoon, I., Moore D.T. 2010. Evaluation of XPC and prototypes on aflatoxin-challenged broilers. *Poultry Science*, 89:1887-1893.

18. Ramos, A.J., Hernandez, E. 1997. Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 65:197-206.

19. Rawal, S., Kim, J.E., Coulombe, J.R. 2010. Aflatoxin B1 in poultry: Toxicology, metabolism and prevention. *Research in Veterinary Science*, 89:325-331.

20. Rehulka, J., Minarik, B., Adamec, V., Rehulkova, E. 2005. Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum). *Aqua Research*, 36:22-32.

21. Safari, M.H., Shams Shargh, M., Amini, A., Tatyar, A. 2014. Effects of different levels of natural glauconite and zeolite on performance, tibia bone characteristics and blood parameters of broiler chicken. *Animal Science Journal, (Pajouhesh-Va-Sazandegi)*, 105:167-178. (In Persian).

22. Shi, Y.H., Xu, Z.R., Feng, J.L., Wang, C.Z. 2006. Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 129:138-148.

23. Taherpour, K., Moravej, H., Shivazad, M., Adibmoradi, M., Yakhchali, B. 2009. Effects of dietary probiotic, prebiotic and butyric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 8:2329-2334

24. Yunus, A.W., Razzazi-Fazeli, E., Bohm, J. 2011. Aflatoxin B1 in affecting broiler's performance, immunity, and gastrointestinal tract: A review of history and contemporary issues. *Toxins*, 3:566-590.