تولیدات دامی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴

صفحه‌های ۳۰۹-۳۰۱

تأثیر چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) بر عملکرد جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیرهٔ آلوده به آفلاتوکسین

فرهاد محمدی[۱]، فرزاد باقرزاده کاسمانی[۲*]، کمال شجاعیان[۳]، مهران مهری[۴]، محمدامیر کریمی ترشیزی[۵]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۴. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۵. استادیار، گروه علوم طیور، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ وصول مقاله:۱۳۹۳/۱۱/۰۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۳/۲۱

چکیده

تأثیر افزودن چای ترش به جیره بر عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت آفلاتوکسکوزیس با استفاده از ۱۹۲ قطعه جوجهٔ گوشتی یک‌روزه جنس نر سویهٔ راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، چهار تکرار و ۱۲ جوجه در هر تکرار بررسی شد. تیمارها شامل ۱. جیرهٔ شاهد منفی (بدون افزودنی)، ۲. جیرهٔ شاهد مثبت (۲/۵ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 در کیلوگرم)، ۳. جیرهٔ حاوی چای ترش (۱۰ گرم چای ترش در کیلوگرم)، و ۴. جیرهٔ آلوده به آفلاتوکسین و حاوی چای ترش (۲/۵ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 + ۱۰ گرم در کیلوگرم چای ترش در کیلوگرم) هستند. اثر تیمارها بر مصرف خوراک معنی‌دار نبود. افزایش وزن جوجه‌ها در تیمار شاهد مثبت کمتر از جوجه‌های مربوط به تیمارهای دیگر بود (P<۰/۰۰۱). این پرندگان ضریب تبدیل بالاتری داشتند (P<۰/۰۰۱). میزان پادتن تولیدشده علیه ویروس نیوکاسل و گلبول قرمز گوسفندی در جوجه‌های تغذیه‌شده با جیرهٔ شاهد مثبت و جیرهٔ حاوی چای ترش به‌ترتیب پایین‌تر و بالاتر از پرندگان گروه شاهد منفی بود (P<۰/۰۰۱). کمترین افزایش ضخامت پوست پس از چالش با دی‌نیتروکلروبنزن در جوجه‌های دریافت‌کنندهٔ جیرهٔ شاهد مثبت مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). وزن نسبی بورس فابریسیوس در جوجه‌های دریافت‌کنندهٔ جیرهٔ شاهد مثبت و حاوی چای ترش به‌ترتیب کمتر و بیشتر از گروه شاهد منفی بود (P<۰/۰۰۱). براساس نتایج تحقیق حاضر، افزودن چای ترش به جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین B_1 در جوجه‌های گوشتی، اثر سم آفلاتوکسین را بر پاسخ ایمنی و عملکرد تولیدی کاهش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: ایمنی، جوجهٔ گوشتی، چای ترش، عملکرد، مسمومیت با آفلاتوکسین.

* نویسنده مسئول Email: fbkasmani@uoz.ac.ir

مقدمه

در اکثر مناطق دنیا، طیور در معرض غذاهای حاوی مایکوتوکسین قرار دارند (۲۸). *آسپرژیلوس*، *فوزاریوم* و *پنی‌سیلیوم*، سه جنس غالب در تولید مایکوتوکسین‌ها هستند. آفلاتوکسین، گروهی مشتق‌شده از فورانوکومارین‌ها است و از ترکیبات سمی و سرطان‌زای مهم در میان مایکوتوکسین‌ها به‌شمار می‌رود. آفلاتوکسین B_1 شایع‌ترین و ازنظر بیولوژیکی، فعال‌ترین نوع آفلاتوکسین است (۲).

تغذیهٔ جوجهٔ گوشتی با خوراک آلوده به آفلاتوکسین موجب اختلال در عملکرد پرنده، سیستم ایمنی بدن و اندام‌هایی چون کبد، کلیه و قلب می‌شود (۱۹). آفلاتوکسین می‌تواند موجب القای تغییرات در الگوهای بیان ژن شود. تغذیهٔ دو میلی‌گرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین به مدت ۲۱ روز به جوجه‌های گوشتی فعالیت ژن‌های دخیل در ایمنی، عملکرد آنتی‌اکسیدانی و فسفوریلاسیون اکسیداتیو را مختل می‌کند (۳۰).

فرآورده‌های گیاهی برای غیرفعال‌کردن یا سم‌زدایی آفلاتوکسین B_1 به‌کار گرفته شده است (۳ و ۱۳). چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) گیاهی دارویی متعلق به خانوادهٔ پنیرکیان است که در زمان‌های گذشته به‌عنوان دارو استفاده می‌شد و هم‌اکنون نیز به‌عنوان گیاه دارویی مورد توجه است. گل چای ترش حاوی ۲۰/۳ تا ۲۱/۸ گرم ترکیبات فنولی در کیلوگرم مادهٔ خشک، غلظت زیاد اسیدهای آلی، مقدار زیاد اسیدسیتریک (۱۱) و در هر ۱۰۰ گرم حاوی ۱/۷۲ میلی‌گرم کلسیم، ۵۷ میلی‌گرم آهن، ۳۰۰ میکروگرم بتاکاروتن و ۱۴ میلی‌گرم اسیداسکوربیک است (۱۴). برخی از ترکیبات موجود در گل چای ترش همچون آنتوسیانین، کوئرستین، اسیدالاسکوربیک و اسیدپروتوساکوئیک دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی هستند (۲۹). اثر محافظتی آنتی‌اکسیدان‌ها در آفلاتوکسیکوزیس در طیور مشاهده شده است (۹ و ۲۴).

از آنجا که تاکنون راه قطعی برای سم‌زدایی مواد خوراکی آلوده به آفلاتوکسین شناسایی نشده است، روش‌های جدیدی برای مهار این سم در دست بررسی است. بنابراین هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر چای ترش بر عملکرد تولیدی، پاسخ ایمنی و وزن نسبی اندام‌های داخلی در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیرهٔ آلوده به آفلاتوکسین است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۹۲ قطعه جوجهٔ گوشتی یک‌روزهٔ جنس نر از نژاد راس ۳۰۸، به‌صورت کاملاً تصادفی در چهار تکرار و هر تکرار شامل ۱۲ قطعه جوجه اختصاص یافتند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱. شاهد منفی (بدون افزودنی)، ۲. جیرهٔ حاوی ۲/۵ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 در کیلوگرم (شاهد مثبت)، ۳. جیرهٔ حاوی ۱۰ گرم چای ترش در کیلوگرم و ۴. جیرهٔ حاوی ۱۰ گرم در کیلوگرم چای ترش+۲/۵ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 در کیلوگرم هستند. ۲۴ ساعت قبل از ورود جوجه‌های گوشتی، درجهٔ حرارت سالن در ۳۲ درجهٔ سلسیوس تنظیم شد. برنامهٔ نوری اجراشده در سالن، برنامهٔ نوردهی مدام در سه شبانه‌روز اول و ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی در بقیهٔ ایام دورهٔ پرورش بود. طول مدت این آزمایش ۲۱ روز بود و جیرهٔ مربوط به گروه‌های آزمایشی از ابتدا در اختیار پرندگان قرار گرفت. در مدت زمان انجام آزمایش جوجه‌ها آزادانه به آب و خوراک دسترسی داشتند. جیرهٔ پایه بر اساس احتیاجات توصیه‌شدهٔ جوجه‌های گوشتی (۱۶) تنظیم شد (جدول ۱).

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیرهٔ پایه

مواد خوراکی	درصد جیره
ذرت	۴۸/۸۳
کنجالهٔ سویا (۴۴درصد)	۳۵/۰۰
گلوتن ذرت	۵/۰۴
روغن آفتابگردان	۳/۵۳
برنج[۱]	۲/۱۸
پودر صدف	۱/۵۱
دی‌کلسیم فسفات	۱/۴۸
پوستهٔ برنج	۱/۰۰
بی‌کربنات سدیم	۰/۳۵
مکمل ویتامینه[۲]	۰/۲۵
مکمل معدنی[۳]	۰/۲۵
DL-متیونین	۰/۲۳
L-لیزین هیدروکلرید	۰/۲۲
L-ترئونین	۰/۱۰
نمک	۰/۰۳
ترکیب شیمیایی محاسبه‌شده	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۰۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۸۷
لیزین قابل هضم (درصد)	۱/۱۸
ترئونین قابل هضم (درصد)	۰/۸۳
تریپتوفان قابل هضم (درصد)	۰/۲۳
متیونین قابل هضم (درصد)	۰/۵۵
متیونین + سیستئین قابل هضم (درصد)	۰/۸۶
کلسیم (درصد)	۱/۰۰
فسفر غیرفیتاته (درصد)	۰/۴۵
تعادل کاتیون-آنیون (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم)	۲۵۰

۱. در گروه‌های آزمایشی دارای آفلاتوکسین، برنج استفاده‌شده حاوی ۱۱۴/۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 بود.

۲. مکمل ویتامین‌های تأمین‌شده به‌ازای هر کیلوگرم جیره: ویتامین A (از vitamin A acetate) IU ۱۱۵۰۰، کوله کلسیفرول IU ۲۱۰۰، ویتامین E (از DL-α-tocopheryl acetate) IU ۲۲، ویتامین B_{12} mg ۰/۶۰، ریبوفلاوین mg ۴/۴، نیکوتین‌آمید mg ۴۰، کلسیم پنتوتنات mg ۳۵، منادیون (منادیون دی‌متیل پیریمیدینول) mg ۱/۵۰، فولیک اسید mg ۰/۸۰، تیامین mg ۳، پیریدوکسین mg ۱۰، بیوتین mg ۱، کولین کلراید mg ۵۶۰، و اتوکسی‌کوئین mg ۱۲۵,

۳. مکمل معدنی تأمین‌شده به‌ازای هر کیلوگرم جیره: منگنز (از $MnSo_4.H_2O$) mg ۶۵، روی (از ZnO) mg ۵۵، آهن (از $FeSo_4.7H_2O$) mg ۵۰، مس (از $CuSO_4.5H_2O$) mg ۸، ید [از $Ca(IO_3)_2.H_2O$] mg ۱/۸، سلنیم mg ۰/۳۰، کبالت (Co_2O_3) mg ۰/۲۰، و مولیبدن mg ۰/۱۶.

برداشت کاسبرگ‌های چای تـرش در اواخـر مهرمـاه و به روش دستی انجام شد. کاسبرگ‌های تازهٔ گیـاه در اتـاق تاریک با تهویهٔ مناسب، رطوبت نسبی ۴۰درصـد، و دمـای ۲۸درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۵ روز خشک و سپس آسـیاب شدند (۶). پودر کاسبرگ چای‌ترش جایگزین پوستهٔ بـرنج در جیرهٔ پایه شد.

به‌منظور تولید آفلاتوکسین B_1 از یـک ویـال اسـتاندارد *Aspergillus parasiticus* PTCC-5286 (تهیـــه‌شـــده از گنجینهٔ میکروبی سـازمان پـژوهش‌هـای علمـی و صـنعتی ایـران) اسـتفاده شـد. بـرای کشـت اولیـهٔ قـارچ از محـیط سابورودکستروز آگار استفاده شد. سـویهٔ قـارچ بـر محـیط کشت سابورودکستروز آگار کشت داده شد و پس از تولید اسـپور، مقـدار $۶/۵ \times ۱۰^{۶}$ الـی $۷/۵ \times ۱۰^{۶}$ اسـپور در هـر میلی‌لیتر از سوسپانسیون قـارچی بـه داخـل فلاسـک‌هـای حاوی ۱۵۰ گرم برنج به همـراه ۱۵۰ میلـی‌لیتـر آب تلقـیح شد. فلاسک‌ها به‌مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجهٔ سلسیوس در انکوباتور مجهز به مخلوط‌کن قرار داده شدند. برنج‌های آلوده در دمای ۷۰ درجهٔ سلسیوس به‌مـدت ۴۸ سـاعت در داخل آون خشک و پس از آن توسط آسیاب برقی به‌طـور کامل آسیاب شدند. برای اسـتخراج آفلاتوکسـین، ۱۰ گـرم آرد برنج آلوده با ۲۰۰ میلی‌لیتر متـانول ۵۵درصـد بـه‌طـور کامل در داخل یک ارلن مخلـوط شـد. بـرای اسـتخراج و حذف چربی موجود در برنج از هگزان نرمال استفاده شـد. برای استحصال بهتر آفلاتوکسین بـرنج، از حجـم مسـاوی کلروفرم به‌منظور حلالیّت بیشتر اسـتفاده شـد. سـپس فـاز کلروفرمی حاوی آفلاتوکسین در دسـتگاه تبخیـر در خـلاء به‌آرامی تبخیر شد و آفلاتوکسین باقیمانده در ته ظـرف بـا مقدار معینی کلروفرم مخلـوط و تـا زمـان سـنجش میـزان آفلاتوکسین در یخچال نگهداری شد. برای آنـالیز کمّـی و کیفی آفلاتوکسـین B_1 از روش کرومـاتوگرافی لایـه‌نـازک استفاده شد (۲۳).

وزن زنـده و مصـرف خـوراک واحـدهای آزمایشـی به‌صورت هفتگـی انـدازه‌گیـری و افـزایش وزن و ضـریب تبـدیل بـرای دورهٔ سـنی ۱ تـا ۲۱ روز محاسـبه شـد. در ۱۱روزگی در عضلهٔ سینهٔ همهٔ پرنده‌ها مقدار ۰/۲ میلی‌لیتـر از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفند ۵درصـد شسـته و در بافر فسفات استریل تزریق شد. ۱۰ روز پـس از تزریـق، از دو پرنده در هر واحـد آزمایشـی، از طریـق وریـدبال یـک میلی‌لیتـر خـون بـدون مـادهٔ ضـدانعقاد گرفتـه شـد. سـرم به‌دست‌آمده در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس تا زمـان انجـام آزمایش‌هـای بعـدی نگهـداری شـدند. بـرای تعیـین عیـار آنتی‌بادی تولیدشـده علیـه گلبـول قرمـز گوسـفند از روش هماگلوتیناسـیون میکروتیتـر اسـتفاده شـد (۱۸). واکسـن نیوکاسل B_1 در ۷روزگی ازطریق قطرهٔ چشمی تجویز شـد. دو هفته بعد از واکسیناسیون از دو قطعه پرنده از هر گـروه آزمایشی ازطریق وریدبال خون گرفته شد. پس از جداشدن سرم از لختهٔ خون، به‌منظور تعیـین عیـار پـادتن تولیدشـده علیه ویروس واکسن نیوکاسـل از روش HI اسـتفاده شـد (۲۶). در ۱۸روزگی، سه پرنده از هر گروه آزمایشی پس از علامت‌گذاری با رنگ‌های گوناگون، به‌وسیلهٔ چالش پوست با ۰/۰۵ میلی‌لیتر دی‌نیتروکلروبنزن ۰/۱درصد (حاوی یـک میلی‌گرم دی‌نیتروکلروبنزن در میلی‌لیتـر مخلـوط اسـتون و روغن زیتون با نسـبت ۴:۱ بـه‌عنـوان حـلال) چـالش داده شدند. در این روش، ناحیه‌ای نسبتاً بدون پـر بـا مسـاحت تقریبی ۹ سانتی‌مترمربع در طرف راست و چپ بدن بـرای چالش با حلال و دی‌نیتروکلروبنزن انتخاب شد. بـه‌منظـور بررسی میـزان واکـنش، افـزایش ضـخامت پوسـت طـرف راست و چپ بدن ۱۲ ساعت پس از چـالش بـا میکرومتـر الکترونیکی با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر انـدازه‌گیـری و اخـتلاف افـزایش ضـخامت پوسـت طـرف راسـت و چـپ بـدن به‌صورت میلی‌متر گزارش شد (۲۸).

در روز ۲۱ دورهٔ پرورش از هر تکرار دو قطعـه پرنـده

با وزن نزدیک به میانگین انتخاب، توزین و کشتار شدند. کبد، طحال، بورس فابریسیوس، تیموس و قلب هر پرنده تفکیک و وزن نسبی آنها به‌صورت درصدی از وزن زنده محاسبه شد. داده‌ها با رویهٔ GLM نرم‌افزارSAS (۲۲) برای مدل ۱ تجزیه و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال (P<۰/۰۵) مقایسه شدند.

مدل استفاده‌شده به‌صورت رابطهٔ ۱ بود:

$$X_{ij} = \mu + \delta_j + E_{ij} \qquad (۱)$$

در این رابطه: X_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین جامعه، δ_j اثر هر تیمار، و E_{ij} اثر خطای آزمایش است.

نتایج و بحث

اثر تیمارها بر خوراک مصرفی معنی‌دار نبود (جدول ۲). پرندگانی که جیرهٔ حاوی آفلاتوکسین (شاهد مثبت) دریافت کردند، افزایش وزن کمتری داشتند (P<۰/۰۰۱). تفاوتی در میزان افزایش وزن پرندگانی که با جیرهٔ حاوی آفلاتوکسین B_1+چای ترش تغذیه شدند، با پرندگان شاهد (منفی) مشاهده نشد. ضریب تبدیل در پرندگان دریافت‌کنندهٔ آفلاتوکسین (شاهد مثبت) بالاتر از پرندگان مربوط به تیمارهای دیگر بود (P<۰/۰۰۱).

جدول ۲. اثر آفلاتوکسین B_1 و چای ترش بر عملکرد جوجه‌های گوشتی از روز ۱ تا ۲۱ دورهٔ پرورش

تیمار	مصرف خوراک (گرم/پرنده)	افزایش وزن (گرم/پرنده)	ضریب تبدیل
شاهد منفی (بدون افزودنی)	۹۵۵	۷۹۴[a]	۱/۲۰[b]
شاهد مثبت (حاوی آفلاتوکسین)	۹۲۴	۷۰۳[b]	۱/۳۱[a]
چای ترش	۹۳۴	۸۰۱[a]	۱/۱۷[b]
آفلاتوکسین+چای ترش	۹۳۵	۷۷۸[a]	۱/۲۰[b]
خطای استاندارد میانگین‌ها	۴/۴۶	۱۱/۰۷	۰/۰۳۵
احتمال	۰/۰۷۸	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

a-b: تفاوت ارقام در هر ستون، با حروف نامشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جیرهٔ آلوده به آفلاتوکسین، افزایش وزن و مصرف خوراک را کاهش و ضریب تبدیل را افزایش می‌دهد (۵). در آزمایش حاضر، کاهش ۱۱/۴۸درصدی در افزایش وزن جوجه‌های تغذیه‌شده با جیرهٔ آلوده به آفلاتوکسین (شاهد مثبت) در مقایسه با پرندگانی که آفلاتوکسین دریافت نکردند (شاهد منفی) مشاهده شد. کاهش ۱۱درصدی افزایش وزن جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیرهٔ آلوده به ۲/۵ میلی‌گرم آفلاتوکسین در کیلوگرم گزارش شده است که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد (۱۵).

اثر محافظتی آنتی‌اکسیدان‌ها در برابر آفلاتوکسیکوزیس در طیور، مشاهده شده است. کورکومین و کورکومینوئید از آنتی‌اکسیدان‌های زردچوبه هستند. این ترکیبات به‌طور شایان توجهی تأثیرات آفلاتوکسین B_1 بر مصرف خوراک، افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل و انحطاط سلول‌های کبدی در جوجه‌های گوشتی را مهار می‌کنند (۹). در آزمایشی، در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره‌های غذایی آلوده به آفلاتوکسین (۰/۵ یا ۱ قسمت در میلیون)، افزایش قابل‌توجه در پراکسیداسیون لیپید در کبد و

گلبول‌های قرمز همراه با سرکوب سوپراکسیددیسموتاز و فعالیت آنزیم کاتالاز گلبول قرمز دیده شد. استفاده از ملاتونین به همراه آفلاتوکسین B_1 موجب کاهش تأثیرات مضر این سم بر فراسنجه‌های بررسی‌شده گردید و اثر محافظتی ملاتونین به خواص آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داده شد (۲۴). برگ ترب‌کوهی منبع غنی از فلاونوئیدها، کوئرستین، کامفرول و سایر آنتی‌اکسیدان‌هاست. مکمل ۱درصد برگ این گیاه به‌طور شایان توجهی محصولات پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کبد را افزایش داده است و جوجه‌های گوشتی را در برابر مسمومیت آفلاتوکسین محافظت می‌کند (۲۷).

کاهش تأثیرات آفلاتوکسین B_1 بر ضریب تبدیل و افزایش وزن در اثر مصرف چای ترش، احتمالاً ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه دارویی است. آنتوسیانین چای ترش اثر آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی دارد. اثر محافظتی چای ترش در مسمومیت‌های کبدی ناشی از ترت-بوتیل هیدروپراکسید در موش‌ها، در اثر آنتوسیانین ایجاد می‌شود. آنتوسیانین قادر به دفع رادیکال‌های آزاد ۱،۱-دی‌فنیل-۲-پیسریل‌هیدرازیل است و مسمومیت ناشی از ترت-بوتیل هیدروپراکسید در هپاتوسیت‌های اولیهٔ کبد موش را کاهش می‌دهد (۲۹). آنتوسیانین چای ترش در برابر آسیب به DNA ناشی از ترت-بوتیل هیدروپراکسید در ماهیچهٔ صاف موش و سلول‌های هپاتوسیت مؤثر است (۱۲). ترکیبات دیگر موجود در چای ترش مانند فیتوسترول و توکوفرول، مخصوصاً بتاسیسترول و گاماتوکوفرول، مشابه با آنتوسیانین در کاهش مسمومیت ناشی از پاراستامول در موش‌ها مؤثر هستند (۱).

عیار پادتن تولیدشده علیه واکسن نیوکاسل و یا علیه گلبول قرمز گوسفندی در پرندگانی که جیرهٔ حاوی آفلاتوکسین B_1 دریافت کردند (شاهد مثبت)، پایین‌تر از پرندگان مربوط به تیمارهای شاهد منفی و یا تیمارهای دریافت‌کنندهٔ جیرهٔ حاوی چای ترش بود ($P<۰/۰۰۱$) (جدول ۳). تفاوتی در میزان عیار پادتن تولیدشده علیه واکسن نیوکاسل و گلبول قرمز گوسفند در پرندگان دریافت‌کنندهٔ آفلاتوکسین و چای ترش با پرندگان شاهد منفی مشاهده نشد، افزایش ضخامت پوست در چالش با دی‌نیتروکلروبنزن در پرندگان دریافت‌کنندهٔ آفلاتوکسین (شاهد مثبت) کمتر از سایر پرندگان بود ($P<۰/۰۰۱$).

جدول ۳. اثر آفلاتوکسین B_1 و چای ترش بر عیار پادتن تولیدشده علیه واکسن نیوکاسل، آنتی‌بادی تولیدشده علیه گلبول قرمز گوسفند و افزایش ضخامت پوست در چالش با دی‌نیتروکلروبنزن

تیمار	عیار پادتن تولیدشده علیه واکسن نیوکاسل[۱]	عیار پادتن تولیدشده علیه گلبول قرمز گوسفند[۲]	افزایش ضخامت پوست در چالش با دی‌نیتروکلروبنزن (میلی‌متر)
شاهد منفی (بدون افزودنی)	۵/۱۲[b]	۷/۵۰[b]	۰/۵۲۰[b]
شاهد مثبت (حاوی آفلاتوکسین)	۲/۷۵[c]	۵/۳۷[c]	۰/۳۳۷[c]
چای ترش	۸/۱۲[a]	۱۰/۲۵[a]	۰/۸۲۵[a]
آفلاتوکسین+چای ترش	۵/۵۰[b]	۷/۸۷[b]	۰/۷۱۰[a]
خطای استاندارد میانگین‌ها	۰/۵۳۵	۰/۴۶۵	۰/۰۵۲
احتمال	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

a-c: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ستون، معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

۱. عکس لگاریتم در مبنای دو رقتی که از هماگلوتیناسیون پیش‌گیری کرده است.

۲. عکس لگاریتم در مبنای دو رقتی که هماگلوتیناسیون کامل داشته است.

سرکوب سیستم ایمنی سلولی و هومورال در مرغ‌های در معرض آفلاتوکسین نشان داده شده است (۲۱). حضور آفلاتوکسین در غلظت‌های بیشتر از یک میلی‌گرم بر کیلوگرم در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی موجب کاهش قابل توجه پاسخ ایمنی می‌شود (۲۸). آفلاتوکسین B_1 موجب اختلال در فعالیت سیستم رتیکولواندوتلیال، کاهش پاسخ ایمنی اولیه و کاهش فعالیت فاگوسیتیک لکوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌شود (۸).

تغییر غلظت عصارهٔ چای ترش در جیرهٔ غذایی موش از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب بهبود پاسخ ایمنی می‌شود. ارتقای پاسخ ایمنی توسط عصارهٔ چای ترش ازطریق اثر بر فعالیت گلبول‌های سفید نیست، بلکه ناشی از اثر بر لنفوسیت‌های B (ایمنی هومورال) و لنفوسیت‌های T (ایمنی سلولی) است. اثر عصارهٔ این گیاه بر سیستم ایمنی سلولی ازطریق اثر بر تولید دو سایتوکین TNF-α و IL-10 صورت می‌گیرد (۷).

وزن نسبی بورس‌فابریسیوس در پرندگانی که جیرهٔ شاهد مثبت دریافت کردند، کمتر از پرندگان سایر تیمارها بود (P<۰/۰۰۱) (جدول ۴). وزن نسبی بورس فابریسیوس در پرندگانی که فقط چای ترش در جیرهٔ خود دریافت کردند، از سایر گروه‌ها بالاتر بود. وزن نسبی کبد و قلب در گروه شاهد مثبت بالاتر از سایر گروه‌ها بود (P<۰/۰۱).

تأثیر تیمارهای گوناگون بر وزن نسبی طحال معنی‌دار نبود.

آفلاتوکسین باعث کاهش اندازهٔ بورس‌فابریسیوس- از عوامل اصلی سیستم ایمنی هومورال- می‌شود که با کاهش تعداد سلول‌های فعال آن و کاهش تولید آنتی‌بادی همراه است (۸). ایجاد اختلال در توسعهٔ بورس فابریسیوس توسط آفلاتوکسین‌ها موجب کاهش تولید لنفوسیت‌های B و درنتیجه تضعیف ایمنی هومورال می‌شود (۲۵). آفلاتوکسین B_1 با تشکیل ۸،۹-اپوکسید و اتصال به DNA و پروتئین‌ها باعث آسیب‌رساندن به ساختار کبد می‌شود و افزایش وزن کبد را به همراه دارد (۱۷). تغییرات مشاهده‌شده در بورس فابریسیوس، کبد و قلب در آزمایش حاضر با گزارش‌های پیشین در زمینهٔ آفلاتوکسیکوزیس پرندگان قابل مقایسه است (۴).

عصارهٔ اتانولی چای ترش دارای اثر بازدارندگی بر علیه قارچ‌های *Aspergillus fumigatus* و *Aspergillus niger* است و تولید آفلاتوکسین را در این قارچ‌ها کاهش می‌دهد (۲۰). به‌نظر می‌رسد چای ترش به‌علت دارابودن خواص آنتی‌اکسیدانی و سم‌زدایی، تأثیرات منفی آفلاتوکسین B_1 را بر اندام‌های داخلی کاهش می‌دهد.

باتوجه به نتایج تحقیق حاضر، استفاده از چای ترش برای حذف یا کاهش تأثیرات زیان‌بار آفلاتوکسین B_1 در جیرهٔ غذایی جوجه‌های گوشتی توصیه می‌شود.

جدول ۴. اثر آفلاتوکسین B_1 و چای ترش بر وزن نسبی اندام‌های داخلی (گرم در ۱۰۰ گرم وزن بدن)

تیمار	بورس فابریسیوس	کبد	قلب	طحال
شاهد منفی (بدون افزودنی)	۰/۰۲۲[b]	۰/۲۷۲[b]	۰/۰۶۶[b]	۰/۰۰۹
شاهد مثبت (حاوی آفلاتوکسین)	۰/۰۱۹[c]	۰/۳۵۱[a]	۰/۰۸۳[a]	۰/۰۰۸
چای ترش	۰/۰۲۵[a]	۰/۲۸۹[b]	۰/۰۶۸[b]	۰/۰۱۱
آفلاتوکسین+چای ترش	۰/۰۲۳[b]	۰/۲۸۸[b]	۰/۰۷۰[b]	۰/۰۰۹
خطای استاندارد میانگین‌ها	۰/۰۰۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴
احتمال	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۰۲۸	۰/۲۳۲

a-c: تفاوت ارقام در هر ستون، با حروف نامشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

منابع

1. Ali BH, Mousa HM and El-Mougy S (2003) The effect of a water extract and anthocyanin's of *Hibiscus sabdariffa* Linn. In paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. Phytotherapy Research. 17: 56-59.

2. Bennett JW and Klich M (2003) Mycotoxins review. Clinical Microbiology. 16: 497-516.

3. Berges R, Arnault MH, Auger I, Kahane J, Pinnert R, Vernevaut MF and Le Bon AM (2004) Comparison of the chemopreventive efficacies of garlic powders with different alliin contents against aflatoxin B_1 carcinogenicity in rats. Carcinogenesis. 25(10): 1953-1959.

4. Denli M, Blandon JC, Guynot ME, Salado S and Perez JF (2009) Effects of dietary AflaDetox on performance, serum biochemistry, histopathological changes, and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B_1. Poultry Science. 88(7): 1444-1451.

5. Devegowda G, Murthy TNK and Diaz DE (2005) Mycotoxins: their effects in poultry and some practical solutions. The mycotoxin blue book, Nottingham University Press: UK. Pp. 25-56.

6. Díaz-Maroto MC, Pérez-Coello, MS, Gonzalez Vinas M and Cabezudo MD (2003) Influence of drying on the flavor quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). Agricultural and Food Chemistry. 51: 1265–1269.

7. Fakeye TO, Pal A, Bawankule DU and Khanuja SPS (2008) Immunomodulatory effect of extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. (Family Malvaceae) in a mouse model. Phytotherapy Research. 22(5): 664-668.

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

9. Gowda NK, Ledoux DR, Rottinghaus GE, Bermudez AJ and Chen YC (2009) Antioxidant efficacy of curcuminoids from turmeric (*Curcuma longa* Linn.) powder in broiler chickens fed diets containing aflatoxin B_1. British Journal of Nature. 102(11): 1629-1634.

10. Kijparkorn PSKAS (2011) Effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) calyx in laying hen diet on egg production performance, egg quality and TBARS value in plasma and yolk. The Thai Journal of Veterinary Medicine. 41(3): 337-344.

11. Kijparkorn S and Ittitanawong UJSWP (2009) Antioxidant and acidifier properties of roselle (*Hibicus sabdariffa* Linn.) calyx powder on lipid peroxidation, nutrient digestibility and growth performance in fattening pigs. The Thai Journal of Veterinary Medicine. 39(1): 41-51.

12. Lazze MC, Pizzala R, Savio M, Stivala LA, Prosperi E and Bianchi L (2003) Anthocyanins protect against DNA damage induced by tert butyl-hydroperoxide in rat smooth muscle and hepatoma cells. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 535(1): 103-115.

13. Luo H, Tang M, Billam M, Huang T, Yu J, Wei Z, Liang Y, Wang K, Zhang ZQ, Zhang L and Wang JS (2006) Phase IIa chemoprevention trial of green tea polyphenols in high-risk individuals of liver cancer: modulation of urinary excretion of green tea polyphenols and 8-hydroxydeoxyguanosine. Carcinogenesis. 27(2): 262-268.

14. Mahadevan N, Shivali KP and Kamboj P (2009) *Hibiscus sabdariffa* Linn- an overview. Natural Product Radiance. 8(1): 77-83.

15. Miazzo R, Rosa C, Carvalho EDQ, Magnoli C, Chiacchiera S, Palacio G, Saenz M, Kikot A, Basaldella E and Dalcero A (2000) Efficacy of synthetic zeolite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. Poultry Science. 79(1):1-6.

16. NRC (1994) Nutrient Requirements of Poultry. National Academy Press, Washington, DC.

17. Pasha TN, Farooq MU, Khattak FM, Jabbar MA and Khan AD (2007) Effectiveness of sodium bentonite and two commercial products as aflatoxin absorbents in diets for broiler chickens. Animal Feed Science and Technology. 132: 103-110.

18. Peterson AL, Qureshi MA, Ferket PR and Fuller JC (1999) Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of β-hydroxy-β-methylbutyrate. Immmunopharmacology and Immunotoxicology. 21(2): 307-330.

19. Rawal S, Kim JE and Coulombe JR (2010) Aflatoxin B_1 in poultry: toxicology, metabolism and prevention. Research in Veterinary Science. 89: 325-331.

20. Ross IA (2003) *Hibiscus sabdariffa*. In Medicinal plants of the world. Humana Press. Pp. 267-275.

21. Samuel AO, Olubukola O and Matthew AO (2009) Hematological and immunological effect on chicken exposed to aflatoxin. Veterinary World. 2(1): 5-7.

22. SAS Institute (2001) SAS Users Guide Statics. Version 8.2. ed. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.

23. Shotwell OL, Hesseltine CV, Stubblefield RD and Sorenson WG (1966) Production of aflatoxin on rice. Applied and Environmental of Microbiology. 14: 425-428.

24. Sirajudeen M, Gopi K, Tyagi JS, Moudgal RP, Mohan J and Singh R (2011) Protective effects of melatonin in reduction of oxidative damage and immunosuppression induced by aflatoxin B_1-contaminated diets in young chicks. Environmental Toxicology. 26: 153-160.

25. Sur E and Celik I (2003) Effect of aflatoxin B_1 on the development of the bursa of fabricius and blood lymphocyte acid phosphatase of the chicken. British Poultry Science. 44(4): 558-566.

26. Thayer SG and Beard CW (1998) Serological procedures. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens, 4th ed., Pennsylvania, USA: American Association of Avian Pathologists.

27. Umaya RS (2014) Application of *Moringa oleifera* in poutlry: a review. World Journal of Pharmaceutical Reseach. 3(2): 1955-1960.

28. Verma J, Johri TS, Swain BK and Ameena S (2004) Effect of graded levels of aflatoxin and their combination on the performance and immune response of broilers. British Poultry Science. 45(4): 512-518.

29. Wang CJ, Wang JM, Linn WL, Chu CY, Chou FP and Tseng TH (2000) Protective effect of *Hibiscus sabdariffa* anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. Food and Chemical Toxicology. 38: 411-416.

30. Yarru LP, Settivari RS, Antoniou E, Ledoux DR and Rottinghaus GE (2008) Effects of aflatoxin, curcumin, and their combination on the expression of liver antioxidant, immune and biotransformation genes in broiler chicks. Poultry Science (Supplement 1), 87: 170.