تأثير الافلاتوكسين B1 على بعض المواصفات الكيميائية لبلازما الدم لفروج اللحم

ظافر ثابت محمد ، احمد عبد الرحمن المشهداني و سفيان محمود فرحان
كلية الزراعة / جامعة الانبار

الخلاصة

لمعرفة تأثير الافلاتوكسين B1 على بعض المواصفات الكيميائية لبلازما الدم لفروج اللحم استخدم في هذه التجربة 210 من أفراخ ذكور فروج اللحم (فاوبرو) وبعمر 21 يوم . غذيت الطيور غاية 42 يوما على علائق ملوثة بافلاتوكسين ملغم / كغم بنسب صفر (T1) و 0.375 (T2) و 0.75 (T3) و 1.5 (T4) و 2.5 (T5) . اوضحت النتائج ان الافلاتوكسين سبب انخفاضا في تركيز إنزيم الفوسفانيز القاعدي وإنزيم اللاكتيك دي هايدروجينيز وحامض اليوريك وزيادة في تركيز إنزيم الفوسفاتيز الحامضي وإنزيم الكلوتامك بايروفك ترانس امينيز وإنزيم الكلوتمامك اوكزالو استيت ترانس امينيز في بلازما الدم ، كما لوحظ من النتائج إن سحب العلف وإبداله بعلف جديد ذو تأثير معنوي في تحسين الصفات المدروسة .

Effects of Aflatoxin B1 on some chemical characteristics of blood plasma in broilers

Th. Th. Mohamad , A. A. Al-Mashadany and S. M. Farhan
University of Al-Anbar / Collage of Agriculture

Abstract

The objectives of this study was to study the effect of Aflatoxin B_1 on the some chemical characteristics of blood plasma. In broiler atotal of 210 male 21 days old chicks of broiler breeder (Fawbro) were used in this experiment fed for 42 day on diets contaminated with aflatoxine B1 at level of 0 (T1-control), 0.357 (T2), 0.75 (T3), 1.5 (T4) and 2.5 (T5) mg aflatoxine/kg feed.

The results showed that aflatoxine caused adecrease in concentration of Alkaline phosphates enzyme, lactate dehydrognase enzyme and uric acid, and an increase in concentration of acid phosphates enzyme, Alanine Amino transaminase enzyme and Aspartate Amino transaminase enzyme in blood plasma. withdrawn the contaminated feed has a significant effect on improving all traits under study.

المقدمة

تشكل التغذية 75% أو أكثر من الكلفة الإنتاجية للطيور الداجنة ولها تأثير مباشر على العملية الإنتاجية , لذا يتطلب الاهتمام بتقديم علائق متزنة بالعناصر الغذائية وذات نوعية جيدة ولأجل تحقيق هذا الهدف فان الأمر يتطلب العناية بظروف خزن الأعلاف وموادها الخام لتحول دون تعرضها للإصابة بالتلوث الفطري سيما وان الأعلاف الملوثة ينتج عنها إضرار صحية واقتصادية كبيرة (1) .

السموم الفطرية (Mycotoxin) هي مجموعة من المركبات الايضية الثانوية التي تفرزها بعض الفطريات ، هناك العديد من السموم الفطرية التي تفرزها العشرات من أنواع الفطريات إلا إن أهمها وأخطرها على صحة الطيور هو الافلاتوكسين الذي يفرزه الفطر *Aspergillus flevus* وكذلك الفطر *Aspergillus Parasiticus* ولهذا يطلق على حالة التسمم الفطري Aflatoxicosis (2) .

لقد ذكر Huff (3) إن تغذية أفراخ اللحم على عليقة ملوثة 2.5 ملغم افلاتوكسين / كغم علف ولمدة ثلاث أسابيع قد سببت اختلالاً في تركيز إنزيمات الكبد (الفوسفاتيز القاعدي والفوسفاتيز ألحامضي) وكذلك إنزيمات البلازما (الكلوتاميك بايروفك ترانس امينيز Alanine Amino Tranaminase (ALT) وانزيم الكلوتاميك اوكزالواستيت ترانس امينيز Aspartate Amino Tranaminase (AST) وإنزيم اللاكتيت دي هايدروجينيز Lactate Dehyrognase (LDH) . ذكر Grior وزملائه (4) إن تجهيز أفراخ اللحم بعليقة تحتوي على 25 ملغم افلاتوكسين / كغم علف ولمدة 21 يوم سببت انخفاضا معنويا في تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي وإنزيم ALT وإنزيم AST وإنزيم LDH وزيادة في تركيز إنزيم الفوسفاتيز الحامضي .

كما أشار Ab-Norag وزملائه (5 ، 6) إن أفراخ اللحم المغذاة على علف يحتوي 3.5 ملغم افلاتوكسين / كغم علف لمدة 1 – 28 يوما أدى إلى حدوث انخفاض معنوي في تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي وحامض اليوريك . إن استخدام المواد العلفية الملوثة بالفطريات ومنتجاتها السامة في تحضير الأعلاف وعدم انتباه المربين إلى هذا الجانب فضلا عن الخسائر الاقتصادية التي تسببها في تربية الدواجن لذا فان هذا البحث يهدف إلى معرفة تأثير الأعلاف الملوثة بمستويات مختلفة من الافلاتوكسينات على بعض المواصفات الكيميائية لبلازما الدم لفروج اللحم ولمعرفة تأثير سحب العلف الملوث على مثل هذه الصفات .

المواد وطرق البحث

تم عزل *Aspergillus flevus* من مسحوق السمك المحلي , وزرع على اطباق البطاطا والدكستروز وحضنت في درجة حرارة 25 ± 1 °م وبعد الحصول على الفطر تمت تنميته على الرز حسب طريقة الموصوفة من قبل Shotwll وآخرون (7) والمحورة من قبل West وآخرون (8) وقد تم الكشف عن الافلاتوكسين B1 في مستخلص مزارع الفطر *Aspergillus flevus* بواسطة تقنية الكروموتوغرافيا الرقيقة (Thin coromatography Layer) اذ استخدمت صفائح من السليكاجل بوجود السم القياسي الافلاتوكسين B1 الذي تم الحصول عليه من شركة Sigma واستخدام نظام الفصل كلوروفورم : ميثانول (97 : 3 حجم / حجم) حسب طريقة التي أوضحها حسين (9) . وفحصت الصفائح تحت الاشعة فوق البنفسجية ثم اتبعت طريقة Romer (10) المتضمنة رش الصفيحة الحاوية على بقع بخليط من حامض الكبريتيك والميثانول (20 : 80% حجم / حجم) ثم وضعت الصفيحة في فرن على حرارة 120 م لمدة خمسة دقائق ثم فحصت تحت الأشعة فوق البنفسجية لملاحظة تغير لون التألق من الأزرق إلى الأصفر وهذا دليل على وجود المادة نفسها . إما مستوى

سموم الافلاتوكسين في مسحوق الرز فقد تم تقديرها وفقاً لطريقة Nabney و Nesbitt (11) والمحورة من قبل Wiseman وآخرون (12) .

تم تلويث العلف بالرز المطحون المحتوي على السم وتم اخذ نموذج من العلف قبل التلويث وبعده لتقدير النسب الأصلية للافلاتوكسين من خلال استخدام طريقة Howell و Taylar (13) في تحليل النماذج .

أجريت تجربة حقلية استخدم فيها 150 من أفراخ ذكور فروج اللحم بعمر 21 يوما واستمرت حتى عمر 42 يوما وزعت عشوائيا إلى خمسة معاملات شملت أربع معاملات للتغذية بالافلاتوكسين B1 ومعاملة المقارنة وعلى النحو الأتي :

المعاملة الأولى / المقارنة احتوت على علف نمو غير ملوث وخالي من الافلاتوكسين

المعاملة الثانية / علف نمو ملوث بالافلاتوكسين B1 بتركيز 0.375 ملغم / كغم علف

المعاملة الثالثة / علف نمو ملوث بالافلاتوكسين B1 بتركيز0.75 ملغم / كغم علف

المعاملة الرابعة / علف نمو ملوث بالافلاتوكسين B1 بتركيز 1.5 ملغم / كغم علف

المعاملة الخامسة / علف نمو ملوث بالافلاتوكسين B1 بتركيز 2.5 ملغم / كغم علف

جدول (1) المكونات العلفية لعلائق التجربة

المواد العلفية	مرحلة قبل التلويث	مرحلة تلويث العلف		مرحلة سحب العلف الملوث
	عليقة البادىء (0 – 3) أسبوع	عليقة النمو (4 – 6) أسبوع		العليقة النهائية (7–8) أسبوع
		عليقة المقارنة	العلائق الملوثة	
ذرة صفراء	55.9	63.65	63.65	69.8
كسبة فول الصويا	27.5	22.30	22.30	15.5
مسحوق السمك	–	–	–	–
مركز البروتين	12	10	10	10
الزيت النباتي	3.5	3	3	3.7
فوسفات الكالسيوم الثنائية	0.2	0.2	0.2	0.2
حجر الكلس	0.5	0.5	0.5	0.5
ملح الطعام	0.3	0.3	0.3	0.3
ميثايونين	0.1	0.05	0.05	–
التحليل الكيميائي				
الطاقة المتمثلة كيلو سعرة / كغم	3169	3165	3165	3255
البروتين الخام %	23.07	20.1	20.1	18.05
الكالسيوم %	1.1	0.94	0.94	0.94
الفسفور المتيسر%	0.5	0.5	0.5	0.5
لايسين%	1.33	1.10	1.10	0.94
ميثيونين %	0.45	0.39	0.39	0.34
ميثيونين + سيستين	0.92	0.96	0.96	1.70

وزنت الأفراخ في نهاية كل أسبوع وللأسابيع من 4 – 8 , تم اخذ عينات 6 طيور لكل معاملة في نهاية الأسبوع السادس ونهاية الأسبوع الثامن أي بعد انتهاء فترة تقديم العلف الملوث بالافلاتوكسين وتم سحب الدم من الوريد ألجناحي , وضع في أنابيب حاوية على مادة مانعة للتخثر (K-EDTA) ثم وضع في جهاز الطرد المركزي على سرعة 300 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة لفصل البلازما وحفظت النماذج في مجمدة لحين أجراء الفحوصات المختبرية التي تضمن قياس تركيز إنزيمات الكبد (الفوسفاتيز القاعدي وألحامضي) وتركيز إنزيمات البلازما (LDH , AST , ALT) وتركيز حامض اليوريك في بلازما الدم .

اتبعت طريقة Kind و King (14) والمحورة من قبل Varley وزملاءه (15) في قياس فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي والفوسفاتيز ألحامضي ولقياس فعالية إنزيمات LDH و GPT و GOT وتركيز حامض اليوريك في بلازما الدم وفق طريقة Wotton (16) .

اجري التحليل الإحصائي للنتائج باستخدام خطوات النموذج الخطي العام للبرنامج الإحصائي الجاهز (17) إذ تم تحديد تأثير المعاملات للصفات المدروسة باستخدام التصميم العشوائي الكامل ولاختبار معنوية الفروق بين المتوسطات استخدم اختبار دنكن (18) متعدد المستويات على مستوى احتمال اقل من 0.05 .

النتائج والمناقشة

تأثير الافلاتوكسينات على تركيز إنزيمات الكبد وحامض اليوريك في بلازما الدم

يبين الجدول (2) معدلات تركيز إنزيمات الكبد وحامض اليوريك في بلازما الدم للطيور عند عمر 4 – 6 أسبوع . حيث لوحظ انخفاض معنوي (0.05 >أ) في تركيز إنزيم الفوسفاتيز القاعدي مع كل زيادة بنسبة الافلاتوكسين في العلف مقارنة بمعاملة المقارنة ، في حين حصلت زيادة معنوية في تركيز إنزيم الفوسفاتيز الحامضي في دم الطيور المعاملة بالافلاتوكسين مقارنة بمعاملة المقارنة , وقد يعود هذا لاختلاف في تركيز إنزيمات الكبد في بلازما الدم للطيور المعاملة بالافلاتوكسين مقارنة بمعاملة المقارنة إلى تأثر الكبد نفسه بالافلاتوكسينات , إذ يعتبر الكبد أسرع الأحشاء تأثرا وأكثرها حساسية للسموم الفطرية لكونه مركز لمعالجة السموم والمركبات الغريبة الممتصة من الأمعاء إضافة إلى ذلك فهو يشكل موضع التمثيل النشط للافلاتوكسينات الذي يتغير فيه كيمياويا إلى أشكاله المؤكسدة والمهدرجة (19) . كما لوحظ انخفاضا معنويا (0.05 >أ) في تركيز حامض اليوريك في بلازما الدم عند زيادة مستوى الافلاتوكسين في العليقة مقارنة بعليقة المقارنة , وقد يعود السبب إلى تثبيط ايض البروتين وانخفاض تركيز البروتين الكلي بالدم نتيجة لعمليات الهدم واستخدامه في تكوين السكر من مصادرة الغير الكاربوهيدراتية نتيجة الإجهاد الذي سببه وجود الافلاتوكسين B1 في العليقة (20 ، 21) . وقد جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل إليه Huff (3) و Abo-norag (5 ، 6) .

يوضح الجدول نفسه نتائج معدلات تركيز إنزيمات الكبد وحامض اليوريك بعد سحب العلف الملوث بالافلاتوكسين في الأسبوعين السابع والثامن حيث لوحظ تحسن معنوي في معدلات تركيز إنزيمات الفوسفاتيز ألحامضي و الفوسفاتيز القاعدي وكذلك حامض اليوريك في بلازما الدم وقد كانت الفروقات غير معنوية بين معاملة المقارنة والمعاملات الأخرى .

تأثير الافلاتوكسينات على تركيز إنزيمات البلازما في دم الطيور

إن نتائج معدلات تركيز إنزيمات بلازما الدم في الطيور من عمر 4 – 6 أسابيع موضحة في جدول (3) حيث لوحظ وجود زيادة معنوية في تركيز إنزيم AST وإنزيم ALT كلما زادت نسبة الافلاتوكسين في العليقة مقارنة مع معاملة المقارنة وهذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه Giorotr (4) . لكن وجد هناك انخفاضا معنويا

(0.05 > أ) في معدل تركيز LDH في بلازما دم الطيور المعاملة بالافلاتوكسين مقارنة بتركيز إنزيم LDH لمعاملة المقارنة وهذه النتيجة تتفق مع العديد من الباحثين (3 ، 4 ، 22) . وقد يرجع السبب في تدهور تركيز هذه الإنزيمات في بلازما دم الطيور المعاملة بالافلاتوكسين إلى حصول انخفاض معنوي في فعالية إنزيمات البنكرياس الهاضمة للنشاء والبروتين والدهن وهي الاملیز والتربسين واللايبيز والتي بدورها تؤدي إلى انخفاض مستوى في تركيز الكلوكوز والبروتين الكلي للبلازما والألبومين والكولسترول (4 ، 23) .

إن لسحب العلف الملوث بالافلاتوكسين عند عمر 7 – 8 أسبوع تأثيرا معنويا في تلاشي الاختلافات المعنوية في تركيز إنزيم LDH لدم الطيور بين معاملة المقارنة والمعاملات الأخرى . كما يلاحظ أيضا إن سحب العلف الملوث بالافلاتوكسين له أثر معنوي انعكس على خفض تركيز إنزيم AST و ALT في بلازما دم الطيور حيث تلاشت الفروقات المعنوية بين معاملة المقارنة والمعاملات الأخرى ، وعليه نستنتج إن لسحب العلف الملوث وإبداله بعلف جديد له تأثيراً ايجابياً في المحافظة على تراكيز إنزيمات بلازما دم الطيور بسبب التخلص من تأثير السموم الفطرية (جدول 3) .

جدول (2) تأثير التغذية مستويات مختلفة من الافلاتوكسين B1على المواصفات* الكيمائية لمصل الدم لفروج اللحم بعمر (6 و 8 أسابيع)

المعاملة	نسبة الافلاتوكسين ملغم أفلا / كغم علف	المواصفات الكيميائية للدم					
		مرحلة تلويث العلف (4 – 6) أسابيع			مرحلة سحب العلف الملوث (7 – 8) أسابيع		
		إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (كنك / ارمسترونك)	إنزيم الفوسفاتيز ألحامضي (كنك / ارمسترونك)	حامض اليوريك ملغم / 100 ملم	إنزيم الفوسفاتيز القاعدي (كنك / ارمسترونك)	إنزيم الفوسفاتيز ألحامضي (كنك / ارمسترونك)	حامض اليوريك ملغم / 100 ملم
1	المقارنة	6.71 أ** ± 0.67	6.41 أ ±0.46	3.56 أ ± 0.22	6.20 أ ±0.71	7.01 أ ±0.80	3.72 أ ±0.46
2	0.375	6.50 أ ± 0.62	7.12 ب ± 0.87	3.4 أ ±0.21	6.23 أ ± 0.74	7.19 أ ±0.71	3.64 أ ±0.50
3	0.75	6.56 أ ± 0.66	7.22 ب ± 0.37	3.6 أ ± 0.18	6.27 أ ± 0.76	7.20 أ ± 0.90	3.65 أ ±0.60
4	1.5	5.29 ب ± 0.63	8.22 ج ± 0.6	4.2 ب ±0.24	6.36 أ ± 0.70	7.10 أ ±0.81	3.6 أ ±0.56
5	2.5	4.46 ج ± 0.0	8.32 ج ± 0.71	4.9 ج ±0.13	6.38 أ ± 0.80	7.35 أ ± 0.92	3.8 أ ± 0.53

*** النتائج تمثل معدل قراءة 6 طيور في المعاملة الواحدة .**

**** النتائج المتبوعة بحروف متشابهة في العامود الواحد لا تختلف معنويا عند مستوى احتمال (0.05 > أ) حسب اختبار دنكن المتعدد المستويات بين المعاملات .**

جدول (3) تأثير التغذية على مستويات مختلفة من الفلاتوكسين B1على إنزيمات* البلازما (LDH , ALT , AST) لدم فروج اللحم (6 و 8 أسابيع)

المعاملة	نسبة	إنزيمات البلازما

	الافلاتوكسين ملغم أفلا / كغم علف	مرحلة تلويث العلف (4 – 6) أسابيع			مرحلة سحب العلف الملوث (7 – 8) أسابيع		
		GOT	GPT	LDH	GOT	GPT	LDH
1	المقارنة	400.8 أ** ± 96.8	176.3 أ ±28.62	725.8 أ ± 52.22	305.7 أ ± 36.3	226.2 أ ± 25.2	826.7 أ ± 42.0
2	0.375	410.6 أب ± 74.6	175.0 أ ±36.14	715.6 أ ±50.19	308.8 أ ± 38.6	230.4 أ ± 26.4	820.2 أ ± 46.3
3	0.75	450.2 ب ±90.2	168.3 أ ± 54.60	609.3 ب ± 48.2	310.6 أ ± 28.19	230.6 أ ± 34.2	803.1 أ ± 63.2
4	1.5	542.6 ج ± 85.17	270.3 ب ± 82.12	605.8 ب ± 42.2	306.8 أ ± 34.17	245.0 أ ± 40.3	798.2 أ ± 64.0
5	2.5	560.8 ج ± 68.38	368.2 ج ± 78.6	631.6 ب ± 52.6	346.0 أ ± 48.2	234.6 أ ±36.15	786.5 أ ± 36.8

*** النتائج تمثل معدل قراءة 6 طيور في المعاملة الواحدة .**

**** النتائج المتبوعة بحروف متشابهة في العامود الواحد لا تختلف معنويا عند مستوى احتمال (0.05 > أ) حسب اختبار دنكن المتعدد المستويات بين المعاملات .**

المصادر

1.ابراهيم , اسماعيل خليل ، 2000 . تغذية الدواجن – طبعة ثانية – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي , جامعة الموصل .

2.Al-sadi, H. I., A. M. Shareef, and M. Y. Al-Attar. 2000. Out break of aflatoxcosis in broilers. Iraqi. Vet. Sci. 13: 93-106.

3.Huff, W. E, R. B. Harvey, L. F. Kubena, and G. E. Rottinghaus. 1988. Toxic synergism between aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. Poultry Sci.17: 1418.

4.Giroir, L. E., W. F. Huff, L. F. Kubena, R. B. Harvey, M. H. Elissald, D. A. Wttzel, A. G. Yersin, and G. W. Ivte. 1991. The individual and combined toxiuty of kojic acid and aflatoxin in broiler chickens . Poultry Sci. 70: 1351-1356.

5.Abo-Norag, M., L. F. Kubena, T. S. Edrington, R. B. Harvey, and T. D. Philips. 1994. Effects of hydrated sodium calcium alwminosilicate (HSCA) and virginiamycin on aflatoxcsis in broiler chick . Poultry Sci. 73: 121 (Abstra).

6.Abo-Norag, M., T. S. Edrington, L. F. Kubena, and R. B. Harvey. 1995. Infuence of a hydrated sodium calcium alumino silicate and virginiamycin on aflatoxcsis in broiler chicks. Poultry Sci.14: 626-632.
7.Showtell, O. L., C. W. Hesseitine, R. D. Stubble-Field, and W. G. Sovenson. 1966. production of aflatoxin on rice. Appl. Microbial. 14: 425-428.
8.West, S., R. D. Wyatt, and P. B. Hamlton. 1973. Increasedyield of aflatoxin by incremental increases of temperature. Appl. Microbial. 25: 1018-1019.
9.حسين ، حليمة زغير . 1995 . دراسة سمومية لبعض الفطريات وتاثيراتها على القوارض . رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد .
10. Romer, T. R., 1973. Determination of aflatoxen in mixed feeds. AOAC, pp.: 56-75.
11. Nabney, J., and B. F. Nesbitt. 1965. Aspectrophotometric method of determining the aflatoxin. Analyst. 90: 155-160.
12. Wiseman, H. G., W. C. Tacobson, and W. G. Harmeyer. 1967. Note on removal of pigments from chloroform extracts of aflatoxin cultures with copper carbonate. Jassoc. Agric. Chem. 50: 982-988.
13. Howell, M. V., and P. W-Taylar. 1981. Determination of aflatoxen, ochratoxin A, and zearalenon in mixed feed, with detection by thin layer chromatography orhigh performance liquid chromatography. J. Assoc. off. Anal. Chem. 63: 1356-1363.
14. Kind, P. R. N. and E. J. King. 1954. Estimation of plasma phosphates by determination of hydrolysed phenol with aminoantipyrine. J. Clin. Pathol. 7: 322-329.
15. Varley, H., A. Gowenlock and M. Bell. 1980. Practical clinincal Biochemistry. 5th. edu., London. Williams Heiuman medical books ltd.
16. Wotton, I. D. P. 1964. Micro-Analysis in medical biochemistry. 4thed Churchill livingstone , London.
17. SAS, institute. 1992. SAS / STAT. Gude for personal computers 11 thed SAS Insitute Inc., Cary, Nc.
18. Duncan, D. B. 1995. Multpile range and multpile F-test. Biometrics. 11: 1-42.
19. Scheideler, Sheil. 1993. Effect of various types of aluminosilicate and aflatoxin B1 on aflatoxin toxicity chick performancce and mineral status. Poultry Sci. 72: 282-288.
20. Doerr, J. A., and P. B. Hamilton. 1981. aflatoxicosis and antermsis coagulltion function in broiler chickens . Poultry Sci. 60: 1406-1411.
21. Huff, W. E., L. F. Kubena, R. B. Harvey, D. E. Cerrier, and H. H. Mollenhouer. 1986. Progression of aflatoxicsis in broiler chickens. Poultry Sci. 65: 1890-1899.
22. Simth, E. E., L. F. Kubena, C. E. Braithwaite, R. B. Harvey, T. D. Philips, and A. H. Reine. 1992. Toxicolgical evaluation of aflatoxin and cyelopiaznie acid in broiler chickens. Poultry Sci. 71: 1136.
23. Osborne, D. J., and P. B. Hamiltton. 1981. Decreased panretic digestive enzymes durin aflatoxicosis, Poultry Sci. 60: 1818-1821.