

اثر عصاره زردچوبه در پیشگیری از ضایعات هیستوپاتولوژی سنگدان در مسمومیت با آفلاتوکسین در جوجه‌های گوشتی

نادر رنگساز^۱، مجید غلامی آهانگران^{۲*}، شهرزاد عزیزی^۳، نوشا ضیاء جهرمی^۴

۱- عضو انجمن علمی، دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد-ایران.
۲- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد-ایران.
۳- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد-ایران.
۴- گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد-ایران.
* نویسنده مسئول: mgholamia@yahoo.com
دریافت مقاله: ۱ آبان ۸۹، پذیرش نهایی: ۵ اسفند ۸۹

The effect of turmeric extract on prevention of histopathologic lesions of gizzard in aflatoxicosis in broiler chickens

Rangsaz, N.¹, Gholami-Ahangaran, M.^{2*}, Azizi, Sh.³, Zia-Jahromi, N.⁴

¹Member of Scientific Association, Graduated of Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord- Iran.

²Young Researchers Club, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord- Iran.

³Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord- Iran.

⁴Department of Biochemistry, Basic Sciences Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord- Iran.

Abstract

In this survey 300 broiler chickens, one day old (Ross strain) divided into 4 treatment groups with 3 replications equally during 28 days experimental period. Diets including, Group (1) as negative control were used standard diet based on corn and soybean, group (2) were received basal diet with 3 ppm productive aflatoxin, group (3) were consumed basal diet containing 0.05% turmeric extract and group (4) were used diet comprised 0.05% turmeric extract and 3 ppm productive aflatoxin. Histopathologically, gizzard samples in group 2 that received 3 ppm aflatoxin showed degeneration of mucosal glands, ulcer, infiltration of lymphoid cells focally and disseminated into mucosa was most severe gizzard lesions respect to the control group and statistically had increased significant respect to other groups ($p < 0.05$). The group that consumed combination of 3 ppm aflatoxin and 0.05% turmeric extract revealed that lesions such as to destroy glands in part of mucosal tissue and degeneration of mucosal glands mildly. Mucosal gland hyperplasia of gizzard was considered one of mild appearances. In current study, revealed that curcuma longa as a natural substance can be effective in reducing of gizzard lesions due to induced intoxication with aflatoxin. **J. Vet. Microbiol. 7,1:7-10, 2011.**

Keywords: Histopathology, Turmeric extract, Gizzard lesions, Aflatoxicosis, Broiler.

چکیده

تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه (نژاد راس) به چهار گروه تیمار با ۳ تکرار مساوی تقسیم شدند و در طی ۲۸ روز دوره پرورشی نگهداری شدند. گروه اول به عنوان گروه کنترل منفی از جیره استاندارد بر پایه ذرت و سویا مصرف نمودند. گروه دوم: دریافت کننده جیره پایه بعلاوه ۳ ppm آفلاتوکسین تولیدی بود، گروه سوم: با جیره پایه حاوی ۰/۰۵ درصد عصاره زردچوبه تغذیه شدند و گروه چهارم جیره ای در بر دارنده ۰/۰۵ درصد عصاره زردچوبه و ۳ ppm آفلاتوکسین تولیدی را دریافت نمودند. از نظر بافت شناسی، نمونه های سنگدان در گروه دریافت کننده ۳ ppm آفلاتوکسین تظاهراتی همچون از بین رفتن غدد مخاطی، زخم، نفوذ سلول های لنفوئیدی بصورت کانونی و منتشر در داخل مخاط را نشان داد که شدت آن از ضایعات سنگدانی در گروه کنترل بود و از لحاظ آماری افزایش معنی داری نسبت به سایر گروه ها داشت ($p < 0.05$). تیمار مصرف کننده ترکیبی از ۳ ppm آفلاتوکسین و ۰/۰۵ درصد عصاره زردچوبه ضایعاتی نظیر از بین رفتن غدد در قسمتی از بافت مخاطی و دژنراسیون غدد مخاطی را بصورت ملایم بروز دادند. هیپرپلازی غدد مخاطی سنگدان یکی از تظاهرات ملایم و بارزی در گروه دریافت کننده ۰/۰۵ درصد زردچوبه مورد نظر قرار گرفت. در مطالعه کنونی مشخص شد که زردچوبه به عنوان یک ماده طبیعی می تواند در کاهش ضایعات سنگدانی ناشی از مسمومیت القایی با آفلاتوکسین موثر واقع گردد. مجله میکروبیولوژی دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۷، شماره ۱، ۷-۱۰.

واژه های کلیدی: هیستوپاتولوژی، عصاره ی زردچوبه، ضایعات سنگدان، آفلاتوکسیکوز، جوجه های گوشتی.



مقدمه

آفلاتوکسین‌ها به عنوان گروهی از متابولیت‌های هتروسیکلیک قارچ‌های توکسیژنیک همچون آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشند (۶). مسمومیت با آفلاتوکسین آثار متفاوتی در اندام‌های مختلف بر جای می‌گذارد که با توجه به نقش باقیمانده‌های آن در بهداشت و سلامت عمومی می‌تواند مورد اهمیت واقع شود (۵). زردچوبه گیاهی از خانواده زنجبیل خاص مناطق حاره زمین مانند هندوستان و چین می‌باشد. رنگ زرد و خواص دارویی و درمانی این ماده طبیعی به علت ماده کورکومین می‌باشد. از نظر خواص دارویی جهت رفع انسداد کبدی، درمان یرقان، رفع دندان درد، ضد تورم، خشک کردن زخم‌ها و رفع درد آنها، ضد نفخ، تصفیه کننده خون، تب بر، محرک و انرژی زا، رساندن دمل و سرطان مفید است. در طب سنتی از زردچوبه به عنوان صفرا آور و درمان یرقان استفاده می‌شده است (۲). لذا در این مطالعه برای اولین بار از زردچوبه به عنوان یک ترکیب حفاظت کننده در مقابل جراحات سنگدان استفاده می‌شود.

مواد و روش کار

۱. فرایند تولید و محاسبه آفلاتوکسین:

با بکارگیری از پروتکل شات ول و همکاران، قارچ لئوفیلیزه آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*Aspergillus parasiticus*) تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (NO: ۱۸۵۰) در صورت محلول در آمد و بر روی محیط کشت PDA بصورت خطی کشت داده شد. محیط‌های کشت در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و به مدت ۷ روز انکوبه گردیدند. در پایان روز هفتم با ظهور کلنی‌های قارچ، پلیت‌ها با استفاده از محلول ۰/۰۰۱ درصد تریتون شسته شده و بر روی سوپسترای ذرت تلقیح شدند و به مدت ۶ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند (۹). بعد از گذشت ۶ روز ذرت‌ها برای خشک شدن در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به دستگاه هواپز منتقل شدند و آفلاتوکسین تولیدی باروش الایزای رقابتی با استفاده از کیت تجاری Romer مورد سنجش قرار گرفت. آفلاتوکسین تولیدی در ذرت آلوده ۴۳/۳۲ ppm و در جیره پایه ۷ ppb برآورد شد. با اضافه سازی درصد مشخصی از ذرت آلوده به جیره، میزان آفلاتوکسین به ۳ ppm رسید. قابل ذکر است در گروه کنترل منفی از ذرت غیر آلوده به میزان معادل استفاده شد.

۲. عصاره گیری:

در ابتدا قطعات ریزوم گیاه *Curcuma longa* شسته، کاملاً خشک شده و به صورت پودر در می‌آید. سپس پودر آن در الکل اتانول ۹۶ درصد خیسانده و پس از گذشت ۷۲ ساعت محلول رویی (عصاره الکلی) را با کاغذ صافی جدا کرده و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد تغلیظ می‌گردد. ادامه عمل تغلیظ با حرارت غیر مستقیم بن ماری انجام گرفته تا الکل آن کاملاً تبخیر و عصاره به صورت خشک و پودر درآید و به میزان ۰/۰۵ درصد جیره (kg/۱۰) به صورت اسپری بر روی دان مورد استفاده قرار گرفت (۱).

۳. گروه‌های آزمایشی:

بعد از آماده سازی سالن و رعایت اصول بهداشتی و ضد عفونی، در فاز پرورش تعداد ۳۰۰ جوجه گوشتی در پن‌های مجزا با بستری از پوشال به ۴ گروه با سه تکرار مساوی (۲۵ قطعه ای) تقسیم شدند. تمام جوجه‌ها در شرایط یکسان پرورشی و تغذیه‌ای از قبیل نور، دما، تهویه و غیره تا سن ۲۸ روزگی پرورش داده شدند. جوجه‌ها آب و دان را بصورت آزاد (*Ad libitum*) دریافت کردند. جیره پایه حاوی ذرت، سویا، روغن گیاهی، دی کلسیم فسفات، کربنات کلسیم، نمک، مکمل ویتامینه، مکمل معدنی، لیزین، متیونین بود. محتوای جیره با انرژی متابولیسمی ۳۱۰۰ کیلوکالری، پروتئین ۲۲ درصد، چربی ۶ درصد، متیونین ۰/۶۴ درصد، متیونین بعلاوه سیستمین ۱ درصد، کلسیم ۱ درصد، فسفر ۰/۴۵ درصد و سدیم ۰/۲۰ درصد در نظر گرفته شد. گروه‌های تیمار شامل گروه (۱): گروه کنترل منفی، دریافت کننده جیره ای استاندارد بر پایه ذرت و سویا، گروه (۲): گروه کنترل مثبت، دریافت کننده جیره ی حاوی (۳ ppm) آفلاتوکسین تولیدی، گروه (۳): دریافت کننده جیره حاوی ۰/۰۵ درصد عصاره ی زردچوبه بعلاوه جیره پایه و گروه (۴): دریافت کننده ۰/۰۵ درصد عصاره ی زردچوبه بعلاوه ۳ ppm آفلاتوکسین تولیدی بود.

۴. جمع آوری و آنالیز آماری داده‌ها:

در پایان دوره پرورشی (۲۸ روزگی) تمام پرندگان کشتار شدند و نمونه‌های سنگدان در فرمالین ۱۰ درصد جهت تهیه مقاطع هیستوپاتولوژی جمع آوری شد. مقاطع آماده شده با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین مورد بررسی قرار گرفت. درجه جراحات در هر مقطع بررسی شد و بر حسب شدت و وسعت جراحات بصورت نرمال (درجه ۰)، ملایم (درجه ۱)،



بین رفتن غدد مخاطی، هیپرپلازی غدد مخاطی، ارتشاح و نفوذ سلول های لنفوئیدی می باشد. اضافه سازی عصاره زردچوبه به جیره حاوی ۳ ppm آفلاتوکسین باعث کاهش ضایعات از حالت متوسط تا شدید به خفیف تا متوسط می گردد. کاهش شدت ضایعات در گروه دریافت کننده عصاره زردچوبه بعلاوه آفلاتوکسین می تواند به علت خاصیت محافظت کنندگی و آنتی اکسیدانی زردچوبه در پیشگیری از آسیب اکسیداتیو سلولی ناشی از آفلاتوکسین مطرح باشد. در مطالعه ای مشخص گردید که دوزهای بالاتر از ۲/۵ ppm آفلاتوکسین و ۵۰ ppm سیکلوپیزونیک اسید می تواند تظاهراتی مانند فیبروتیک شدن طحال و آتروفی سنگدان را ایجاد نماید (۱۰). در بررسی دیگری نشان داده شد که مصرف توامان آفلاتوکسین و سیکلوپیزونیک اسید می تواند منجر به ضایعاتی در چینه دان، پیش معده، سنگدان و روده ها گردد (۳، ۴ و ۷). در مطالعه کومارو همکاران (۲۰۰۹) ضایعاتی همچون هیپرپلازی غدد مخاطی، دژنراسیون اپی تلیوم غده ای، تشکیل ناقص کراتینوئید در سنگدان و تغییرات دژنراتیو و نکروتیک در عضلات چینه دان و پیش معده مشاهده گردید که حاکی از اثرات ترکیبی آفلاتوکسین و سیکلوپیزونیک اسید در جوجه های گوشتی بود. علاوه بر آن در مصرف آفلاتوکسین به تنهایی، نکروز جزئی بافت مخاطی، ادم ناحیه زیر مخاط و اتساع کریپتها در پیش معده مشاهده شد (۸). بطور کلی یافته های مطالعه حاضر نشان می دهد مقدار ۳ ppm آفلاتوکسین می تواند باعث القای ضایعات پاتولوژیک در بافت سنگدان گردد و سلامت پرنده را از لحاظ گوارشی تهدید نماید. زردچوبه به عنوان یک ماده طبیعی با داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی و محافظتی بر روی دستگاه گوارش، می تواند از اثرات زیانبار آفلاتوکسین بطور نسبی پیشگیری نماید. مصرف زردچوبه در جیره غذایی طیور هیچگونه اثر جانبی نداشته و در دوز ۰/۰۵ درصد از امنیت مصرف مناسبی برخوردار می باشد. با توجه به دسترسی بالا و هزینه نسبتاً اندک زردچوبه و از طرفی امنیت مصرف این فرآورده در جیره غذایی طیور، لازم است مطالعات تکمیلی در خصوص نقش هر یک از اجزای اصلی عصاره زردچوبه و دز مناسب آن، در پیشگیری از اثرات منفی آفلاتوکسین توصیه گردد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله بر خود لازم می دانند از معاونت محترم

جدول ۱- میانگین درجه جراحات آماری ضایعات سنگدان در گروه های مختلف. b, c, a: حروف نامتشابه نشانگر اختلاف معنی دار است. * داده ها بصورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده اند.

گروه ها	کنترل (۱)	آفلاتوکسین (۲)	زردچوبه (۳)	زردچوبه + آفلاتوکسین (۴)
میانگین درجه جراحات	۰ ^a	۲/۸۳ \pm ۰/۱۶ ^b	۱ ^{ac}	۱/۱۶ \pm ۰/۴ ^c

متوسط (درجه ۲) و شدید (درجه ۳) گزارش گردید. تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل برای مقایسه میانگین درجه جراحات آماری ضایعات سنگدان در گروه های مختلف با استفاده از نرم افزار 2.0 Sigma State و برنامه ANOVA مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

با توجه به نتایج حاصل از داده های بافت شناسی سنگدان مشخص گردید که گروه دریافت کننده آفلاتوکسین افزایش معنی داری را نسبت به تمامی گروه های تیمار نشان می دهد ($p < 0/05$). تیماری که از عصاره زردچوبه استفاده نمود اختلاف معنی داری را نسبت به گروه کنترل منفی و گروه دریافت کننده ترکیبی از عصاره زردچوبه و آفلاتوکسین نشان نداد ($p > 0/05$). این در حالی است که تیمار تغذیه کننده از عصاره زردچوبه به همراه آفلاتوکسین دارای کاهش معنی داری نسبت به گروه دریافت کننده آفلاتوکسین به تنهایی می باشد ($p < 0/05$).

۱. تظاهرات هیستوپاتولوژی سنگدان:

از لحاظ بافت شناسی، تیماری که از ۳ ppm آفلاتوکسین در جیره مصرف کرده بود تظاهراتی نظیر از بین رفتن غدد مخاطی، نفوذ شدید سلول های لنفوئیدی بصورت کانونی و منتشر در داخل مخاط سنگدان، آروزئون و فیبروز را نشان داد. توام درمانی آفلاتوکسین و عصاره زردچوبه منجر به فیبروز و دژنراسیون غدد مخاطی و نفوذ سلول های تک هسته ای در سرتاسر لومن غدد مخاطی بطور ملایم شد. گروه دریافت کننده عصاره زردچوبه هیپرپلازی غدد مخاطی سنگدان را بطور ملایم نسبت به گروه کنترل نشان داد.

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر ضایعات متوسط تا شدیدی در مقاطع سنگدان جوجه های تغذیه شده با ۳ ppm آفلاتوکسین مشاهده شد. ضایعات سنگدانی در این مطالعه شامل فیبروز، آروزئون، از



10. Smith, E. E., Kubena, L. F., Braithwaite, C. E., Harvey, R. B., Phillips, T. D., Reine, A. H. (1992) Toxicological evaluation of aflatoxin and cyclopiazonic acid in broiler chickens. *Poultry Science*, **71**: 1136-1144.

پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد جناب آقای دکتر عبداله قاسمی پیربلوطی به خاطر حمایت‌های مالی کمال تشکر و قدردانی داشته باشند.

منابع

۱. احمدی، م.، راسخ، ح. ر.، کمالی نژاد، م.، زارع، ع. (۱۳۸۶) بررسی اثر عصاره تام ریزوم گیاه *longa roxb Curcuma* بر التهاب ناشی از آرتریت روماتوئید در موش صحرائی نر. فصلنامه گیاهان دارویی، سال هفتم، دوره اول، شماره مسلسل بیست و پنجم.
2. Abdelhamid, A. M., Dorra, T. M. (1993) Effect of feed-borne pollution with some mycotoxin combinations on broiler chickens. *Archive of Animal Nutrition Bertin*, **44**: 29-40.
3. Balachandran, C., Parthasarathy, K. R., Sundararaj, A. (1998) Experimental study on pathology of cyclopiazonic acid mycotoxicosis in broiler chicken. *Indian Veterinary Journal*, **75**: 693-697.
4. Cullen, J. M., Wilson, M., Hagler, W. M., Ort, J. F., Cole, R. J. (1988) Histologic lesions in broiler chicks given cyclopiazonic acid orally. *American Journal of Veterinary Research*, **49**: 728-732.
5. Diaz, D. E. (2005) *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham University Press, Nottingham.
6. Diaz, G. L., Cortes, A., Roldan, L. (2005) Evaluation of the efficacy of four feed additives against the adverse effect of T-2 toxin in growing broiler chickens. *Journal of Poultry Science*, **14**: 226-231.
7. Dorner, J. W., Cole, R. J., Lomax, L. G., Gosser, H. S., Diener, U. L. (1983) Cyclopiazonic acid production by *Aspergillus fl avus* and its effects on broiler chickens. *Applied Environmental Microbiology*, **46**: 698-703.
8. Kumar, K., Balachandran, C. (2009) Histopathological changes in broiler chickens fed aflatoxin and cyclopiazonic acid. *Veterinarski Arhiv*, **79** (1): 31-40.
9. Shotwel, L. O., Hesseltine, C. W., Stubblefield, R. D., Sorenson, W. G. (1996) Production of aflatoxin on rice. *Applied of Microbiology*, **14**(3): 425-428.

