دانشگاه بیرجند
دانشکده کشاورزی
گروه علوم دامی

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد رشته علوم دامی (مدیریت پرورش و تولید طیور)

عنوان:

اثر مقادیر مختلف هسته خرما در جیره جوجه های گوشتی آلوده شده با آفلاتوکسین B_1 بر عملکرد و برخی پارامترهای خونی

استاد راهنما:

دکتر نظر افضلی

اساتید مشاور:

دکتر آرش امیدی
دکتر همایون فرهنگ فر

تحقیق و نگارش:

فهیمه دانش یار

تابستان ۱۳۹۱

سپاس تنها او را سزاست، یگانه آفریدگار بی همتایی که همواره مهر و مهربانیش را بر آفریدگار خویش ارزانی داشته و نیکو رهنمایی که نور است و نور است و نور.

تقدیم به:

مادر و پدر بزرگوارم، آنان که با واژه نجیب عشق، آشنایی دارند و عشق را تین را می شناسند و عطر رویایی عشق را استشمام کرده اند. دلدادگانی که هوای باغ مهر و عاطفت را استشاق کرده اند. عزیزانی که دیدگانشان با نور عشق تلألویی خدایی دارد. . .

بر خود لازم می دانم از تمام کسانی که مراد انجام این پژوهش همراهی کردند صمیمانه تشکر کنم چرا که به مصداق "من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق" نهایت تشکر از خالق در گرو تشکر از مخلوقات او نهفته است. از خواهر و برادرانم که در طول تحصیل با از خودگذشتگی همراه من بودند تشکر و قدردانی می کنم.

همچنین از:

جناب آقای دکتر افضلی، استاد بی همتا و الگوی علمی اخلاقی که هدایت علمی این پایان نامه را تقبل فرمودند.

جناب آقای دکتر فرهنگ فر، مدیریت محترم گروه علوم دامی دانشگاه بیرجند، استاد مشاور که با زر گواری تمام در پیشبرد اهداف این پایان نامه کمک های شایانی کردند.

اساتید محترم گروه علوم دامی دانشگاه بیرجند، دکتر حسینی، خانم مهندس عابدینی، دکتر امیدی، دکتر سریر، دکتر منتظر تربتی، دکتر فتحی، دکتر باشتنی که در طول این مدت از محضر آنها کسب علم و اخلاق کردم کمال تشکر و قدردانی را دارم.

کارشناسان و پرسنل شریف گروه علوم دامی آزمایشگاه تغذیه دام خانم مهندس یوسفی، آزمایشگاه فیزیولوژی دام خانم مهندس عابدینی، آزمایشگاه تکنولوژی بذر آقای مهندس صفایی، کارشناس گروه علوم دامی خانم مهندس آزادنیا و ایستگاه تحقیقاتی مرغداری گوشتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند آقای مهندس نعیمی پور که در طول انجام مراحل علمی پایان نامه با اینجانب همکاری نمودند تشکر می کنم.

و با تشکر فراوان از همراهی دوستان خوبم در انجام مراحل علمی پایان نامه اینجانب:

خانم ها: حمیرا خالقی درمیان، فائزه وارسته، معصومه ولوی، مریم بردبار، ناهید نگاری و زهرا رضازاده.

آقایان: مهدی خسروانی، هادی قنبرزاده، محمد مهدی قاسمی، حسین رسولی، مرتضی تیموزاده، محمدرضا خدادوست، اسدالله وطن خواه، رضا طاهریان، حمید زارع پور و حسین شجاعی.

فہرست مطالب

فصل اول: مقدمه

۱-۱ مقدمه ۱
۱-۲ مایکوتوکسین ها ۱
۱-۲-۱ آفلاتوکسین ها ۱
۱-۳ هسته خرما ۳
۱-۴ اهداف ۴

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱ : مقدمه ۵
۲-۲: مایکوتوکسین ها و اهمیت آنها ۵
۲-۳ : معرفی آفلاتوکسین ها ۷
۲-۳-۱ : انواع آفلاتوکسین ها ۷
۲-۳-۲ : خواص بیولوژیکی آفلاتوکسین ها ۱۰
۲-۳-۳ : روش‌های تشخیص، تخلیص و شناسایی آفلاتوکسین‌ها ۱۱
۲-۳-۴: روش‌های حذف و غیرفعال کردن آفلاتوکسین‌ها ۱۲
۲-۳-۵ آفلاتوکسیکوزیس ۱۸
۲-۳-۵-۱ آفلاتوکسیکوزیس در ماکیان ۲۰
۲-۳-۵-۲ آفلاتوکسیکوزیس در جوجه های گوشتی ۲۱
۲-۳-۵-۲-۱ نشانه های درمانگاهی و تأثیر بر عملکرد ۲۲
۲-۳-۵-۲-۲ جراحات ظاهری و میکروسکوپی ۲۳
۲-۳-۵-۲-۳ تغییرات بیوشیمیایی و آسیب شناسی بالینس ۲۴
۲-۳-۵-۳ آفلاتوکسیکوزیس در مرغان تخم گذار ۲۷
۲-۴ خرما و هسته آن ۲۷
۲-۴-۱ گیاهشناسی خرما ۳۰
۲-۴-۲ تاریخچه خرما ۳۱
۲-۴-۳ مراحل رشد خرما ۳۲
۲-۴-۴ سطح زیر کشت در کشور و مقدار تولید ۳۴
۲-۴-۵ ترکیبات شیمیایی ۳۴
۲-۴-۶ ارزش غذایی خرما ۳۶
۲-۴-۷ خواص داروئی ۳۷
۲-۴-۸ محصولات فرعی خرما ۳۸
۲-۴-۸-۱ مهمترین فرآورده های تخمیری خرما ۳۹
۲-۴-۸-۲ مهمترین فرآورده های غیر تخمیری خرما ۴۰
۲-۴-۹ هسته خرما ۴۲
۲-۴-۹-۱ هسته گیری میوه خرما ۴۲
۲-۴-۹-۲ تحقیقات انجام شده در رابطه با خرما و هسته آن در سالهای گذشته ۴۴

۲-۴-۹-۳ بررسی ارزش تغذیه ای هسته خرما و میزان کاربرد آن در جیره دام و طیور ۴۸
۲-۴-۹-۴ بررسی هسته خرما از نظر دارا بودن ترکیبات فعال زیستی مانند آنتی اکسیدانها، هورمون ها، آنتی باکتریالها و غیره ۵۱
۲-۴-۹-۵ هسته خرما به عنوان پری بیوتیک ۵۷
۲-۴-۹-۵-۱ نقش احتمالی پری بیوتیکی هسته خرما ۵۷
۲-۴-۹-۵-۲ معرفی پری بیوتیکها ۵۷
۲-۴-۹-۵-۳ رده های پری بیوتیک ها ۵۸
۲-۴-۹-۵-۴ مکانیسم فعالیت پری بیوتیک ها ۵۹
۲-۴-۹-۵-۵ اثرات پری بیوتیک ها ۶۰
۲-۴-۹-۵-۵-۱ مانان اولیگو ساکارید (MOS) ۶۰
۲-۴-۹-۵-۵-۲ فروکتوالیگو ساکاریدها (FOS) ۶۳
۲-۴-۹-۵-۵-۳ ایزومالتواولیگوساکاریدها (IMO) ۶۵
۲-۴-۹-۵-۶ تحقیقات مقایسه ای آنتی بیوتیک ها و پری بیوتیک ها ۶۵
۲-۴-۹-۵-۷ تأثیر پری بیوتیک بر عملکرد مرغ های تخمگذار ۶۶

فصل سوم: مواد وروش ها

۳-۱ مراحل اجرای طرح ۶۸
۳-۲ مراحل *in vitro* ۶۸
۳-۲-۱ نحوه کشت قارچ ۶۸
۳-۲-۱-۱ آماده سازی محیط کشت ۶۸
۳-۲-۱-۲ کشت قارچ ۶۹
۳-۲-۲ تولید سم به روش تخمیر ۶۹
۳-۲-۲-۱ آماده سازی فلاسکهای محتوی برنج ۶۹
۳-۲-۲-۲ آماده سازی قارچ ۶۹
۳-۲-۲-۳ کشت قارچ بر روی برنج ۶۹
۳-۲-۳ اندازه گیری آفلاتوکسین B_1 به روش TLC ۶۹
۳-۲-۳-۱ مواد شیمیایی ۷۰
۳-۲-۳-۲ روش انجام کار ۷۰
۳-۳ مراحل *in vivo* ۷۴
۳-۳-۱ محل اجرای آزمایش ۷۴
۳-۳-۲ آماده سازی سالن ۷۵
۳-۳-۳ جوجه های مورد آزمایش ۷۵
۳-۳-۴ دانخوری و آبخوری ۷۶
۳-۳-۵ نور، تهویه و رطوبت سالن ۷۶
۳-۳-۶ دمای سالن ۷۶
۳-۳-۷ واکسیناسیون ، برنامه دارویی و بهداشتی ۷۷
۳-۳-۸ جیره های آزمایشی و تنظیم آنها ۷۸
۳-۳-۹ پودر هسته خرما ۷۹

۳-۳-۱۰ تهیه و تنظیم جیره های آزمایشی ۷۹
۳-۳-۱۱ صفات مورد مطالعه و جمع آوری داده ها ۸۳
۳-۳-۱۱-۱ برآورد خوراک مصرف خوراک ۸۳
۳-۳-۱۱-۲ برآورد وزن زنده ۸۳
۳-۳-۱۱-۳ افزایش وزن ۸۳
۳-۳-۱۱-۴ برآورد ضریب تبدیل غذایی (FCR) ۸۳
۳-۳-۱۱-۵ صفات مربوط به لاشه ۸۴
۳-۳-۱۱-۶ نسبت وزن اندامهای داخلی و حساس ۸۴
۳-۳-۱۱-۷ فراسنجه های خونی ۸۴
۳-۳-۱۱-۸ آسیب بافتی کبد ۸۵
۳-۳-۱۲ مدل آماری طرح و آنالیز داده ها ۸۵

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱ نتایج تحقیقات آزمایشگاهی ۸۷
۴-۱-۱ رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس برروی محیط کشتPDA ۸۷
۴-۱-۲ رشد قارچ برروی محیط کشت برنج ۸۷
۴-۱-۳ اندازه گیری آفلاتوکسین به روش TLC ۸۷
٤-۲ صفات مربوط به عملکرد ۸۹
٤-۲-۱ مصرف خوراک ۸۹
۴-۲-۲ افزایش وزن ۹۴
۴-۲-۳ ضریب تبدیل غذایی (FCR) ۹۹
۴-۳ اجزاء لاشه ۱۰۴
۴-۳-۱ صفات مربوط به لاشه ۱۰۴
۴-۳-۲ لاشه آماده طبخ ۱۰۴
۴-۳-۳ سینه ۱۰۵
۴-۲-۴ ران ۱۰۵
۴-۳-۵ نسبت وزن پشت و گردن ۱۰۶
۴-۳-۶ نسبت وزن بال ۱۰۶
۴-۳-۷ نسبت وزن پا ۱۰۶
۴-۳-۸ نسبت وزن اندامهای داخلی و حساس ۱۰۹
۴-۳-۸-۱ پیش معده ۱۰۹
۴-۳-۸-۲ سنگدان ۱۰۹
۴-۳-۸-۳ کبد ۱۱۰
۴-۳-۸-۴ طحال ۱۱۱
۴-۳-۸-۵ چربی محوطه بطنی ۱۱۲
۴-۳-۸-۶ بورس فابریسیوس ۱۱۲
۴-۳-۸-۷ روده کوچک ۱۱۲

۴-۳-۸-۸ پانکراس ۱۱۳
۴-۳-۸-۹ قلب ۱۱۳
۴-۴ فراسنجه ها خونی ۱۱۸
۴-۴-۱ لیپیدها ۱۱۸
۴-۴-۱-۱ کلسترول ۱۱۸
۴-۴-۱-۲ تری‌گلیسرید ۱۱۹
۴-۴-۱-۳-۳ HDL ۱۱۹
۴-۴-۱-۴ LDL ۱۱۹
۴-۴-۲ دیگر فراسنجه های خونی ۱۲۲
۴-۴-۲-۱ کلسیم ۱۲۲
۴-۴-۲-۲ فسفر ۱۲۲
۴-۴-۲-۳ بیلی روبین تام ۱۲۳
۴-۴-۲-۴ آلبومین ۱۲۳
۴-۴-۲-۵ مجموع پروتئین سرم ۱۲۴
۴-۴-۳ آنزیم های سرم ۱۲۷
۴-۴-۳-۱آلانین آمینوترانسفراز (ALT) ۱۲۷
۴-۴-۳-۲ آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) ۱۲۸
۴-۴-۳-۳ گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) ۱۲۸
۴-۵ جراحات بافتی کبد ۱۳۱
۴-۶ نتیجه گیری کلی ۱۳۲
۴-۷ پیشنهادات ۱۳۳

فهرست منابع

منابع مورد استفاده ۱۳۴

فهرست جداول

فصل دوم

۲ -۱ مایکوتوکسین ها اصلی در مواد غذایی ۶
۲-۲ ترکیب شیمیائی هسته خرما (درصد) ۳۴
۲-۳ ترکیب کربوهیدراتی هسته خرما (به جز قند) بر اساس ماده خشک (درصد) ۳۴
۲-۴ مقایسه کالری خرما با سایر مواد در ۴۵۰ گرم ۴۱
۲-۵ میزان مواد متشکله خرما ۴۱
۲-۶ ظرفیت گلوکو مانانهای به دست آمده از مخمر ساکارومایسیس سرویسیه برای اتصال به مایکوتوکسین ها ۶۲
۲-۷ مقایسه آنتی بیوتیک های غذایی و مانان الیگو ساکاریدها ۶۶

فصل سوم

۳-۱ دمای سالن در هفته های آزمایش ۷۷
۳-۲ برنامه واکسیناسیون مورد استفاده در طول اجرای طرح ۷۸
۳-۳ ترکیبات مختلف جیره های غذایی مرحله آغازین (۱-۱۴ روزگی) بر حسب درصد ۸۰
۳-۴ ترکیبات مختلف جیره های غذایی مرحله رشد (۱۴-۲۸ روزگی) بر حسب درصد ۸۱
۳-۵ ترکیبات مختلف جیره های غذایی مرحله پایانی (۲۸-۳۵ روزگی) بر حسب درصد ۸۲

فصل چهارم

۴-۱ میانگین مصرف خوراک جوجه ها در هفته های مختلف و کل مدت آزمایش (جوجه/گرم) ۹۲
۴-۲ میانگین افزایش وزن جوجه ها در هفته های مختلف و کل مدت آزمایش (جوجه/گرم) ۹۷
۴-۳ میانگین ضریب تبدیل غذایی جوجه ها در هفته های مختلف و کل دوره آزمایش (جوجه/گرم) ۱۰۲
۴-۴ میانگین وزن نسبی اجزاء لاشه (٪) ۱۰۷
۴-۵ میانگین وزن نسبی اندام های حساس (٪) ۱۱۵و ۱۱۶
۴-۶ میانگین غلظت لیپیدهای سرم خون (میلی‌گرم / دسی لیتر) ۱۲۰
۴-۷ میانگین غلظت برخی از متابولیت های خونی (میلی‌گرم / دسی لیتر) ۱۲۵
۴-۸ میانگین غلظت برخی از آنزیم های کبدی (میلی‌گرم / دسی لیتر) ۱۲۹

فهرست شکل ها

فصل دوم

۲-۱ ساختمان آفلاتوکسین B_1 ۷
۲-۲ انواع آفلاتوکسین ها ۹
۲-۳ بذر خرما ۳۹
۲-۴ مقایسه هسته خرما در مقابل خرمای کامل ۴۲
۲-۵ وسیله ای دستی برای بیرون آوردن هسته خرما در جهرم ۴۳
۲-۶ ماشین هسته گیر خرما ۴۴
۲-۷ روش فرضی تخریب بیولوژیکی آفلاتوکسین B_1، بوسیله تخمیر ۴۴

فصل سوم

۳-۱ وسایل مورد نیاز جهت کشت قارچ آسپرژیلوس فلاووس ۷۲
۳-۲ آماده سازی و طریقه کشت قارچ آسپرژیلوس فلاووس، بر روی محیط کشت PDA ۷۳
۳-۳ آماده سازی و نحوه کشت قارچ آسپرژیلوس فلاووس بر روی محیط کشت برنج به روش IN VITRO ۷۳
۳-۴ مراحل عملی اندازه گیری سم آفلاتوکسین B_1 به روش TLC ۷۴

فصل چهارم

۴-۱ مراحل رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس سویه ۲۹۹۹ از روز اول تا هفتم و روز بیست و یکم ۸۸
۴-۲ مراحل رشد قارچ آسپرژیلوس پارازیتیکوس سویه ۲۹۹۹ بر روی محیط کشت برنج از روز اول تا هفتم ۸۸
۴-۳ نقاط فلورسنس آفلاتوکسین B_1 تحت نور لامپ UV ۸۹
۴-۴ کبد طیور دریافت کننده جیره های آزمایشی ۱۳۲

فهرست نمودار ها

نمودار ۴-۱ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین مصرف خوراک در هفته های مختلف ۹۳
نمودار ۴-۲ تأثیر سطوح مختلف آفلاتوکسین B_1 بر میانگین مصرف خوراک در هفته های مختلف ۹۳
نمودار ۴-۳ تأثیر سطوح هسته خرما بر میانگین مصرف خوراک در هفته های مختلف ۹۴
نمودار ۴-۴ تأثیر تیمار های آزمایشی بر میانگین افزایش وزن در هفته های مختلف ۹۸
نمودار ۴-۵ تأثیر سطوح آفلاتوکسین B_1 بر میانگین افزایش وزن در هفته های مختلف ۹۸
نمودار ۴-۶ تأثیر سطوح هسته خرما بر میانگین افزایش وزن در هفته های مختلف ۹۹
نمودار ۴-۷ تأثیر تیمار های آزمایشی بر ضریب تبدیل غذایی در هفته های مختلف ۱۰۳
نمودار ۴-۸ تأثیر آفلاتوکسین B_1 بر ضریب تبدیل غذایی در هفته های مختلف ۱۰۳
نمودار ۴-۹ تأثیر سطوح هسته خرما بر میانگین ضریب تبدیل غذایی در هفته های مختلف ۱۰۴
نمودار ۴-۱۰ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین وزن نسبی اجزاء لاشه ۱۰۸
نمودار ۴-۱۱ تأثیر سطوح آفلاتوکسین B_1 بر میانگین وزن نسبی اجزاء لاشه ۱۰۸
نمودار ۴-۱۲ تأثیر سطوح هسته خرما بر میانگین وزن نسبی اجزاء لاشه ۱۰۹
نمودار ۴-۱۳ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین وزن نسبی اندام های حساس ۱۱۷
نمودار ۴-۱۴ تأثیر سطوح آفلاتوکسین B_1 بر میانگین وزن نسبی اندام های حساس ۱۱۷
نمودار ۴-۱۵ تأثیر سطوح آفلاتوکسین B_1 بر میانگین وزن نسبی اندام های حساس ۱۱۸
نمودار ۴-۱۶ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میانگین غلظت لیپید های سرم ۱۲۱
نمودار ۴-۱۷ تأثیر سطوح آفلاتوکسین B_1 بر میانگین غلظت لیپید های سرم ۱۲۱
نمودار ۴-۱۸ تأثیر سطوح هسته خرما بر میانگین غلظت لیپید های سرم ۱۲۲
نمودار ۴-۱۹ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر روی برخی از متابولیت های خونی ۱۲۶
نمودار ۴-۲۰ تأثیر سطوح آفلاتوکسین B_1 بر روی برخی از متابولیت های خونی ۱۲۶
نمودار ۴-۲۱ تأثیر سطوح هسته خرما بر روی برخی از متابولیت های خونی ۱۲۷
نمودار ۴-۲۲ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر روی میانگین برخی از آنزیم های کبدی ۱۳۰
نمودار ۴-۲۳ تأثیر سطوح آفلاتوکسین B_1 بر روی میانگین برخی از آنزیم های کبدی ۱۳۰
نمودار ۴-۲۴ تأثیر سطوح هسته خرما بر روی میانگین برخی از آنزیم های کبدی ۱۳۱

اثر مقادیر مختلف هسته خرما در جیره جوجه های گوشتی آلوده شده با آفلاتوکسین B_1 بر عملکرد و برخی پارامترهای خونی

در این آزمایش از ۲۱۶ قطعه جوجه گوشتی نر یکروزه سویه راس (۳۰۸) استفاده شد و با ۹ تیمار در۴ تکرار و ۶ مشاهده (جوجه) در هر تکرار و بصورت طرح فاکتوریل (۳×۳) در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل سه سطح (DP) پودرهسته خرما (۰، ۲ و ۴ درصد) و سه سطح (AFB_1) آفلاتوکسین B_1 (۰، ۱۵۰ ppb و ۳۰۰ ppb) انجام گردید. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) شاهد بدون AFB_1 و DP، ۲) ۱۵۰ ppb AFB1، ۳) ppb ۳۰۰ AFB_1، ۴) ۲ درصد DP، ۵) ۲ درصد DP و ppb ۱۵۰ AFB_1، ۶) ۲ درصد DP و ppb ۳۰۰ AFB_1، ۷) ۴ درصد DP ، ۸) ۴ درصد DP و ppb ۱۵۰ AFB_1، ۹) ۴ درصد DP و ppb ۳۰۰ AFB_1. جهت اجرای این طرح، ابتدا در آزمایشگاه قارچ آسپرژیلوس فلاووس سویه IR 111 در محیط کشت (Potato Dexterose Agar) PDA تکثیر شده و سپس بوسیله تخمیر برروی برنج، سم AFB_1 تولید شد. اندازه گیری میزان سم تولید شده توسط روش TLC (Thin layer chromatoghraphy) یا کروماتوگرافی لایه نازک انجام شد، میزان سم AFB_1 تولید شده بوسیله قارچ آسپرژیلوس فلاووس سویه IR 111، ۶۰ ppm براورد گردید. برازش داده های بدست آمده (داده های هفتگی وزن زنده، افزایش وزن بدن، مصرف خوراک، ضریب تبدیل غذایی و همچنین نتایج مربوط به فراسنجه های خونی) توسط نرم افزار آماری SAS (۱۹۹۱) و با رویه Mixed و به طریق داده های تکراردار در طول زمان (هفته ها و یا نوبت های رکوردگیری) انجام گرفت. مقایسه میانگین توسط روش توکی کرامر انجام شد. جیره ها بر اساس احتیاجات توصیه شده توسط کمپانی راس و با استفاده از نرم افزار UFFDA تنظیم شدند، طول دوره آزمایش ۳۵ روز بود. تفاوت معنی داری از نظر کاهش وزن و مصرف خوراک در تیمارهای محتوی ppb ۳۰۰ AFB_1 مشاهده شد ($P<0.05$). در جیره های محتوی سطح ppb ۳۰۰ AFB_1، نسبت وزن لاشه به مقدار معنی داری ($P<0.05$) کاهش یافت، در حالیکه، نسبت وزن کبد و روده پر به مقدار معنی داری($P<0.05$) افزایش یافت. تغییر معنی داری در نسبت وزن پا، پشت و گردن، بال، طحال، پانکراس، بورس فابریسیوس، چربی محوطه بطنی، پیش معده و قلب مشاهده نشد. افزایش معنی دار در وزن سنگدان و ران در سطوح اصلی هسته خرما مشاهده شد. سطوح اصلی AFB_1 سبب کاهش معنی دار ($P<0.05$) آلبومین و HDL شدند. تیمارهای آزمایشی تغییری در سطوح کلسیم، فسفر، تری گلیسرید، کلسترول و LDL سرم ایجاد نکردند. افزایش معنی داری($P<0.05$) درسطوح آنزیمهای ALT، AST و GGT در سطوح اصلی AFB_1 دیده نشد. در حالیکه، سطوح هسته خرما به تنهایی کاهش معنی داری بر سطح آنزیم GGT داشت ($P<0.05$). مکمل سازی ۴٪ هسته خرما در تیمارهای آلوده شده با ppb ۳۰۰ آفلاتوکسین B_1 نتایج مؤثری در جلوگیری از آثار سوء این سم بر روی عملکرد، پارامترهای خونی و کبد جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره های حاوی آفلاتوکسین B_1 داشت.

واژه های کلیدی: آفلاتوکسین B_1، جوجه گوشتی، پودر هسته خرما، عملکرد، پارامترهای خونی

فصل اول

مقدمه و اهداف

۱-۱ مقدمه

تغذیه همواره برای انسان از بدو خلقت تا کنون در درجه اول اهمیت قرار داشته و طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی، سلامتی نه تنها عدم ابتلا به بیماری است بلکه شخص سالم باید از تمام مظاهر زندگی لذت برده و کمترین رنجی را احساس نکند و در حد اعلای توانایی جسمی و فکری در خدمت جامعه خود و پیشرفت آن گام بردارد، به طوری که امروزه سطح تمدن و پیشرفت هر جامعه ای را از روی کیفیت تغذیه و شادابی جسمی و روحی افراد آن می سنجند.

۱-۲ مایکوتوکسین ها[1]

عوامل کشنده خفیف، دزهای غیرقابل رؤیت، آلوده کننده های غیرقابل اجتناب و سموم طبیعی، اصطلاحاتی هستند که به دسته ای از متابولیت های قارچی به نام مایکوتوکسین ها اطلاق می گردد. این ترکیبات شیمیایی طبیعی به دلیل اثرات زیان آور بر سلامت انسان مانند سرطان زایی و تاثیر نامطلوب بر تولید حیوان و صفات تولید مثلی، مورد توجه زیادی هستند. آلودگی خوراک یا غذا به مایکوتوکسین مشکل عمده اکثر نقاط دنیا می باشد. تعداد مایکوتوکسین هایی که علائم مسمومیت در پستانداران و طیور را سبب می شوند، بالغ بر ۳۰۰ نوع بوده و به طور پیوسته در حال افزایش است. برخی گزارش ها نشان می دهد که تقریباً ۲۵ درصد کل غلات دنیا به مایکوتوکسین های شناخته شده آلوده اند. علاوه بر این آنها قادرند از طریق غلات آلوده به زنجیره غذایی انسان و حیوانات وارد گردند و محصولاتی نظیر شیر، گوشت و تخم مرغ را آلوده کنند. امروزه شیوع مایکوتوکسیکوزیس حاد در پرورش طیور مدرن به ندرت رخ می دهد. با این حال، دزهای پایین مایکوتوکسین که احتمالاً غیرقابل تشخیص می باشد، مسئول کاهش بازده تولید وحساسیت زیاد به بیماری های عفونی بوده و می تواند منجر به کاهش سود تولیدکنندگان شود (Whiaker *et al.*, 1996).

۱-۲- ۱ آفلاتوکسین ها[2]

آفلاتوکسین ها سمومی هستند که بوسیله تعدادی از قارچ ها که برروی خوراک دام ومواد غذائی رشد می کنند، تولید شده ومی توانند بیماری آفلاتوکسیکوزیس را درحیوانات اهلی وانسان ایجاد کنند .در مورد این سموم و

[1] Mycotoxins
[2] Aflatoxins

بیماری های حاصله در سراسر جهان تحقیقات زیادی صورت گرفته است . زمان دقیق شناسایی آفلاتوکسین‌ها مشخص نشده است، اما به طور یقین، زمان آن به قبل از سال ۱۹۶۰ مربوط می‌شود (Whiaker *et al.*, 1996).

آفلاتوکسین عمدتاً توسط گونهٔ قارچ های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازایتیکوس تولید می شود. آسپرژیلوس جزء قارچ های سمی انباری است و در رطوبت و درجه حرارت بالا تکثیر پیدا می کند. تا کنون ۱۸ نوع آفلاتوکسین شناسایی شده اند ولی فقط آفلاتوکسین های B_1 و B_2 و G_1 و G_2 به طور طبیعی تولید می شوند. به علاوه آفلاتوکسین M_1 در شیر گاوهای شیری که خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1 را مصرف کرده اند، تشخیص داده شده است. آسپرژیلوس فلاووس عمدتاً آفلاتوکسین B_1 و B_2 را تولید می کند، در حالی که آسپرژیلوس پارازایتیکوس آفلاتوکسین های B_1 و B_2 و G_1 و G_2 را تولید می کند .

ضررهای اقتصادی آفلاتوکسین در صنعت طیور و همچنین آثار زیانبار ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین در انسان، از جمله محرز بودن نقش آفلاتوکسین B_1 در وقوع سرطان، انتقال آفلاتوکسین B_1 به تخم مرغ و شیر و مقاوم بودن آفلاتوکسین M_1 موجود در شیر، حتی در برابر استرلیزاسیون و پاستوریزاسیون، ضرورت چاره اندیشی در خصوص کنترل سموم قارچی خصوصاً آفلاتوکسین ها را صد چندان می کند. در حال حاضر، اکثر مواد مورد استفاده در خوراک دام و طیور در کشور ما، به خصوص ذرت، جو، پودر ماهی و .... که از بنادر وارد کشور می گردند، هنگام حمل، نگهداری و توزیع، به سموم قارچی آلوده می شوند. خصوصاً آنکه بنادر مهم وارداتی کشور در مناطق گرم، مرطوب و حاره ای قرار دارند که در این صورت مشکلات چند برابر می شود. راهکار استفاده از موادی که می توانند توکسین ها را به خود جذب کرده و به صورت غیر قابل جذب از دستگاه گوارش خارج کنند، مثل زئولیت های طبیعی، از جمله روش های کنترل سموم قارچی می باشد. حین به کار بردن مواد غذائی باید توجه داشت موادی که آلودگی آنها مسلم و قابل ملاحظه است مورد استفاده قرار نگیرد. به کار بردن مواد بازدارندهٔ رشد قارچ ها و جذب کنندهٔ توکسین های حاصل از آنها، در مواد اولیهٔ تهیهٔ دان و در حین تولید، توزیع و سایر مراحل، از اقدامات مؤثر به شمار می رود (کمال زاده، ۱۳۸۶).

سطوح مجاز آفلاتوکسین بسته به نوع و نژاد حیوانات متفاوت است. به طور مثال اردک ها ۵ تا ۱۵ بار بیشتر از مرغان تخم گذار به آفلاتوکسین حساسیت دارند و برخی از نژادهای خاص مرغان تخم گذار تا ۳ برابر بیشتر از دیگر نژادها به آفلاتوکسین حساس هستند. جوجه های در حال رشد نباید جیره های حاوی بیش از 20 ppb آفلاتوکسین مصرف نمایند، هر چند مصرف خوراک حاوی سطوح کمتر از20 ppb نیز باعث کاهش مقاومت در

برابر بیماری ها، کاهش قدرت تحمل شرایط استرس، کبود شدن و عدم رشد مناسب، آسیب کبد و در کل موجب غیر اقتصادی شدن تولید می شود. مرغان تخم گذار نسبت به طیور جوان سطح تحمل بالاتری در مقابل آفلاتوکسین ها دارند، ولی مقدار آفلاتوکسین نباید بیش ازppb 50 باشد. آلودگی آفلاتوکسینی باعث کاهش ضریب ایمنی طیور و در نتیجه کاهش قدرت آن ها در مقابله با استرس می گردد. این موضوع باعث کاهش اندازۀ تخم مرغ و هم چنین کاهش تولید تخم مرغ می شود. به علاوه باید توجه خاصی به استفادۀ ذرت آلوده به آفلاتوکسین در جیرۀ مرغان تخم گذار شود، چون تخم مرغ به عنوان یک منبع غذایی در سطح وسیع مورد استفادۀ انسان قرار می گیرد و متابولیت های آفلاتوکسین در زردۀ تخم مرغ ظاهر می شود (کمال زاده، ۱۳۸۶).

۱-۳ هسته خرما[1]

درخت خرما گیاهی است تک لپه از خانواده Arecaeae یا Palmace و جنس Phoenix با نام علمی *Phoenix dactylifera* (قهرمان، ۱۳۷۵). زادگاه اصلی درخت خرما بر اساس نظریه داوسون کارشناس برجسته خرما و مدارک مستدل عراق و ناحیه غربی و جنوبی ایران است، بطوریکه هم اکنون بیش از نیمی از تولید جهانی خرما در جلگه خوزستان و بین النهرین، سواحل کارون و اروند رود در کشورهای ایران و عراق متمرکز است (Dowson, 1982). بر مبنای آمار منتشره توسط سازمان خواروبار و کشاورزی FAO و دفتر آمار و فن آوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی جمهوری اسلامی ایران میزان تولید خرما در دنیا در سال ۲۰۰۵ بالغ بر ۶۶۸۱ هزار تن بوده که از این مقدار سهم قارۀ آسیا بالغ بر ۴۲۲۵ هزار تن و ایران ۹۹۷ هزار تن بوده است (FAO, 2007). بر این اساس ایران ۲۴ درصد تولید خرما در آسیا و ۱۵٪ تولید جهانی آن را در اختیار داشته است .علی رغم اینکه تاکنون مطالعات زیادی در مورد خواص تغذیه ای و بیولوژیکی میوه خرما صورت گرفته است، اطلاعات محدودی در رابطه با ترکیب شیمیایی، کیفیت تغذیه ای و کاربردهای بالقوه هسته خرما در دسترس است (Al-Farsi *et al.*, 2007). میوه خرما به دلیل کیفیت تغذیه ای منحصر به فرد مثل قند بالا، ویتامینها و مواد معدنی و انرژی زیادی که فراهم مینماید، بسیار قابل توجه و مناسب است. عمده ترین ترکیب خرما را کربوهیدراتها تشکیل می دهد که میزان آن بین ۶۹/۸ تا ۹۴/۸ درصد متغیر است. به همین دلیل در مناطق خرما خیز منبع مناسب تأمین انرژی محسوب می شود (در هر ۱۰۰ گرم ۲۹۶-۲۶۷). هر چند خرما منبع مناسبی برای تامین پروتئین به حساب نمیآید ولی مقادیر کمی از پروتئینهای ضروری را دارد، این محصول همچنین منبع غنی از مواد معدنی است، پتاسیم عمده ترین ماده معدنی خرما می باشد .پس از

[1] Date Pits

پتاسیم کلسیم و فسفر قرار دارند. از دیگر مواد معدنی می توان آهن، سدیم، منیزیم، کلر و مس را نام برد (Abdel Kareem, 1999). مصرف خرما روش شناخته شده ای برای درمان سرطانها از جمله سرطان کولون، معده، بیضه و ... می باشد. میوه خرما برای درمان آسم، سینه درد، سرفه و تب مصرف می شود. مطالعات نشان می دهد جوشانده هسته خرما برای درمان عقرب زدگی، سرطان، سنگ کلیه و مثانه مفید است و پودر آن اسهال مزمن را درمان می کند و خاصیت ضد عفونی کنندگی دارد. همچنین مشخص شده است که هسته خرما دارای اثرات حفاظتی بر مسمومیت کبدی است (Morton, 1987). هسته خرما محصول فرعی فرآوری خرما است که حدود ۱۳ تا ۱۵ درصد از وزن خرما را تشکیل می دهد (Hussein *et al.*, 1998). نتایج تحقیقات حاکی از این است که هسته خرما برای دام و طیور دارای ارزش غذایی است و می توان هسته خرما را به عنوان یک ماده خوراکی به جیره دام و طیور اضافه نمود (Aldhaheri *et al.*, 2004). طبق تحقیقات انجام شده، هسته خرما شامل ترکیبات آنابولیکی مختلفی می باشد که می توان به فیتواستروژن ها اشاره نمود (Ali *et al.*, 1999). ترکیبات فیتواستروژنی در سبزیجات، میوه ها و لگومها نیز وجود دارند و تحقیقات انجام شده برروی این ترکیبات نشانگر خواص آنتی اکسیدانی در برابر آسیب های اکسیداتیوی می باشند (Mitchell *et al.*, 1998) بر اساس نتایج این تحقیقات، می توان گفت هسته خرما دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است.

۱-۴ اهداف

بنابراین اهداف اصلی تحقیق عبارتند از :

۱ -بررسی استفاده از سطوح مختلف هسته خرما در جیره جوجه های گوشتی

۲ -بررسی استفاده از سطوح مختلف آفلاتوکسین در جیره جوجه های گوشتی و اثرات زیانباری که روی عملکرد رشد، وزن اندام های داخلی حساس (قلب ،کبد، بورس و...)، وضعیت ظاهری، فراسنجه های خونی و آسیب های بافتی کبد دارد

۳ -بررسی تأثیر سطوح مختلف هسته خرما در بهبود صدمات ناشی از آفلاتوکسین B_1 در جوجه های گوشتی به دلیل داشتن مانان الیگوساکارید

٤ -تعیین سطح مناسب هسته خرما در جلوگیری از اثرات مخرب آفلاتوکسین B_1 در جیره جوجه های گوشتی

فصل دوم

بررسی منابع

۲ ـ۱ مقدمه

فرآوروه های دامی به خصوص گوشت و کبد ماکیان نقش بسزایی درتغذیه مردم سراسر دنیا دارند و در عین حال این فرآورده های مصرفی انسان، به دلایل متفاوت تحت تأثیر عواملی قرار می گیرند که آنها را جهت مصارف تغذیه ای نامناسب می گردانند (Alama and Razaghi Abianeh, 2001). مایکوتوکسین ها متابولیت های ثانویه قارچها هستند که ممکن است دارای اثرات سمی، سرطان زایی، جهش زایی و ناقص الخلقه زایی باشند. درحال حاضر حدود ۱۵۰ نوع مختلف از مایکوتوکسینها شناسایی شده اند که تفاوتهایی از نظر ساختمان در آنها مشاهده می شود (Trucksess and Pohland, 2000). آفلاتوکسینها گروهی از ترکیبات بسیار سمی از دسته مایکوتوکسینها هستند که به راحتی د ر خلال رشد و انبار داری مواد غذایی به وجود می آیند. عوارض ناشی از مصرف آفلاتوکسین ها ممکن است به دو صورت ظاهر گردد، اول عوارض سریعی که مربوط به پدیده مسمومیت زایی آنهاست و دوم عوارضی که مربوط به خاصیت سرطانزایی آنها می باشد (Trucksess and Pohland, 2000).

حداقل ۱۷ نوع آفلاتوکسین در طبیعت شناخته شده اند که در بین آنها آفلاتوکسینهای G_1, G_2, B_1, B_2 مهمتر هستند (Van Egmond, 1995) . مهمترین نشانه های مسمومیت با آفلاتوکسین بی اشتهایی، تأخیر در رشد، کاهش وزن بدن وکاهش مصرف خوراک می باشند (Bakshi *et al.*, 1998).

۲-۲ مایکوتوکسین ها و اهمیت آنها

مایکوتوکسین ها از قارچ ها و کپک ها به وجود می آیند. رطوبت و دما دو عامل مؤثر برای رشد کپک ها و قارچ ها می باشند. حداقل رطوبت لازم برای رشد کپک ها، در غلات حدود ۱۳/۵ درصد و برای دانه های روغنی حدود ۸ درصد است (Born, 2000).

مایکوتوکسین ها در بدن به متابولیت های ثانویه ای تبدیل می شوند که آنها را بر اساس مسیرهای بیوسنتز این متابولیت ها دسته بندی می نمایند:

۱ -مسیر پلی کتاید که ترکیبات واسطه ای در تولید اسید چرب است. آفلاتوکسین ها (Aflatoxins) و اکراتوکسین ها (Ochratoxins) جزء این دسته هستند.

۲ -مسیر موالنات[1] که متشکل از ۳ مولکول استیل کوآنزیم آ است و تریکوتسن ها[2] جزء این دسته هستند.

[1] Movalenate
[2] Trichothecene

اهمیت پالایش و بررسی مایکوتوکسین ها در حیوانات تولید کننده غذا شامل موارد زیر است:

۱ -مایکوتوکسین ها سبب مستعد نمودن حیوانات اهلی به بیماریهای عفونی گشته، از این لحاظ سبب کاهش تولید در آنها می شوند.

۲ -افزایش بیماریهای عفونی و اجرام بیماریزا در حیوانات تولید کننده غذا، منجر به انتقال عوامل بیماریزا مانند لیستریا، سالمونلا و ... به انسان می شود.

۳ -مصرف خوراکی مایکوتوکسین های موجود در فرآورده های دامی، موجب کاهش مقاوت انسان نسبت به عوامل عفونی و نئوپلاستیک خواهد شد (طلاکش، ۱۳۷۳).

۴ -مایکوتوکسین های موجود در غلات بسیار پایدار هستند، و حتی با از بین رفتن قارچ های مولد، مایکوتوکسین ها از بین نخواهند رفت. مقادیر مایکوتوکسینی که باعث اثرات تضعیفی بر سیستم ایمنی می شوند، به مراتب کمتر از مقادیری است که باعث اثرات مزمن از قبیل کاهش رشد و ... می شوند (Leeson, 1995).

در کل، مایکوتوکسین هایی را که معمولاً در پرندگان ایجاد مسمومیت[1] می نمایند، به ۵ دسته اصلی تقسیم می کنند که ۳ دسته آنها موجب تضعیف سیستم ایمنی می گردند. این ۳ دسته عبارتند از: ۱- آفلاتوکسین ها ۲- تریکوتسن ها (T2) ۳-اکراتوکسین ها، در بین این ۳ دسته، آفلاتوکسین ها اثرات مخرب بیشتری بر سطح ایمنی دارا می باشند، ضمن اینکه فراوانی بیشتری نیز دارند (Born, 2000).

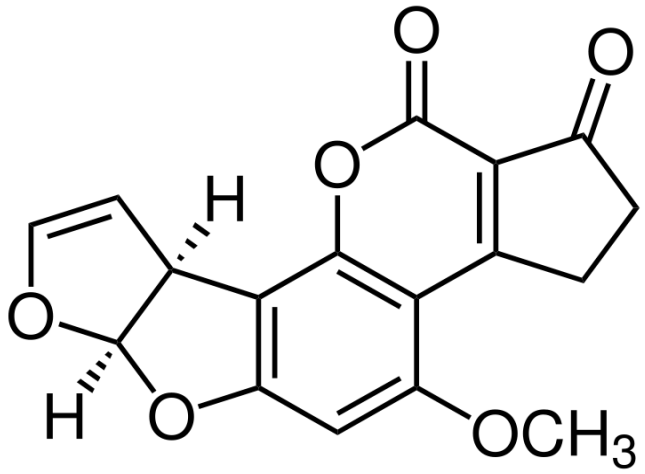
جدول ۲-۱: مایکوتوکسین ها اصلی در مواد غذایی

توکسین	قارچ تولید کننده سم	ماده غذایی	عوامل مساعد محیطی
آفلاتوکسین	آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس	بادام زمینی، پنبه، جو، سویا، سورگوم، جودو سر، سویا	گرمای مرطوب
زیرالنون	گونه های فوزاریوم	ذرت، سورگوم، جو	تناوب هوای سرد و متعادل
اکراتوکسین A	پنی سیلیوم گرانولاتوم، آسپرژیلوس اکراسئوس	جو، جو دوسر، ذرت، گندم	آب و هوای سرد و مرطوب، رطوبت در مدت نگهداری و ذخیره
فومونیسین B1	فوزاریوم مونیلیفورم	ذرت	گرمای مرطوب
تریکوتسن ها	فوزاریوم تریسینیکتوم، گونه های فوزاریوم	غلات	تناوب بین آب و هوای سرد و انجماد

۲-۳ معرفی آفلاتوکسین ها

آفلاتوکسین ها گروهی از متابولیت های هتروسیلیک اند که قرابت زیادی با یکدیگر داشته و به طور عمده به وسیله قارچ های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می شوند (Elis *et al.*, 1991).
این گروه از سموم قارچی به عنوان سر دسته تمامی مایکوتوکسینها از لحاظ سمیتشان و وقوعشان به عنوان آلوده کننده های طبیعی شناخته شده اند. به همین دلیل بیش از سایر مایکوتوکسینها مورد توجه محققین و مراجع بهداشتی قرار گرفته اند (Miazzo *et al.*, 2000).

شکل ۲-۱: ساختمان آفلاتوکسین B_1



۲-۳-۱ انواع آفلاتوکسین ها

۱) آفلاتوکسین B_1 : آفلاتوکسین B_1 با وزن مولکولی ۳۱۲ و با فرمول C17H12O2 در مقابل نور ماورای بنفش، فلورسانس آبی نسبتاً قوی از خود نشان می‌دهد.

۲) آفلاتوکسین G_1: آفلاتوکسین G_1 با وزن مولکولی ۳۲۸ و با فرمول C17H12O7 که در برابر اشعه ماورای بنفش ساطع‌کننده نور فلورسانس سبز است.

۳) آفلاتوکسین P_1: آفلاتوکسین P_1 متابولیتی است که در اثر دمتیلاسیون آفلاتوکسین B_1 ایجاد می‌شود. در ادرار حیواناتی چون میمون می‌توان آن را ردیابی کرد. این آفلاتوکسین از کشت آزمایشگاهی قارچ آسپرژیلوس استخراج شده است (Buchi and Weinreb, 1969).

۴) آفلاتوکسین B_2 و G_2: آفلاتوکسین B2 با وزن مولکولی ۳۱۴ و با فرمول C17H14O6 و آفلاتوکسین G_2 با وزن مولکولی ۳۳۰ و با فرمول C17H14O7 می‌باشد. این آفلاتوکسین‌ها به ترتیب در مقابل نور ماورای بنفش، فلورسانس آبی و سبز از خود ساطع می‌کنند (Resnik *et al.*, 1996).

۵) آفلاتوکسین‌های M_1 و M_2 و GM_1: اگر آفلاتوکسین B_1 به تنهایی یا همراه با آفلاتوکسین‌های دیگر در خورک دام به وسیله حیوانات خورده شود به توکسین‌های دیگری در ترشحات و بافت‌های آنها تبدیل می‌شود، که دو تا از این توکسین‌ها که در شیر حیوانات مشخص گردیده است تحت عنوان توکسین‌های شیر یا اصطلاحاً آفلاتوکسین‌های M_1 و M_2 نامیده می‌شوند (M از کلمه Milk منشاء گرفته است) (You-min, 1996).

محصول هیدروکسیله شده آفلاتوکسین G_1 به نام آفلاتوکسین GM_1 خوانده می‌شود و شباهت زیادی به آفلاتوکسین M_1 دارد. ترکیب حاصل از هیدروکسیله شدن آفلاتوکسین را می‌خوانند که از نظر ساختمانی شباهت زیادی به آفلاتوکسین M_2 دارد (Shibatu *et al.*, 1995).

۶) آفلاتوکسین‌های B_2a و G_2a: این دو آفلاتوکسین ترکیب هیدروکسی آفلاتوکسین و مشتق آفلاتوکسین‌های B_2 و G_2 هستند. آفلاتوکسین B_2a ایزومر آفلاتوکسین M_2 با گروه هیدروکسیل در موقعیت ۲ مولکول است و آفلاتوکسین G_2a در واقع ۲- هیدروکسی آفلاتوکسین G_2 است (Buchi *et al.*, 1966).

۷) آفلاتوکسین B_3: همان آفلاتوکسین B_1 است که در حلقه سیکلوپنتان آن اتانول جایگزین شده است و بنابراین در واقع ۶- متوکسی، ۷- دی‌فوروکومارین است (Buchi *et al.*, 1966).

۸) آفلاتوکسین Ro یا آفلاتوکسین L یا آفلاتوکسیکول: چنانچه به جای بخش کتونی سیکلوپنتان در آفلاتوکسین B_1، گروه هیدروکسیل قرار بگیرد، آفلاتوکسین حاصل را، آفلاتوکسین Ro گویند این توکسین، تغییرات عمده‌ای را در پلاسمای موش صحرایی موجب می‌شود و خاصیت سرطانزایی دارد (Buchi *et al.*, 1966).