

اثر مصرف همزمان عصاره‌های اتانولی آویشن شیرازی و پونه کوهی بر عملکرد و ریخت شناسی دستگاه گوارش در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره آلوده به سم آفلاتوکسین B₁

میلاذ منافی^{۱*}، مهدی هدایتی^۱ و هما آراک^۲

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱/۲۶

^۱ به ترتیب دانشیار و استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه ملایر

^۲ دانشجوی دکترای تغذیه طیور، دانشگاه تربیت مدرس تهران

*مسئول مکاتبه: Email: manafim@malayeru.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: کاهش مسمومیت ناشی از آفلاتوکسین در جوجه‌های گوشتی که به عنوان یکی از منابع تامین پروتئین انسانی هستند به واسطه به کارگیری ترکیبات گیاهی اهمیت دارد. هدف: مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات عصاره‌های اتانولی آویشن شیرازی و پونه کوهی بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و ریخت شناسی روده باریک در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های غذایی آلوده به سم آفلاتوکسین B₁ انجام شد. روش کار: تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی (مخلوط نر و ماده) سویه تجاری راس ۳۰۸ در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۴ گروه آزمایشی و ۵ تکرار (هر تکرار ۱۵ قطعه جوجه گوشتی) مورد استفاده قرار گرفتند. گروه‌های آزمایشی عبارتند از: گروه اول: جیره پایه بدون آفلاتوکسین B₁ (شاهد); گروه دوم: جیره پایه آلوده با آفلاتوکسین B₁ به میزان ۶۰۰ میکروگرم در کیلوگرم، گروه سوم: جیره شاهد به همراه مخلوطی از عصاره‌های اتانولی آویشن و پونه (هر کدام به میزان ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم); و گروه چهارم: جیره شاهد به همراه آفلاتوکسین B₁ به میزان ۶۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و مخلوط عصاره‌های آویشن و پونه هر کدام به میزان ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم. نتایج: نتایج نشان داد که به کارگیری مخلوط عصاره‌های آویشن و پونه در جوجه‌های مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس به طور معنی‌داری می‌تواند موجب بهبود وزن جوجه‌ها، کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش ارتفاع ویلی‌ها و کاهش تعداد سلول‌های گابلت روده باریک نسبت به تیمار دریافت‌کننده سم گردد. هم‌چنین افزودن همزمان عصاره آویشن و پونه در جوجه‌های مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس موجب کاهش مقادیر سرمی آلانین ترانس آمیناز، آسپاراتات ترانس آمیناز، آلکالین فسفاتاز، لیپوپروتئین با چگالی کم و لیپوپروتئین با چگالی بالا گردید. نتیجه‌گیری نهایی: نتایج آزمایش حاضر نشان داد مکمل سازی جیره غذایی با عصاره گیاهی آویشن شیرازی و پونه کوهی سبب کاهش اثرات منفی آفلاتوکسین بر عملکرد، ساختار بافت شناسی روده و بهبود فراسنجه‌های بیوشیمیایی در جوجه‌های گوشتی می‌گردد.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین B₁، عملکرد، ریخت شناسی روده، کلسترول، طول پرز

مقدمه

M (M₁ و M₂) موجود هستند و به وسیله کروماتوگرافی و نور فلورسنت از یکدیگر متمایز می‌شوند (منافی و همکاران ۲۰۱۱). آفلاتوکسین B₁ نسبت به سایر انواع آن

آفلاتوکسین‌ها دسته‌ای از متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها بوده که بیشتر به صورت B (B₁ و B₂)، G (G₁ و G₂) و

گزارش دیگری، مخلوط عصاره رزماری و عصاره آویشن به میزان ۲۵۰ ppm از رشد هایفه‌های قارچ در محیط کشت ممانعت کرده است که این ممانعت عمدتاً به حضور سی‌نیول، لینالول و متیل چاویکول از ترکیبات مهم موجود در این عصاره‌ها است بر می‌گردد (مقتدر و همکاران ۲۰۰۸). همچنین مطالعات زیادی بر خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گونه‌های متعدد گیاه پونه تاکید کرده‌اند (گلوس و همکاران ۲۰۰۷) علاوه بر نقش مهمی که ترکیبات ثانویه گیاهی در دفاع برابر اشعه ماوراء بنفش، عوامل بیماری‌زا، انگل‌ها و حشرات مصرف‌کننده این گیاهان دارند، پلی‌فنل‌های گیاهی توجه ویژه‌ای را به واسطه داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی قوی آن‌ها که می‌تواند سرکوب‌کننده استرس اکسیداتیو و درمان اختلالاتی همانند سرطان باشد به خود جلب کرده است. جلوگیری از رشد قارچ و ممانعت از تولید آفلاتوکسین به وسیله ترکیبات فنولیک موضوع بسیاری از مطالعات بوده است (رزاقی ایبانه و همکاران ۲۰۰۸). آزمایش حاضر به منظور بررسی اثرات عصاره‌های اتانولی گیاهان دارویی آویشن و پونه کوهی بر صفات عملکردی و خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با آفلاتوکسین B₁ طراحی و انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از ۳۰۰ قطعه جوجه یکروزه گوشتی مخلوط نر و ماده از سویه تجاری راس ۳۰۸ انجام شد. دمای سالن پیش از ورود جوجه‌ها به ۳۳ درجه سانتی‌گراد رسانده شد و سپس جوجه‌ها به ۴ گروه آزمایشی با ۵ تکرار و ۱۵ جوجه در هر واحد آزمایشی پس از توزین تقسیم شدند، پرورش بر روی بستر انجام گرفت و دسترسی جوجه‌ها به آب و غذا در کل دوره پرورشی آزاد بود. برنامه نوردی نیز به صورت روشنایی ۲۳ ساعت و خاموشی ۱ ساعت تا زمان کشتار اعمال شد. تغذیه جوجه‌ها از

در مواد غذایی فراوان‌تر و سمی‌تر می‌باشد (سیف ۲۰۰۸). آفلاتوکسین‌ها حاصل فعالیت متابولیکی قارچ‌های *آسپرژیلوس* و بخصوص *آسپرژیلوس فلاووس* می‌باشند که می‌توانند باعث آلودگی غذای موجودات زنده گردند (جردن و پترسون ۲۰۰۷). آفلاتوکسیکوزیس خسارات شدید اقتصادی در صنعت طیور ایجاد کرده و در پرورش اردک، جوجه‌های گوشتی، مرغ‌های تخم‌گذار، بوقلمون و بلدرچین اثر منفی گذاشته است (سیف ۲۰۰۸). حساسیت جوجه‌ها به اثرات سمی آفلاتوکسین به عواملی همانند نژاد، غلظت آفلاتوکسین، سن، وضعیت تغذیه، میزان مصرف سم و همچنین ظرفیت آنزیم‌های میکروزیمی کبد به سم زدایی آفلاتوکسین بستگی دارد (جردن و پترسون، ۲۰۰۷). مایکوتوکسین‌ها ترشحات روده‌ای را تحت تاثیر قرار می‌دهند. مصرف آفلاتوکسین موجب کاهش تولید ترشحات پانکراس و تغییر در مورفولوژی روده (عمق کریپت‌های روده) و فعالیت ویژه دی‌ساکاریدازها و مالتاز روده جوجه‌های گوشتی می‌شود (اپلگیت و همکاران ۲۰۰۹). افزایش تشکیل رادیکال آزاد یا کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن در اثر آفلاتوکسیکوزیس منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود که می‌تواند از طرق فیزیکی، شیمیایی و فیزیولوژیکی باعث تخریب بافت‌های بدن شود (ارلاسن و همکاران ۲۰۰۵). پیشنهاد شده است که خواص ضد اکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به علت وجود گروه‌های OH فنولیک به عنوان دهنده هیدروژن به رادیکال‌های پراکسید تولید شده به هنگام استرس اکسیداتیو می‌باشد که باعث تأخیر و یا عدم تشکیل پراکسید می‌شود (رزاقی ایبانه و همکاران ۲۰۰۸). اثرات مفید و ضد قارچی گیاهان دارویی رزماری، زردچوبه، آویشن و نعناع در محیط کشت قارچ با غلظت ۵۰ تا ۱۵۰ ppm گزارش شده است (روکیا ۲۰۱۲). در مطالعه دیگری بیان شده است که عصاره‌های نعناع فلفلی و رزماری در غلظت ۱۰۰۰ ppm خاصیت مهاری بر تولید سم آفلاتوکسین داشته است (دبیز و همکاران ۲۰۱۱). در

کلسترول،^۵LDL،^۶HDL با کیت شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر (آمریکا، Technicon RA-1000) اندازه‌گیری شد (هدایتی و همکاران ۲۰۱۴).

روش تهیه سم آفلاتوکسین B₁

سم آفلاتوکسین B₁ از شرکت سیگما آلد ریچ خریداری و بر اساس دستور العمل شرکت سازنده مراحل آماده‌سازی سم صورت گرفت. به همین منظور ۶ میلی گرم سم را با ۱۰۰ سی سی اتانول ۹۶ درصد مخلوط کرده و در نهایت بر روی ۱ کیلوگرم دان آماده اسپری کرده تا بخوبی با اجزای دان مخلوط شده و یک مخلوط همگن از دان آلوده به آفلاتوکسین B₁ حاصل شود. سپس این مخلوط به صورت پیش مخلوط به خوراک مصرفی تیمارهای مورد نظر در مطالعه افزوده گردید. عصاره‌های اتانولی آویشن و پونه کوهی در آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشگاه ملایر به روش خیساندن^۷ تهیه شد (ماریجا و همکاران ۲۰۰۹). داده‌های به دست آمده از این آزمایش با نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل شدند (SAS ۲۰۰۳). مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اثرات عصاره گیاه آویشن شیرازی و پونه کوهی با و بدون آفلاتوکسین بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی

وزن بدن

نتایج آزمایش نشان داد که وزن پرندگان دریافت کننده جیره آلوده به سم آفلاتوکسین B₁ در مقایسه با گروه شاهد کاهش داشت. وزن بدن جوجه‌های گوشتی در گروه آزمایشی دریافت کننده سم آفلاتوکسین همراه با مخلوط عصاره آویشن و پونه کوهی در مقایسه با گروه

روز اول با خوراک بر پایه ذرت سویا و مطابق با پیشنهادات شرکت راس برای سویه تجاری راس ۳۰۸ و با استفاده از نرم افزار جیره نویسی WUFFDA در سه سطح جیره آغازین ۱-۱۰، دوره رشد ۱۱-۲۸ و دوره پایانی ۲۹-۴۲ روزگی تنظیم شدند (جدول ۱). گروه‌های آزمایشی عبارتند از: گروه اول: جیره پایه (بدون آفلاتوکسین B₁)؛ گروه دوم: جیره پایه و آلوده شده با آفلاتوکسین B₁ به میزان ۶۰۰ میکروگرم در کیلوگرم، گروه سوم: جیره شاهد به همراه مخلوطی از عصاره‌های اتانولی آویشن و پونه (هر کدام به میزان ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)؛ و گروه چهارم: جیره شاهد به همراه آفلاتوکسین B₁ به میزان ۶۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و مخلوط عصاره‌های آویشن و پونه هر کدام به میزان ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم. در این مطالعه صفات عملکردی شامل میزان تلفات، مصرف خوراک و وزن پرندگان به صورت هفتگی و نیز در پایان دوره محاسبه گردید. در پایان دوره پرورشی از هر واحد آزمایشی ۲ پرنده انتخاب شده و بعد از کشتار به روش مرگ آسان^۱ نمونه‌گیری جهت آزمایشات ریخت‌شناسی روده از ناحیه ایلئوم با فاصله ۲ سانتی متری از زائده مکل و به طول ۵ سانتی متر انجام شد. این نمونه‌ها در ظروف حاوی فرمالین ۱۰ درصد، به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال گردید، که بعد از فرآیند ثابت کردن بافت توسط پارافین و برش با میکروتوم، رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اینئوزین انجام شد و با میکروسکوپ نوری در زیر عدسی شیئی ۴۰×، و مطابق با روش زو و همکاران (۲۰۰۳) نمونه‌ها بررسی گردید. همچنین به منظور بررسی فراسنجه‌های خونی از هر واحد آزمایشی ۲ پرنده به صورت تصادفی انتخاب و از ورید وداج نمونه خونی گرفته شده و فراسنجه‌های بیوشیمیایی از قبیل آنزیم‌های کبدی (AST، ALT^۲ و ALP^۳)، تری‌گلیسیرید،

^۵-Low Density Lipoprotein

^۶-High Density Lipoprotein

^۷Maceration

^۱-Euthanize

^۲-Alanin Amino Transferase

^۳-Aspartate Amino Transferase

^۴-Alkaline Phosphatase

از آفلاتوکسین از قبیل مسمومیت کبدی داشته و با کاهش اثرات سمی در بهبود افزایش وزن نقش داشته باشند (لی و همکاران ۲۰۰۱).

مصرف خوراک

اثرات آفلاتوکسین و مخلوط عصاره آویشن و پونه کوهی بر میزان مصرف خوراک در جدول ۳ ارائه شده که بالاترین میزان دریافت خوراک در پایان هفته ششم با ۴۵۰۲ گرم برای گروه دریافت کننده مخلوط عصاره‌های آویشن و پونه کوهی، بوده و مصرف خوراک در گروه آزمایشی دریافت کننده سم آفلاتوکسین در مقایسه با گروه شاهد و گروه چهارم کاهش معنی‌دار نشان داده است. افزودن عصاره گیاهی به جیره آلوده به آفلاتوکسین در مقایسه با گروه دریافت کننده آفلاتوکسین افزایش دریافت خوراک را به دنبال داشته است ($P < 0.05$).

لیو و همکاران (۲۰۱۱) بیان داشتند که مصرف آفلاتوکسین به میزان ۳ ppm در جوجه‌های گوشتی سبب کاهش مصرف خوراک و افزایش ضریب تبدیل غذایی می‌شود. در بررسی‌های درسجانتلی و همکاران (۲۰۰۳) بیان شده است که حضور آفلاتوکسین B₁ به میزان یک میلی‌گرم در هر کیلوگرم خوراک طیور سبب کاهش مصرف خوراک شده است. مصرف آفلاتوکسین در بوقلمون‌های در حال رشد نیز به میزان ۵۰۰ ppb سبب کاهش دریافت خوراک و وزن گیری بوقلمون‌ها شده بود (رابور و همکاران، ۲۰۰۷). مصرف خوراک به واسطه افزوده شدن عصاره‌های گیاهی افزایش یافته است، آویشن به علت داشتن تیمول و کاراکرول و سایر فاکتورهای محرک رشد در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی اشتها آور بوده و محرک هضم گوارشی بوده و باعث افزایش خوراک مصرفی روزانه و بهبود عملکرد آن‌ها می‌شود (کابوک و همکاران ۲۰۰۶). آویشن همچنین سبب ترشح آنزیم‌های گوارشی از قبیل آمیلاز و کیموتریپسین می‌شود و با افزایش جذب از طریق ویلی-

آزمایشی دریافت کننده سم آفلاتوکسین افزایش یافت و این افزایش در هفته های ۲، ۳ و ۴ و ۶ معنی دار شد ($P \leq 0.05$) (جدول ۲).

مطابق با مطالعه حاضر، منافی و همکاران (۲۰۰۹) بیان داشتند که مصرف یک میلی‌گرم سم آفلاتوکسین در هر کیلوگرم خوراک سبب کاهش ۵ درصدی در عملکرد و رشد جوجه گوشتی می‌شود. در مطالعه دیگری منافی (۲۰۱۱) کاهش ۲۱ درصدی وزن گیری جوجه‌های گوشتی ۳۵ روزه در حضور ۰/۳ میلی‌گرم آفلاتوکسین B₁ در هر کیلوگرم خوراک گزارش نموده است. والدیویا و همکاران (۲۰۰۱) با بکارگیری سم آفلاتوکسین B₁ به میزان ۳ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خوراک طیور، کاهش ۱۱ درصدی وزن‌گیری جوجه‌های گوشتی را در سن ۲۱ روزگی گزارش نمودند. همچنین افزودن ۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین به جیره جوجه‌های گوشتی در طول ۴۲ روز میزان افزایش وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل را به طور معنی‌داری کاهش داد (تیسری و همکاران ۲۰۰۶). کاهش دریافت خوراک و اختلال در متابولیسم انرژی و چربی بواسطه مصرف آفلاتوکسین و به علت تغییر در مزه و اختلال در مکانیسم‌های هضم و جذب در مطالعات گوناگون گزارش شده است (راجو و دویگودا ۲۰۰۲ و هدایتی و همکاران ۲۰۱۴).

در آزمایش حاضر افزودن عصاره اتانولی آویشن و پونه به جیره آلوده به آفلاتوکسین سبب بهبود وزن بدن شده است که مشابه نتایج این آزمایش گزارش کردند که افزودن ترکیبات حاوی مانان‌اولیگوساکارید به جیره آلوده به آفلاتوکسین باعث بهبود افزایش وزن بدن بلدرچین می‌شود (اوگوز و پارالت ۲۰۰۴). بنابراین احتمالاً حضور ترکیبات مانان‌اولیگوساکاریدی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در آویشن و پونه کوهی از قبیل تیمول و کارواکرول، توانسته خاصیت ضد اکسیداتیو علیه فعالیت‌های اکسایشی آفلاتوکسین داشته (برت ۲۰۰۴) و اثرات مہاری بر تغییرات متابولیکی ناشی

خواص آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاهان دارویی سبب ترشح بیش‌تر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود ضریب تبدیل خوراک می‌شود (جعفری و همکاران ۲۰۱۱).

در این آزمایش در تیمار آلوده به آفلاتوکسین مصرف عصاره‌های آویشن و پونه اثرات بهتری بر کاهش ضریب تبدیل غذایی داشته است. بررسی ریندرز و برنت (۲۰۰۳) بیان دارد که تیمول و کارواکرول موجود در گیاهان دارویی گزنه، پونه، آویشن و نعناع خاصیت ضد میکروبی داشته که با از بین بردن باکتری‌های پاتوژن مسیر گوارشی و به طور ویژه باکتری‌های اشرشیا کولی و سالمونلا در کاهش بار میکروبی مضر دستگاه گوارش موثر بوده، که از این طریق با افزایش و بهبود فرآیند هضم و جذب در بازدهی بهتر خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی موثر هستند و از طرفی حضور سی‌نیول، لینالول و متیل‌چاویکول موجود عصاره‌های نعناع فلفلی، رزماری و آویشن بر تولید و فعالیت سم آفلاتوکسین اثر مهاری دارند (دیبز و همکاران ۲۰۱۱ و مقتدر و همکاران ۲۰۰۸).

محققان گزارش کرده‌اند تیمول موجود در آویشن و همچنین کارواکرول دارای خواص ضدالتهابی بوده که به‌عنوان محرک برای کبد عمل نموده و باعث تحریک عمل رونویسی mRNA و پروتئین‌سازی در زمان مصرف آفلاتوکسین می‌شود (یویانگولو و همکاران ۲۰۰۸). به نظر می‌رسد که اثرات فارماکولوژیکی و اثرات محافظت کبدی در آویشن می‌تواند ناشی از فعالیت آنتی-اکسیدانی بوده که به‌طور عمده ناشی از توانایی در حذف رادیکال‌های آزاد و یا ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدی به سبب فعالیت آفلاتوکسین در بدن است (مقتدر و همکاران ۲۰۰۸).

های روده مقدار خوراک دریافتی را افزایش می‌دهد (دلی و همکاران ۲۰۰۴).

ضریب تبدیل مواد غذایی

نتایج مربوط به افزودن آفلاتوکسین و مخلوط عصاره آویشن و پونه کوهی به جیره غذایی بر ضریب تبدیل غذایی در هفته‌های مختلف پرورشی در جدول ۴ نشان داده شده است. گروه دریافت‌کننده عصاره‌های گیاهی در هفته ششم آزمایش نسبت به گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده سم آفلاتوکسین دارای ضریب تبدیل پایین‌تری داشت ($P < 0.05$) و گروه آزمایشی دریافت‌کننده همزمان سم و عصاره‌های گیاهی نسبت به گروه دریافت‌کننده سم تفاوت معنی‌دار داشت ولی در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

ارلسان و همکاران (۲۰۰۵) کاهش ۱۰ درصدی وزن جوجه‌ها را در اثر مصرف ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم سم آفلاتوکسین را گزارش کرده‌اند. افزایش ضریب تبدیل خوراک در مطالعه منافی و خسروی نیا (۲۰۱۳) نیز گزارش شده است. حضور سم آفلاتوکسین در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی بر روی ضریب تبدیل غذایی اثر منفی می‌گذارد (دوگودا و مورتی ۲۰۰۵). امروزه مشخص شده است که دوز بیش از ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین در خوراک سبب بروز اثرات سوء بر پتانسیل رشد و افزایش ضریب تبدیل خوراک و عملکرد جوجه‌ها می‌شود (هورواتووا و همکاران ۲۰۱۰).

استفاده از سطح ۲ درصد آویشن (کراس و همکاران ۲۰۰۲) و افزودن اسانس آویشن به جیره غذایی و آب مصرفی در جوجه‌های گوشتی (آلسیک و همکاران ۲۰۰۴) موجب کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک شده است. ترکیبات حاوی سینامون و مواد موثره تیمول و کارواکرول احتمالاً نقشی در بهبود ضریب تبدیل غذایی جوجه‌ها دارند (کابوک و همکاران ۲۰۰۶). بیان شده است که مصرف ترکیبات گیاهی و پروبیوتیکی در شرایط نامساعد مدیریتی و محیطی بیشترین اثرات مثبت را از خود به جای می‌گذارند (دلی و همکاران ۲۰۰۴).

جدول ۱- مواد متشکله و ترکیب جیره غذایی پایه در مراحل مختلف پرورش جوجه‌های گوشتی

Table 1- Ingredients and nutrient composition of basal diet at different production stages of broiler chickens

Feed ingredients	Starter (1-10d)	Grower (11-28d)	Finisher (29-42d)
Corn ذرت	49.30	59.6	65.99
Wheat گندم	5.30	5	5
Soybean meal (44%) کنجاله سویا (۴۴درصد)	26.87	16.05	10.12
Corn gluten گلوتن ذرت	10	11.48	11.5
Soybean oil روغن سویا	3.50	3.34	3.09
Limestone سنگ آهک	1.45	1.23	1
Di-calcium Phosphate دی کلسیم فسفات	1.95	1.8	1.83
Salt نمک	0.36	0.36	0.36
Vitamin premix ¹ مکمل ویتامینی ^۱	0.25	0.25	0.25
Mineral premix ² مکمل معدنی ^۲	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine دی ال متیونین	0.52	0.58	0.57
Lysine لایزین	0.25	0.06	0.04
Nutrient content of the diet ترکیب مواد مغذی جیره غذایی			
Metabolizable energy (Kcal/Kg) انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)			
	3010	3150	3200
Crude protein (%) پروتئین خام (%)			
	23	20	18
Calcium (%) کلسیم (%)			
	1	0.9	0.9
Available phosphorous (%) فسفر قابل دسترس (%)			
	0.5	0.45	0.45
Lysine (%) لیزین (%)			
	1.41	1.16	1.05
Methionine + Cysteine (%) متیونین + سیستئین (%)			
	1.09	0.81	0.78
Anion and cation balance (meq/kg) میزان تعادل انیون و کاتیون (میلی اکی والان در کیلوگرم)			
	183	137	117

۱- هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی: ۳۶۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D₃، ۷/۲ گرم ویتامین E، ۰/۸ گرم ویتامین K₃، ۰/۷۱ گرم ویتامین B₁، ۲/۶۴ گرم ویتامین B₂، ۱۱/۸۸ گرم ویتامین B₃، ۲/۹۲ گرم ویتامین پنتوتنات، ۱/۱۷۶ گرم ویتامین B₆، ۰/۴ گرم ویتامین B₉، ۶ میلی گرم ویتامین B₁₂ و ۴۰ میلی گرم ویتامین H₂.

۲- هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی حاوی: کولین کلراید ۱۰۰ گرم، منگنز (اکسید) ۳۹/۶۴ گرم، روی ۳۳/۸۸ گرم، آهن ۲۰ گرم، مس ۴ گرم، ید ۳۹۷ گرم، کبالت ۰/۲ گرم و سلنیوم ۸۰ میلی گرم می باشد.

1. Each kilogram of vitamin premix contains: 360000 IU Vit A; 800000 IU Vit D₃; 7.2 g Vit E; 0.8 g Vit K₃; 0.71 g Vit B₁; 2.64 g Vit B₂; 11.88 g Vit B₃; 3.92 g Vit B₅; 1.176 g Vit B₆; 0.4 g Vit B₉; 6 mg Vit B₁₂ and 40 mg Vit H₂.
 2. Each kilogram of mineral premix contains: 100 g Choline chloride; 39.64 g Manganese oxide; 33.88 g Zinc; 20 g Iron; 4 g copper; 397 g iodine; 0.2 g cobalt and 80 mg selenium.

جدول ۲- اثرات آفلاتوکسین B₁ و مخلوط عصاره‌های اتانولی آویشن شیرازی و پونه کوهی بر میانگین وزن بدن در جوجه گوشتی (گرم)

Table 2- Effects of Aflatoxin B₁ and mixture of ethanoic extracts of Thyme and Oregano on average body weight of broiler chickens (g)

Trial Periods دوره های آزمایش	Experimental diets جیره‌های آزمایشی				P Value میزان احتمال
	Control شاهد	Control + Aflatoxin شاهد + آفلاتوکسین	Control + Plant extracts شاهد + عصاره های گیاهی	Control + Aflatoxin + Plant extracts شاهد + آفلاتوکسین + عصاره های گیاهی	
Week 1 هفته اول	202±2.48 ^a	184.6±7.22 ^b	190.2±1.35 ^{ab}	196.8±3.13 ^{ab}	0.0467
Week 2 هفته دوم	424.4±2.78 ^a	383.4±2.5 ^b	392.4±4.54 ^b	412.6±7.69 ^a	0.0001
Week 3 هفته سوم	768.2±4.74 ^a	702.4±11.72 ^c	732.2±3.89 ^b	742.4±4.22 ^b	0.0001
Week 4 هفته چهارم	1303.2±22.66 ^a	1188.4±7.43 ^c	1246.8±18.36 ^b	1271.8±11.35 ^{ab}	0.0009
Week 5 هفته پنجم	1725.6±19.16	1699.8±86	1705.4±23.88	1727.6±20.07	0.3277
Week 6 هفته ششم	2150±29.72 ^b	2007±32.76 ^c	2308±19.12 ^a	2120±22.65 ^b	0.0007

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P≤۰/۰۵).

- In each row, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant (P<0.05).

آفلاتوکسین B₁ به میزان ۶۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و مخلوط عصاره‌های آویشن و پونه کوهی هر کدام به میزان ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بود.

- Aflatoxin B₁: 600 µg/kg and plant extracts: the mixture of thyme and oregano extract at 500mg/kg.

جدول ۳- اثرات آفلاتوکسین B1 و مخلوط عصاره‌های اتانولی آویشن شیرازی و پونه کوهی بر خوراک مصرفی جوجه گاوشتی (گرم)

Table 3- Effects of Aflatoxin B1 and mixture of ethanoic extracts of Thyme and Oregano on feed consumption of broiler chickens (g)

Trial Periods دوره های آزمایش	Control شاهد	Control + Aflatoxin شاهد+ آفلاتوکسین	Control + Plant extracts شاهد+ عصاره های گیاهی	Control + Aflatoxin + Plant extracts شاهد+ آفلاتوکسین+ عصاره های گیاهی	P Value میزان احتمال
Week 1 هفته اول	169.6±1.77 ^b	183.8±1.46 ^a	166±2 ^b	169.8±1.24 ^b	0.0001
Week 2 هفته دوم	524.6±8.31 ^{ab}	520.4±8.31 ^b	483.2±3.87 ^c	540.4±2.13 ^a	0.0001
Week 3 هفته سوم	1166±2.46 ^a	1147.4±3.32 ^b	1103.6±2.01 ^c	1162.6±3.96 ^a	0.0001
Week 4 هفته چهارم	2021.4±26.82 ^a	1826±18.48 ^b	2009.4±8.91 ^a	1187±8.6 ^b	0.0001
Week 5 هفته پنجم	3303.6±16.32 ^a	3008.6±3.72 ^{bc}	3053.8±4.59 ^b	2956.8±7.22 ^c	0.0001
Week 6 هفته ششم	4401.1±21.43 ^b	4201±11.41 ^d	4502±19.14 ^a	4305±23.11 ^c	0.001

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P≤0.05).

- In each row, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant (P<0.05).

- آفلاتوکسین B₁ به میزان ۶۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و مخلوط عصاره‌های آویشن و پونه کوهی هر کدام به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود.

- Aflatoxin B₁: 600 µg/kg and plant extracts: the mixture of thyme and oregano extract at 500mg/kg.

جدول ۴- اثرات آفلاتوکسین B1 و مخلوط عصاره‌های اتانولی آویشن شیرازی و پونه کوهی بر ضریب تبدیل غذایی جوجه های گاوشتی

Table 4- Effects of Aflatoxin B1 and mixture of ethanoic extracts of Thyme and Oregano on feed conversion ratio (FCR) of broiler chickens (g)

Trial Periods دوره های آزمایش	Control شاهد	Control + Aflatoxin شاهد+ آفلاتوکسین	Control + Plant extracts شاهد+ عصاره های گیاهی	Control + Aflatoxin + Plant extracts شاهد+ آفلاتوکسین+ عصاره های گیاهی	P value میزان احتمال
Week 1 هفته اول	0.83±0.00 ^b	1±0.04 ^a	0.84±0.01 ^b	0.89±0.01 ^b	0.0001
Week 2 هفته دوم	1.23±0.01 ^b	1.35±0.01 ^a	1.17±0.02 ^b	1.37±0.01 ^a	0.0001
Week 3 هفته سوم	1.52±0.00 ^c	1.63±0.02 ^a	1.48±0.00 ^c	1.58±0.01 ^b	0.0001
Week 4 هفته چهارم	1.55±0.04	1.56±0.01	1.58±0.01	1.5±0.02	0.3162
Week 5 هفته پنجم	1.88±0.01 ^a	1.77±0.02 ^b	1.76±0.01 ^b	1.73±0.02 ^b	0.0001
Week 6 هفته ششم	2.04±0.04 ^b	2.09±0.02 ^a	1.95±0.01 ^c	2.03±0.03 ^b	0.038

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P \leq 0.05$).

- In each row, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant ($P < 0.05$).

آفلاتوکسین B₁ به میزان ۶۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و مخلوط عصاره‌های آویشن و پونه کوهی هر کدام به میزان ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بود.

- Aflatoxin B₁: 600 µg/kg and plant extracts: the mixture of thyme and oregano extract at 500mg/kg.

**اثرات عصاره‌های گیاهی و آفلاتوکسین بر فراسنجه-
های بیوشیمیایی خون**
براساس نتایج ارایه شده در جدول ۵ مشخص شده است
که بیشترین میزان سرمی آنزیم‌های کبدی ALT، AST و
ALP در گروه دریافت کننده آفلاتوکسین بوده و در
گروه دریافت کننده همزمان سم و عصاره‌های آویشن و
پونه کوهی این آنزیم‌ها کاهش معنی‌داری یافته است
($P < 0.05$).

**جدول ۵- اثرات آفلاتوکسین B₁ و مخلوط عصاره‌های اتانولی آویشن شیرازی و پونه کوهی بر فراسنجه های خونی جوجه-
های گوشتی در سن ۴۲ روزگی**

Table 5- Effects of Aflatoxin B₁ and mixture of ethanoic extracts of Thyme and Oregano on blood biochemical parameters of broiler chickens at 42 days of age

Blood Parameters	Control	Control + Aflatoxin	Control + Plant extracts	Control + Aflatoxin + Plant extracts	P Value
فراسنجه های خونی	شاهد	شاهد + آفلاتوکسین	شاهد + عصاره های گیاهی	شاهد + آفلاتوکسین + عصاره های گیاهی	میزان احتمال
Alanine aminotransferase (IU/L) آلانین آمینو ترانسفراز (واحد بین المللی در لیتر)	477±0.19	5.44±0.17	5.30±0.19	5.25±0.18	0.1013
Aspartate amino transaminase (IU/L) آسپاراتات آمینو ترانسفراز (واحد بین المللی در لیتر)	170.93±1.88 ^c	192.21±1.73 ^a	180.61±4.37 ^b	174.83±2.05 ^{bc}	0.0003
Alkaline phosphatase (IU/L) آلکالاین فسفاتاز (واحد بین المللی در لیتر)	160.86±1.38 ^b	170.41±1.71 ^a	166.07±3.26 ^{ab}	162.62±2.5 ^b	0.0496
Cholesterol (mg/dL) کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)	191.82±1.88 ^c	196.37±0.32 ^{ab}	193.02±2.00 ^{bc}	199.665±0.57 ^a	0.0053
High density lipoprotein (mg/dL) لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی گرم در دسی لیتر)	67.54±0.53 ^a	65.69±0.02 ^b	65.87±0.45 ^b	66.70±0.36 ^{ab}	0.0393
Low density lipoprotein (mg/dL) لیپوپروتئین با چگالی کم (میلی گرم در دسی لیتر)	72.89±0.48 ^c	81.86±0.51 ^a	74.27±0.65 ^c	78.63±0.36 ^b	0.0001

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P \leq 0.05$).

- In each row, mean of non-identical alphanumeric characters are statistically significant ($P < 0.05$).

آفلاتوکسین B₁ به میزان ۶۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و مخلوط عصاره‌های آویشن و پونه کوهی هر کدام به میزان ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بود.

- Aflatoxin B₁: 600 µg/kg and plant extracts: the mixture of thyme and oregano extract at 500mg/kg.

آنتی اکسیدانی دو گیاه سیر و آویشن سبب کاهش اثر مخرب اکسیداتیو سم بر کبد و کاهش کلسترول، تری گلیسرید و آنزیم‌های کبدی شده است علت این کاهش را به اثر ممانعت‌کنندگی این عصاره‌ها بر عمل آنزیم‌های کلیدی هم چون HMG-COA ردوکتاز که در ساخت لیپید و کلسترول حضور دارند، نسبت داده اند (ساریکا و همکاران ۲۰۰۵).

اثرات آفلاتوکسین و عصاره های گیاهی بر ریخت شناسی روده کوچک

نتایج حاصل از تاثیر تیمارهای مختلف بر خصوصیات ریخت شناسی دستگاه گوارش در پایان دوره آزمایش در جدول ۶ ارائه شده است. جوجه‌های دریافت کننده عصاره آویشن و پونه کوهی بیشترین میزان ارتفاع ویلی را داشته و در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری ایجاد کرده است. کمترین ارتفاع ویلی مربوط به گروه دریافت کننده سم آفلاتوکسین می‌باشد ($P < 0.05$). شاخص ارتفاع به عمق کریپت در گروه دریافت کننده عصاره گیاهی بیشترین و در گروه دریافت کننده سم کمترین مقدار می‌باشد و افزودن عصاره گیاهی به جیره غذایی آلوده سبب بهبود شاخص روده شد ($P < 0.05$). در مورد سلول‌های گابلت فقط تفاوت معنی‌دار در کاهش تعداد این سلول‌ها در گروه دریافت کننده عصاره نسبت به سایر گروه‌ها بوده است ($P < 0.05$). کاهش ارتفاع ویلی و کاهش نسبت ارتفاع به عمق کریپت (یانگ و همکاران ۲۰۱۲)، افزایش عمق کریپت‌ها در ناحیه ایلئوم و کاهش فعالیت هضمی و جذبی ناحیه به علت آسیب به بافت مخاطی روده در اثر آلودگی جوجه‌ها به آفلاتوکسین گزارش شده است (یونس و همکاران ۲۰۱۰).

هم چنین میزان HDL در گروه دریافت کننده سم آفلاتوکسین و عصاره‌های آویشن و پونه کوهی نسبت به گروه دریافت کننده سم آفلاتوکسین افزایش معنی‌داری داشته است ($P < 0.05$). افزایش میزان سرمی LDL در گروه دریافت کننده سم، تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی داشته است ($P < 0.05$).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که آفلاتوکسین B_1 سبب افزایش میزان ALT، AST و ALP می‌شود (منافی ۲۰۱۱). فعالیت آنزیم‌های سرمی به طور گسترده‌ای به عنوان یک فاکتور اندازه‌گیری شده از میزان فعالیت آفلاتوکسین در مرغ مورد بررسی قرار می‌گیرد. افزایش در فعالیت سوربیتول دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز، اسید فسفاتاز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز در جوجه‌های مبتلا به آفلاتوکسین گزارش شده است (لیسون و همکاران ۱۹۹۵). تغییر در فراسنجه‌های خونی از جمله افزایش کلسترول و چربی در سرم خون در اثر آلودگی به آفلاتوکسین مشاهده شده است (کوبینا و همکاران ۱۹۹۸). در بررسی دیگری مشخص شد که تغذیه موش‌های صحرایی با آفلاتوکسین به میزان ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم باعث افزایش سطوح فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT و AST نسبت به گروه شاهد شده است، در حالی‌که اضافه کردن عصاره آویشن باعث تعدیل در تغییرات سرمی این آنزیم‌ها شده است (ال نکیت و همکاران، ۲۰۱۲). در مطالعه هدایتی و همکاران (۲۰۱۴) جوجه‌های دریافت کننده سم آفلاتوکسین B_1 میزان کلسترول و LDL سرم خون افزایش یافته و افزودن زردچوبه در کاهش کلسترول و LDL سرم خون در جوجه‌های گوشتی و افزایش HDL موثر بوده است. نتایج حاصله از این مطالعه با نتایج یافته‌های منافی (۲۰۱۱) و هدایتی و همکاران (۲۰۱۴) در خصوص نقش موثر عصاره های اتانولی آویشن و پونه کوهی را در کاهش اثرات سم آفلاتوکسین B_1 بر فراسنجه‌های خونی مطابقت دارد. در تحقیق دیگری گزارش کردند خواص

جدول ۶- اثرات آفلاتوکسین B1 و مخلوط عصاره‌های اتانولی آویشن شیرازی و پونه کوهی بر ریخت شناسی ناحیه ایلئوم جوجه گوشتی در سن ۴۲ روزگی

Table 6- Effects of Aflatoxin B1 and mixture of ethanoic extracts of Thyme and Oregano on ileal morphology of broiler chickens at 42 days of age

Ileal indexes خصوصیات ایلئوم	Control شاهد	Control + Aflatoxin شاهد+ آفلاتوکسین	Control + Plant extracts شاهد+ عصاره های گیاهی	Control + Aflatoxin + Plant extracts شاهد+ آفلاتوکسین+ عصاره های گیاهی	P Value میزان احتمال
Villus height (µm) ارتفاع ویلی (میکرومتر)	5.66±0.21 ^b	5.18±0.25 ^b	6.86±0.3 ^a	5.82±0.25 ^b	0.0024
Crypt depth (µm) عمق کریپت (میکرومتر)	0.85±0.04	0.86±0.04	0.8±0.04	0.81±0.03	0.6987
Goblet cell numbers in each mm تعداد سلول های کابلت در هر میلی متر	9.09±0.11 ^{ab}	9.30±0.10 ^a	8.59±0.25 ^b	8.75±0.21 ^{ab}	0.0450
Villus height to crypt depth ratio نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت	6.75±0.0 ^{bc}	6.00±0.25 ^c	8.54±0.23 ^a	7.17±0.38 ^b	0.0011

بررسی‌ها نشان می‌دهد که افزایش ارتفاع ویلی‌های روده‌ای و کاهش عمق کریپت‌های روده‌ای سبب افزایش ظرفیت جذبی روده کوچک شده و هر چه پرزها بلندتر باشد از عبور سریع مواد غذایی ممانعت کرده و در جذب بهتر مواد غذایی و عملکرد پرنده و بهبود ضریب تبدیل غذایی می‌شود (پترسون و همکاران ۱۹۹۹). به نظر می‌رسد که اثرات عصاره‌های گیاهان دارویی نظیر آویشن و پونه کوهی در تحقیق حاضر بر روی ساختار بافت شناسی روده علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی که به واسطه ترکیبات سازنده دارا هستند وابسته به تعادل بین تحریکات بافتی و اثرات مفید بر روی سلامت روده از نظر کاهش تعداد عوامل بیماری‌زای مضر روده‌ای و نیز بهبود ضخامت روده و ترشحات موکوسی در ناحیه می- باشد.

نتیجه گیری

تغذیه جوجه‌های گوشتی با سم آفلاتوکسین B1 سبب کاهش وزن، افزایش ضریب تبدیل غذایی و اثرات منفی بر ریخت شناسی روده کوچک و فراسنجه‌های

مصرف آفلاتوکسین در جوجه اردک‌ها هم سبب کاهش ارتفاع ویلی‌های روده باریک می‌شود، به گونه‌ای که آفلاتوکسین به میزان ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم خوراک سبب کاهش قابل توجه ارتفاع ویلی‌های ایلئوم شده است. هم چنین نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت نیز در تمامی تیمارهای دریافت کننده سم کاهش یافت (وان و همکاران ۲۰۱۳). کاهش ارتفاع ویلی‌ها و کاهش رشد متعاقب مسمومیت با آفلاتوکسین B1 با دوز ۰/۰۲ میلی‌گرم در کیلوگرم در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (یونس و همکاران ۲۰۱۰). افزایش ارتفاع ویلی‌های روده با افزایش قابلیت جذب مواد غذایی و بهبود خصوصیات عملکردی رابطه مستقیمی دارد (کندلوسی و همکاران ۲۰۱۲). مصرف عصاره‌های گیاهی و اسیدهای آلی در بهبود فرآیندهای هضم و جذب و افزایش ارتفاع ویلی‌های روده‌ای حایز اهمیت است (کندلوسی و همکاران ۲۰۱۲). گیاهان دارویی و عصاره‌های آن‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند که این ویژگی در ترکیبات فنلی گیاهان تیره نعناعیان همانند پونه بارزتر می‌باشد (بوتسگلو و همکاران ۲۰۰۲).

اثرات منفی ناشی از سم آفلاتوکسین B₁ موثر باشد. بیوشیمیایی خون شده و افزودن عصاره‌های آویشن و پونه کوهی به جیره مصرفی مرغان می‌تواند در کاهش

منابع مورد استفاده

- Alcicek AM Bozkurt M and Cabok M, 2004. The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in turkey on broiler performance. *South African Journal of Animal Science* 6: 89-94.
- Applegate TJ, Schatzmayr G, Prisket K, Troche C and Jiang Z, 2009. Effects of aflatoxin culture on intestinal function and nutrient loss in laying hens. *Poultry Science* 88:1235-1241..
- Botsoglou NA, Florou Paneri P, Christaki E, Fletouris DJ and Spais AB, 2002. Effect dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Science* 62: 259-265.
- Burt S, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food- a review. *International Journal of Food Microbiology* 94:223-253.
- Cabuk M, Bozkurt M, Alcicek A, Akbas Y and Kucukyimaz K, 2006. Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broiler from young and old breeder flock. *South African Journal of Animal Science* 36: 324 - 54.
- Cross DE, Svoboda KHK, Mcdevitt R and Acamovic T, 2002. Effects of thymus vulgaris L. Essential oils as an in vivo dietary supplement on chicken intestinal microflora. *Proceedings of 33rd International Symposium*. P:77-89.
- Deabes M, Neveen H, Abou E and Lamia T, 2011. In Vitro Inhibition of Growth and Aflatoxin B₁ Production of *Aspergillus Flavus* Strain (ATCC 16872) by Various Medicinal Plant Essential Oils. *Macedonian Journal of Medical Science* 15(4): 345-350.
- Denli M, Okan F, and Uluocak AN, 2004. Effect of dietary supplementation of herb essential oils on the growth performance, carcass and intestinal characteristics of quail (*Coturnix coturnix japonica*.) *South African Journal of Animal Science* 34: 241-250.
- Dersjant-Li Y, Verstegen MWA and Gerrits WJ, 2003. The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisin in diets on growing pigs and poultry. *Nutritional Research Review* 16: 223–239.
- Devegowda G and Murthy TNK, 2005. Mycotoxins: Their effects in poultry and some practical solutions. In *The Mycotoxin Blue Book*; Diaz, D. E., Ed.; Nottingham University Press: Nottingham, UK, pp: 25–56.
- Duncan DB, 1955. Multiple Range and Multiple False Tests. *Biometrics*. 11:1-42.
- El-Nekeety AA, Mohamed SR, Hathout AS, Hassan NS, Aly SE and Abdel-Wahhab MA, 2011. Antioxidant properties of Thymus vulgaris oil against aflatoxin-induced oxidative stress in male rats. *Toxicology Journal* 57: 984–991.
- Eralan G, Essz D, Akdogan M, Sahindokuyucu F and Altrintas L, 2005. The effects of aflatoxin and sodium bentonite and alone on some blood electrolyte levels in broiler chickens. *Turkish Veterineri like ve Hayvanclk Dergisi* 29: 601-605.
- Gudarzi M, Modiri D and Safamehr A, 2006. Effect of add low levels of zeolite in the diet containing Aflatoxin on performance of broiler chickens. *Journal New Agriculture Science* 2:23-37.
- Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Deferera D, Somken A, Polissio M, Adiguzel A and Ozkan H, 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia*L.ssp. *longifolia*. *Food Chemistry* 103: 1449- 146.
- Hajhashemi V, Sadraei H, Ghannadi AR and Mohseni M, 2000. Antispasmodic and anti-diarrhoeal effect of *Satureja hortensis* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology* 71: 187-192.
- Hedayati M, Manafi M, Yari M and Mousavipour SV, 2014. Commercial Broilers Exposed to Aflatoxin B₁: Efficacy of a Commercial Mycotoxin Binder on Internal Organ Weights, Biochemical Traits and Mortality. *International Journal of Agriculture and Forestry* 4:351-358.

- Hedayati M, Manafi M and Yari M, 2014. Aflatoxicosis in Broilers: Efficacy of a Commercial Mycotoxin Binder on Performance and Immunity Parameters International Journal of Ecosystem 4:176-183.
- Hernandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J and Megias MD, 2004. Influence of Tow Plant Extracts on Broiler Performance, Digestibility and Digestive Organ Size. Poultry Science 83: 169-174.
- Horvathova E, Slamenova D and Navarova J, 2010. Administration of rosemary essential oil enhances resistance of rat hepatocytes against DNA-damaging oxidative agents. Food Chemistry 123:151-156.
- Jafari B, Kamerani M and Rezazadehreyhani Z, 2011. Influence of different level of Spearmint (*Mentha spicata*) extract on different parameters of Laying Hens. Annals of Biologica Research 6:517-521.
- Jordan FTW and Patterson M, 2007. Aflatoxicosis in Poultry Diseases, 4th ed. W. B. Saunders, pp: 450-490.
- Kandellosi MR and Mirzaeei Aghjeh Gheshlagh F, 2012. Effect of probiotic saccharomyces cervisia and organic acids on performance and small intestinal morphology in broiler chickens. Research On Animal Production 6: 25-34.
- Kubena LF, Harvey RB, Bailey RH, Buckley SA and Rottinghaus GE, 1998. Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate (T-Bind™) on mycotoxigenesis in young broilers chickens. Poultry Science 77: 1502-1509.
- Lee SE, Campbell BC, Russel Molyneux J, Hasegawa S and Lee HS, 2001. Inhibitory effects of naturally occurring compounds on aflatoxin B1 biotransformation. J. of Agri. and Food Chemistry 49: 5171-5177
- Lee KW, Everts HH, Kappert J, Wouterse H, Frehner M and Beynen AC, 2004. Cinnaminaldehyde, but not thymol, counteracts the carboxymethyl cellulose-induced growth depression in female broiler chickens. International Journal of Poultry Science 3: 608-612.
- Leeson S, Diaz GJ and Summres JD, 1995. Poultry metabolic disorders and mycotoxins. University Books. Guelph, Ontario. Canada.
- Liu YL, Meng GQ, Wang HR, Zhu HL, Hou YQ and Wang WJ, 2011. Effect of three mycotoxin adsorbents on growth performance, nutrient retention and meat quality in broilers fed on mould-contaminated feed. British Poultry Science 52: 255-263.
- Manafi M, Narayana-Swamy HD and Pirany N, 2009. In vitro binding ability of mycotoxin binder in commercial broiler feed. African Journal of Agricultur Research 4: 141-143.
- Manafi M, 2011. Aflatoxins - Biochemistry and Molecular Biology, InTech Publishers. 2: 20-25.
- Manafi M, Mohan K and Noor Ali M, 2011. Effect of Ochratoxin A on Coccidiosis-Challenged Broiler Chicks. World Mycotoxin Journal 4: 177-181.
- Manafi M and Khosravinia H, 2013. Effects of Aflatoxin on the Performance of Broiler Breeders and Its Alleviation through Herbal Mycotoxin Binder. Journal of Agriculture Science and Technology 15: 55-63.
- Marija M, Škrinjar T and Nevena T, 2009. Antimicrobial effects of spices and herbs essential oils. APTEFF 40: 1-220.
- Moghtader M, Salari H and Farahmand A, 2008. Evaluation of the antifungal effects of rosemary oil and comparison with synthetic borneol and fungicide on the growth of *Aspergillus flavus*. Journal of Ecology and the Natural Environmental 3: 210-214.
- Oguz H and Parlat SS, 2004. Effect of dietary mannanoligosaccharide on performance of Japanese quail affected by aflatoxicosis. South African Journal of Agricultur Science 34: 144-148.
- NRC, 1994. Nutrient Requirements for Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Peterson AL, Qureshi MA, Ferket PR and Fuller J. 1999. Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of β -hydroxy- β -methyl butyrate. Immunopharmacology and Immunotoxicology 21: 2, 307- 330.
- Rauber RH, Dilkin P, Giacomini LZ, Araujo de Almeida CA and Mallmann CA, 2007. Performance of Turkey Poults Fed Different Doses of Aflatoxins in the Diet. Poultry Science 86:1620-1624.
- Raju MVLN and Devegowda G, 2002. Esterified glucomannan in broiler chicken diets contaminated with aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin: Evaluation of its binding ability (in vitro) and efficacy as immunomodulator. Asian-Australian Journal of Animal Science 15: 1051-1056.

- Razzaghi-Abyaneh M, Shams-Ghahfarokhi M, Yoshinari T, Rezaee MB, Nagasawa H and Sakuda S, 2008. Inhibitory effects of *Satureja hortensis* L. essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Food Microbiology* 123: 228-233.
- Roquia EH, 2012. Antifungal activity of some essential oils on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production. *Journal of Food Agriculture and Environmental* 10: 274-279.
- Sarica S, Ciftci A, Demir E, Kilinc K and Yildirim Y, 2005. Use of antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives with and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. *South African Journal of Animal Science* 35: 61-72.
- SAS Institute, 2003. SAS Users guide: Statistics. Version 9.12. SAS Institute Inc., Cary, NC. PP: 126 – 178.
- Seif YM, Associate Editors: Fadly AM, Glisson JR, Mc Dougald LR, Nolan LK and Swayne DE, 2008. Mycotoxicosis Infections, Chapter 31, 12th Edition *Diseases of Poultry*.
- Tessari ENC, Oliveira CAF, Cardoso ALSP, Ledoux DR and Rottinghaus GR, 2006. Effect of aflatoxin B1 and fumonisin B1 on body weight, antibody titres and histology of broiler chicks. *British Poultry Science* 47:357-364.
- Uyganoglu M, Canbek M, Aral E and Husru CBK, 2008. Effect of carvacrol upon the liver of rats undergoing partial hepatectomy. *Phytomedicine* 15: 226-229.
- Valdivia A, Martinez A, Damian F, Quezada T, Ortiz R, Martinez C, Llamas J, Rodriguez M, Yamamoto L and Jaramillo F, 2001. Efficacy of N-acetylcysteine to reduce the effects of aflatoxin B1 intoxication in broiler chickens. *Poultry Science* 80: 727-734.
- Wan XL, Yang ZB, Yang WR, Jiang SZ, Zhang GG, Johnston SL and Chi F, 2013. Toxicity of increasing aflatoxin B1 concentrations from contaminated corn with or without clay adsorbent supplementation in ducklings. *Poultry Science* 92:1244-1253.
- Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA and Wang MQ, 2003. Effects of dietary fructo oligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microbiota and morphology of male broilers. *Poultry Science* 82:1030-1036.
- Yang J, Bai F, Zhang K, Lv X, Bai S, Zhao L, Peng X, Ding X and Li Y, 2012. Effects of feeding corn naturally contaminated with AFB1 and AFB2 on performance and aflatoxin residues in broilers. *Czech Journal of Animal Science* 57: 506-515
- Yunus AW, Awad WA, Kroger S, Zentek J and Bohm J, 2010. In vitro aflatoxin B1 exposure decreases response to carbamylcholine in the jejunal epithelium of broilers. *Poultry Science* 89:1372-1378.
- Yunus AW, Ghareeb K, Abd-El-Fattah AAM, Twaruzek M and Bohm J, 2013. Toxicity of increasing aflatoxin B1 concentrations from contaminated corn with or without clay adsorbent supplementation in ducklings. *Poultry Science* 92:1244-1253.

The effect of concomitant use of ethanolic mixture extractions of Thyme and Oregano on performance and morphology of gastrointestinal tract in broilers fed contaminated feed with Aflatoxin B₁

M Manafi^{1*}, M Hedayati² and H Arak²

Received: August 27, 2016 Accepted: April 15, 2018

¹Associate Professor and Assistant Professor, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, Malayer University, Malayer, Iran

²PhD Scholar, Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University (TMU), Tehran- Iran

*Corresponding author: Email: manafim@malayeru.ac.ir

Introduction: Aflatoxins are a class of secondary metabolites of fungi, which are present in the form of B (B1 and B2), G (G1 and G2), and M (M1 and M2) and are distinguished from each other through chromatography and fluorescent light. Aflatoxin B1 is more abundant in the feedstuff and more toxic than all other types of toxins (Manafi et al. 2011). Aflatoxins are the result of the metabolic activity of *Aspergillus* fungi, and in particular *Aspergillus flavus*, which can cause food contamination of living creatures. Aflatoxicosis has caused severe economic losses in the poultry industry and has had a negative impact on duck, broilers, laying hens, turkeys and quails (Deabes et al. 2011). The sensitivity of chickens to aflatoxin negative effects depends on a wide range of factors such as breed, aflatoxin concentration, age, nutritional status, as well as the capacity of liver microsomal enzymes to decontaminate aflatoxin. Mycotoxins normally affect intestinal secretions. The use of aflatoxin is proven to reduce the production of pancreatic secretions and changes in the intestinal morphology (the depth of the intestinal crypts), and the special activity of disaccharide and maltase in broiler's intestine (Applegate et al. 2009). Increasing free radical formation or reducing the level of antioxidants in the body through aflatoxicosis leads to oxidative stress, which can lead to tissue destruction through the physical, chemical and physiological conditions (Eralsan et al. 2005). Reducing the toxicity of aflatoxin in broiler chickens as an important source of animal-based proteins for human beings by utilizing a combination of plant derivatives is considered vital. It has been suggested that the antioxidant properties of essential oils and plant extracts due to the presence of phenolic groups as a hydrogen supplier to peroxide radicals produced during oxidative stress, which will delay or deny peroxide formation (Roquia 2012).

Materials and method: The current experiment is designed in order to study effects of ethanolic extractions of thyme and oregano on performance, blood biochemical parameters and small intestinal properties of broilers fed diets contaminated with aflatoxin B₁. The total number of 300 Ross 308 chicks (mixed sex) were used in completely randomized design with 4 treatments and 5 replicates with 15 birds in each replicate. Treatments consisted of: 1- basal diet without aflatoxin B₁ (control); 2- Basal diet with Aflatoxin group (basal diet + 600 ppb aflatoxin B₁); 3- Basal diet with mixture of ethanolic extraction of thyme and oregano (either 500 ppm) and 4- Basal diet with Aflatoxin + mixture of ethanolic extraction of thyme and oregano (either 500 ppm). In the current study, performance including mortality, feed intake, and weight of birds were recorded weekly till the end of the rearing period. At the end of production period, from each experimental unit, 2 birds were selected and after killing by humanized method, sampling for intestinal morphology from the ileum part (with a distance of 2 cm from Meckl's appendix) with the length of 5 cm was done. Also, in order to check the blood parameters from each experimental group, two birds were randomly selected and blood samples were collected. Then, blood biochemical parameters included liver enzymes (ALT, AST and ALP), triglycerides, cholesterol, LDL and HDL were measured using the Pars Azmon Company kits and the Autoanalyzer apparatus (US, Technicon RA-1000). Aflatoxin B1 was purchased from Sigma Aldrich Company and was prepared according to the manufacturer's

instructions for the preparation of the poison. Six mg of poison was mixed with 100 cc of 96% ethanol and then, sprayed on 1 kg of feed to obtain a homogeneous mixture of aflatoxin B1 contaminated feed. Ethanolic extracts of thyme and oregano were prepared by the Maceration method in the laboratory of the Department of Animal Science, Malayer University. The data obtained from this experiment were analyzed by SAS software. Mean comparison was done using Duncan's multiple -domain test at 5% error level.

Results and discussion: The results of the experiment showed that the weight of birds receiving aflatoxin B1 contaminated rations were reduced compared to the control group ($P<0.05$). Weight gain of broiler chicks in the experimental group receiving aflatoxin with a mixture of thyme and oregano extract increased compared to the experimental group receiving aflatoxin alone in the diet ($P<0.05$). This is in accordance with the reports of Manafi et al. (2009) who showed that consumption of one mg per kilogram of aflatoxin reduced the yield and growth of broiler chickens up to 5 percent. Decreased feed intake and impaired metabolism of energy and fat due to the use of aflatoxin in the diet due to changes in taste and disturbance in digestion and absorption mechanisms have been reported in various studies (Raju and Devegowda 2002). The presence of mannan oligosaccharide compounds and antioxidant compounds in thyme and oregano such as thymol and carvacrol may have antioxidant properties against negative activity of aflatoxin and inhibitory effects on metabolic changes caused by aflatoxin such as liver toxicity and contribute to reducing weight gain in broilers (Burt, 2004). A mixture of thyme and oregano extracts, and the consumption of feed in the experimental group receiving aflatoxin in comparison to the control group showed a significant decrease. Addition of plant extracts to aflatoxin contaminated diets increased significantly feed intake compared with control group ($P<0.05$). The increased in feed intake is due to the addition of herbal extracts. Thyme have appetitive factors like thymol and carracrol and other growth factors, which stimulates digestive enzymes and increases daily feed intake of broiler chickens (Cabuk et al. 2006). The group receiving herbal extracts in the 6th week had a lower FCR than the control group and the aflatoxin received group ($P<0.05$). Cinnamon-containing compounds and Thymol and Carvacrol have probably a role in improving the chicken feed conversion rate (Cabuk et al. 2006). Also addition of thyme and oregano extracts in aflatoxin challenged broilers caused a significant decrease in ALT, AST, ALP, LDL, and HDL ($P<0.05$). This might be due to the antioxidant properties of two plants, which reduce the toxic effects of oxidative toxicity on the liver and reduce cholesterol, triglyceride and liver enzymes. The reason for this decrease is the inhibitory effects of these extracts on the action of key enzymes such as HMG-COA reductase, which is present in the production of lipids and cholesterol (Sarica et al. 2005). Chickens receiving thyme and oregano extract had the highest villus height and showed a significant differences in comparison with other experimental groups ($P<0.05$). The villus height to crypt depth ratio was the highest in the group receiving the herbal extracts and the lowest amount was observed in the group receiving the aflatoxin and the addition of herbal extract to the contaminated diet improved this index significantly ($P<0.05$). Increasing the crypt depth in the ileum region and reducing digestion and absorption in this region might be due to the damage in the intestinal mucosal tissues of chickens fed contaminated diets.

Conclusions: The results obtained from this research states that dietary supplementation with plant extracts of thyme and oregano reduces the negative effects of aflatoxin on performance, gastrointestinal index and improves the biochemical parameters in broiler chickens challenged with aflatoxicosis.

Key words: Aflatoxin B1, Broilers, Herbal extracts, Intestinal morphology, Performance