مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۲ شماره ۲/ سال۱۴۰۱/ صفحات ۴۷ تا ۶۲

DOI: 10.22034/AS.2021.44969.1609

اثرات عصاره گیاه چویر بر پاسخ‌های رشد، پاسخ ایمنی و مورفولوژی روده باریک جوجه‌های گوشتی در شرایط چالش با آفلاتوکسین

زهرا نوره[1]، کامران طاهرپور[2*]، محمد اکبری قرائی[2]، حسینعلی قاسمی[3] و حسن شیرزادی[2]

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۴۰۰/۶/۱۰

[1] دانش‌آموخته دکترای گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام

[2] به‌ترتیب دانشیار، استادیار و استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام

[3] دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و محیط زیست دانشگاه اراک

*مسئول مکاتبه: Email: k.taherpour@ilam.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: عصاره گیاهان دارویی حاوی مواد طبیعی فعال با خواص ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی بوده که قادر به کاهش سمیت آفلاتوکسین در خوراک هستند. **هدف**: این آزمایش به منظور بررسی عصاره هیدروالکلی گیاه چویر در مقایسه با مکمل‌های جاذب سم، پروبیوتیک و مخلوط ویتامین-سلنیوم بر عملکرد، پاسخ ایمنی و مورفولوژی روده باریک در جوجه‌های گوشتی تحت چالش آفلاتوکسین انجام شد. **روش کار**: از ۳۵۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و پنج تکرار (۱۰ جوجه در هر تکرار) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره پایه فاقد مواد افزودنی و بدون چالش آفلاتوکسین (شاهد منفی)، جیره پایه فاقد مواد افزودنی و چالش آفلاتوکسین (شاهد مثبت حاوی ۱ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 در کیلوگرم جیره)، و یا جیره شاهد مثبت مکمل شده با افزودنی‌های جاذب سم، پروبیوتیک، مکمل مخلوط ویتامین و سلنیوم، ۲۰۰ و یا ۴۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم عصاره گیاه چویر بودند. **نتایج**: چالش آفلاتوکسین سبب کاهش عملکرد رشد در جوجه‌ها گردید؛ در حالی‌که تمام تیمارهای حاوی افزودنی در دوره‌های پایانی و کل دوره پرورش اثر منفی آفلاتوکسین را بر عملکرد رشد کاهش دادند. کمترین نسبت هتروفیل به لنفوسیت به ترتیب در تیمارهای سطح ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره چویر، مخلوط ویتامین و سلنیوم و شاهد منفی مشاهده شد ($P<0/05$). تیمارهای جاذب سم، پروبیوتیک و سطح دوم عصاره چویر سبب افزایش تیتر IgG ثانویه بر علیه گلبول قرمز خون گوسفندی شدند ($P<0/05$). همچنین تیمارهای مخلوط ویتامین-سلنیوم و عصاره چویر از کاهش سطح جذب پرز طی چالش آفلاتوکسین جلوگیری کردند. **نتیجه‌گیری نهایی**: استفاده از سطح بالای عصاره چویر در جیره جوجه‌های گوشتی (۴۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم) به‌طور قابل ملاحظه‌ای عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و سطح جذب پرزهای روده باریک را در جوجه های گوشتی بهبود بخشید و لذا می‌تواند جایگزین مناسبی برای افزودنی‌های جاذب سم و دیگر مکمل‌های رایج در شرایط چالش آفلاتوکسین باشد.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین، عصاره چویر، ایمنی هومورال، مورفولوژی روده، عملکرد رشد، جوجه‌های گوشتی

مقدمه

در بیشتر مناطق دنیا، طیور در معرض غذاهای حاوی مایکوتوکسین قرار دارند. آفلاتوکسین‌ها مهمترین مایکوتوکسین‌ها هستند که عمدتاً توسط قارچ آسپرژیلوس تولید می‌شوند. قارچ‌های تولیدکننده آفلاتوکسین‌ها روی مواد مختلف و تحت شرایط گوناگون رطوبت، درجه حرارت و pH رشد و تکثیر می‌یابند (محمدی و همکاران ۲۰۱۵). آفلاتوکسین‌ها به عنوان ممانعت‌کننده‌ی سنتز پروتئین شناخته شده‌اند و متعاقباً تقسیم سلولی و بافت‌های با ترن‌اور بالای پروتئین مثل کبد، سیستم ایمنی و اپیتلیوم روده را تحت تاثیر قرار داده و بدین ترتیب سیستم ایمنی را سرکوب می‌کنند. بعلاوه، آفلاتوکسین می‌تواند از توسعه غده تیموس جلوگیری کند و حتی وزن نسبی بورس فابرسیوس را تحت تاثیر قرار دهد که نتیجه‌ی این اثرات، کاهش ایمنی همورال و سلولی جوجه‌ها می‌باشد (بولو و همکاران ۲۰۱٤). گزارش شده است که سلول‌های لنفوسیت، هموگلوبین، گلبول‌های قرمز و سفید خون در اثر آفلاتوکسین کاهش می‌یابند (آل داراجی ۲۰۱۲). در مورد ضایعات آسیب‌شناسی بافتی گزارش شده است که در مرغ‌های مادر گوشتی، ارتفاع پرز و تعداد سلول‌های گابلت در اثر آفلاتوکسین به ترتیب کاهش و افزایش یافته است (منافی ۲۰۱۸).

استفاده از ترکیب‌هایی مثل اسیدهای آلی، اسانس و عصاره‌های گیاهی، پروبیوتیک‌ها، آنزیم‌ها، ویتامین‌ها و عناصر معدنی جهت مبارزه با سموم مورد بررسی قرار گرفته‌اند (آراک و همکاران ۲۰۱۳). پروبیوتیک‌ها به‌دلیل توانایی باندکردن آفلاتوکسین سبب کاهش قابلیت دسترسی آفلاتوکسین در دستگاه گوارش شده و در نهایت از اثرات سمی آفلاتوکسین بر عملکرد جلوگیری می‌کنند. احتمالاً پلی‌ساکاریدهای دیواره پروبیوتیک‌ها ترکیبات اصلی هستند که در باندکردن آفلاتوکسین نقش دارند (باقرزاده کاسمانی و مهری ۲۰۱۵). توانایی پروبیوتیک‌ها در باند شدن با آفلاتوکسین سبب کاهش جذب سموم در روده می‌شوند (گراتز و همکاران ۲۰۰۵ و نادا و همکاران ۲۰۱۰). پراکسیداسیون لیپید در زمان آفلاتوکسیکوزیس بدلیل تولید رادیکال‌های آزاد باعث آسیب به غشای سلولی می‌شود. رادیکال‌های آزاد می‌توانند توسط آنتی‌اکسیدان‌ها پاکسازی شوند و در نتیجه از آسیب سلولی توسط آنها جلوگیری شود (منافی و خسروانی ۲۰۱۳). ویتامین‌های C و E آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که سبب حذف گونه‌های فعال اکسیژن القاء شده در هنگام مسمومیت شده و از آسیب رادیکال‌های آزاد در سیستم‌های بیولوژیکی جلوگیری می‌کنند (منافی و خسروانی ۲۰۱۳). گزارشاتی نیز در مورد ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی سلنیوم و اثرات مثبت آن بر غلظت و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز خون طیور وجود دارد (پاین و سوترن ۲۰۰۵).

گیاهان دارویی مواد طبیعی هستند که از طریق فعالیت‌های ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی می‌توانند سبب کاهش سمیت آفلاتوکسین در مواد خوراکی شوند (ابدولماجد ۲۰۱۱). فرآورده‌های گیاهی توانایی غیرفعال کردن یا سم‌زدایی آفلاتوکسین B_1 را دارند (محمدی و همکاران ۲۰۱۵). گزارش شده است که گیاهان دارویی به عنوان جاذب سم گیاهی عمل می‌کنند و از طریق باندشدن با آفلاتوکسین اثر منفی سم را بر عملکرد جوجه‌ها کاهش می‌دهند (محمد و همکاران ۲۰۱۲ و منافی و خسروانی ۲۰۱۳). گیاه چویر با نام علمی*Ferulago angulate* گیاهی از خانواده چتریان بومی غرب ایران می‌باشد (حسینی و همکاران ۲۰۱۲) که خاصیت آنتی‌اکسیدانی و تقویت سیستم ایمنی همورال آن در شرایط مزرعه‌ای در جوجه‌های گوشتی به اثبات رسیده است (گواهی و همکاران ۲۰۱۳). وجود ترکیباتی مانند آلفاپینن، بتاپینن، ٤-ترپینئول و آلفا-ترپینئول در چویر باعث شده است که این گیاه خاصیت ضدمیکروبی و ضدقارچی قوی داشته باشد (حسینی و همکاران ۲۰۱۲). بنابراین با توجه به موارد گفته شده هدف از انجام این آزمایش، بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه چویر در

کنار مکمل جاذب سم سورباتوکس[1] و افزودنی پروبیوتیک و مکمل ویتامین‌ها-مواد معدنی (حاوی ویتامین‌های C و E و عنصر سلنیوم) بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و مورفولوژی روده در جوجه‌های گوشتی چالش یافته با آفلاتوکسین بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با استفاده از ۳۵۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه (با وزن اولیه ٤٢ گرم) سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و پنج تکرار (۱۰ جوجه در هر تکرار) انجام شد. پرنده‌ها به‌مدت ٤٢ روز بر روی بستر پرورش یافتند. برنامه نوری به صورت یک ساعت تاریکی و ۲۳ ساعت روشنایی بود. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد منفی (جیره پایه بدون ماده افزودنی و بدون چالش آفلاتوکسین)، ۲- شاهد مثبت (جیره پایه بدون ماده افزودنی و تحت چالش آفلاتوکسین از طریق افزودن ۱ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 در کیلوگرم خوراک)، ۳-جیره پایه + مکمل جاذب سم سورباتوکس (۲ گرم در کیلوگرم جیره) و تحت چالش آفلاتوکسین، ٤- جیره پایه + پروبیوتیک پریمالاک براساس توصیه شرکت سازنده (۹۰۰ ، ٤٥٠ و ۲۲٥ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی) و تحت چالش آفلاتوکسین، ٥- جیره پایه + ترکیب ویتامین‌های E و C و مواد معدنی (۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از هر یک از ویتامین‌های E و C و ۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم) و تحت چالش آفلاتوکسین، ٦ و ۷) به ترتیب جیره پایه + ۲۰۰ و ٤٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره هیدروالکلی گیاه چویر و تحت چالش آفلاتوکسین بودند. اندام هوایی گیاه چویر مورد استفاده در آزمایش با تأیید کارشناسان منابع طبیعی، از کوه‌های مانشت شهرستان چرداول استان ایلام، جمع‌آوری و در سایه خشک شد. در مراحل بعد، پودر خشک شده این گیاه آسیاب و از طریق روش ماسراسیون (خیساندن) با اتانول و آب (به نسبت ۷۰ به ۳۰) عصاره‌گیری شد (تروشوا و همکاران ۲۰۰۷). نمونه عصاره با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)، مدل GC Agilent 7890 ساخت کشور آمریکا تجزیه و ترکیبات مؤثره آن اندازه-گیری شد. عمده‌ترین اجزای شیمیایی موجود در عصاره گیاه چویر شامل ۱ و۲ بنزن دی‌کربوکسیلیک اسید (٥٦/٠٨ درصد)، کومارین (۱۸/۲۹)، متوکسالن (٦/٧٠) و زانتوتوکسین (۲/۱٦) بودند.

در طول دوره آزمایش، پرندگان آزادانه به آب و خوراک دسترسی داشتند. جیره‌های آزمایشی برای تأمین نیازهای مواد مغذی توصیه شده در راهنمای پرورش سویه راس ۳۰۸ برای دوره‌های آغازین (سن ۱ تا ۱۰ روزگی)، رشد (سن ۱۱ تا ۲٤ روزگی) و پایانی (سن ۲٥ تا ٤٢ روزگی)، تنظیم شدند (جدول۱). آفلاتوکسین مورد نیاز جهت انجام این آزمایش با استفاده از قارچ آسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) تولید شد. قارچ فوق ابتدا روی محیط کشت مناسب کشت داده شد سپس کشت بدست آمده جهت تولید آفلاتوکسین B_1 به روی برنج منتقل گردید (شاتل و همکاران ۱۹٦٦). روش کار به این صورت بود که در مجموع ۳۰ کیلوگرم برنج (اندازه مش ۲ میلی‌متر) در ۲ ظرف ۱۰۰ لیتری قرار گرفت، ۱۰ لیتر آب مقطر به هر یک اضافه شد و مخلوط اتوکلاو شد. محیط موجود در هر دو ظرف با ٥٠٠ میلی‌لیتر قارچ آسپرژیلوس فلاووس (10^8 اسپور در هر میلی‌لیتر) تلقیح و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز انکوبه شد. برای از بین بردن آسپرژیلوس فلاووس برنج انکوبه شده اتوکلا شد. در مرحله بعدی برنج اتوکلاو شده خشک و آسیاب گردید (اندازه مش ۰/٤۲٥ میلی‌متر). جهت اندازه‌گیری غلظت آفلاتوکسین از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد. غلظت افلاتوکسین در برنج کپک زده از ۲ ظرف به اندازه ۷/٤ میلی‌گرم در کیلوگرم اندازه‌گیری شد و در نهایت برای مقدار نهایی ۱ میلی‌گرم

[1] Sorbatox

آفلاتوکسین B_1 در کیلوگرم خوراک مقادیر محاسبه شده برنج کپک زده به‌جای ذرت در جیره غذایی استفاده شد. پارامترهای خوراک مصرفی و وزن بدن جوجه‌های هر واحد آزمایشی در سنین ۱۰، ۲٤ و٤۲ روزگی اندازه‌گیری و خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک برای دوره‌های آغازین، رشد، پایانی و کل دوره آزمایش (سن یک تا ٤۲ روزگی) محاسبه شد. تلفات هر تیمار بصورت روزانه ثبت گردید و مورد بررسی آماری قرار گرفت. همچنین جهت محاسبه شاخص کارایی تولید از رابطه ۱ استفاده شد.

(رابطه ۱) ۱۰۰× [(سن کشتار × ضریب تبدیل خوراک)/(درصد ماندگاری × میانگین وزن کشتار)] = شاخص کارایی تولید

Table 1- Basal diet composition for starter (1-10 d), growth (11-24 d) and finisher (25-42 d) periods

Ingradients (%)	Starter (1-10 days)	Grower (11-24 days)	Finisher (25-42 days)
Corn grain	47.03	59.66	65.99
Wheat grain	5.58	5.00	5.00
Soybean meal (44% CP)	29.02	16.15	10.28
Corn gluten	10.00	11.48	11.50
Soybean oil	3.50	3.34	3.09
Limestone	1.45	1.23	1.00
Dicalcium phosphate	1.95	1.80	1.83
Common salt	0.20	0.20	0.20
Vitamin and Mineral premix	0.50	0.50	0.50
DL-Methionine	0.52	0.58	0.57
L-Lysine HCl	0.25	0.06	0.04
Calculated composition			
AME (kcal/kg)	2950	3000	3050
Crude protein (%)	22	20	19
Lysine (%)	1.30	1.20	1.10
Methionine	0.56	0.54	0.52
Methionine + cysteine (%)	0.92	0.90	0.88
Threonine (%)	0.83	0.77	0.72
Arginine (%)	1.25	1.17	1.08
Tryptophan (%)	0.23	0.21	0.19
Valine (%)	0.90	0.84	0.78
Calcium (%)	1.04	0.95	0.92
Available phosphorus (%)	0.52	0.44	0.42
Sodium (%)	0.16	0.16	0.16

Supplied per kilogram diet: vitamin A (retinyl acetate), 9,000 IU; vitaminD3, 3,000 IU; vitamin E (DL-α-tocopheryl acetate), 18 mg; vitamin K, 3 mg; thiamin, 1.8 mg; riboflavin, 6 mg; pyridoxine, 3 mg; vitamin B_{12}, 0.012 mg; niacin, 30 mg; folic acid, 1 mg;biotin, 0.24 mg; pantothenic acid, 10 mg. choline, 500 mg, manganese, 100 mg; zinc 100 mg; iron, 80 mg; copper, 10 mg; iodine, 1 mg; selenium, 0.2 mg.

در سن ٤۲ روزگی، از هر واحد آزمایشی دو قطعه پرنده به صورت تصادفی انتخاب و از طریق ورید بال آن‌ها نمونه خون به میزان دو میلی‌لیتر گرفته و در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد خون (EDTA) ریخته شد. نمونه‌های استحصال شده برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون (هتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل) و محاسبه نسبت هتروفیل به لنفوسیت براساس روش رنگ آمیزی گیمسا استفاده شدند (های و وستوود ۲۰۰۲). غلظت هموگلوبین با استفاده از کیت شرکت زیست شیمی به روش رنگ‌سنجی و سیانومت‌هموگلوبین اندازه‌گیری شد. جهت تعیین هماتوکریت، نمونه‌های خون موجود در لوله‌های موئین با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵

دقیقه سانتریفیوژ شدند و سپس با استفاده از خط‌کش هماتوکریت درصد هماتوکریت تعیین گردید. به منظور شمارش تعداد گلبول‌های قرمز از روش دستی و لام هماسیتومتر نئوبار استفاده شد (الیس ۱۹۹۰). برای ارزیابی پاسخ سیستم ایمنی همورال، در سن ۲۸ روزگی به عضله سینه دو قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی مقدار ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون ۲/۵ درصد گلبول قرمز خون گوسفندی (SRBC) تزریق شد. ۷ روز بعد (در سن ۳۵ روزگی) به منظور بررسی پاسخ اولیه از ورید بال حدود ۱ میلی‌متر خون گرفته شد.

جهت بررسی پاسخ ثانویه، پس از خون‌گیری در ۳۵ روزگی، سوسپانسیون تازه‌ای از SRBC تهیه و جهت برانگیختن لنفوسیت‌های خاطره‌ای مجدداً به همان جوجه‌ها تزریق شد و هفت روز بعد (سن ٤۲ روزگی) خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های استحصال شده در هر دو مرحله بلافاصله جهت سنجش ایمونوگلوبولین کل، ایمونوگلوبولین M و ایمونوگلوبولین G به آزمایشگاه فرستاده شدند و با استفاده از روش هماگلوتیناسیون تعیین تیتر شدند (چیما و همکاران ۲۰۰۳). در انتهای آزمایش بعد از قطع خوراک، دو قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی انتخاب و کشتار شد و پس از جداسازی اندام‌های لنفوئیدی (بورس، تیموس و طحال)، وزن آن‌ها بصورت درصدی از وزن بدن محاسبه شد. همچنین بعد از باز کردن لاشه، از ژژنوم به طول دو سانتی‌متر نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها پس از شستشو با محلول بافر فسفات سالین به داخل ظروف پلاستیکی حاوی فرمالین ۱۰ درصد انتقال یافتند. برای تهیه اسلایدهای بافتی با ضخامت کم از روش واکس پارافین استفاده شد. برای برش‌گیری از قالب پارافینی از دستگاه میکروتوم و با ضخامت حدود ٦ میکرومتر استفاده شد. از ائوزین برای رنگ‌آمیزی و از میکروسکوپ نوری متصل به کامپیوتر برای بررسی مورفولوژی روده استفاده شد. پارامترهای طول پرز، عمق کریپت و عرض پرز اندازه‌گیری شد و سطح جذب پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت از طریق محاسبه بدست آمدند (ایجی و همکاران ۲۰۰۱).

داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) و رویه مدل‌های خط عمومی برای رابطه ۲ تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند (SAS 2009).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$ (رابطه ۲)

در این رابطه: Y_{ij}، مقدار مشاهده تیمار iام در تکرار jام؛ μ، میانگین صفت؛ T_i، اثر تیمار iام و e_{ij}، اثر خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد و تلفات جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ آمده است. چالش آفلاتوکسین سبب کاهش عملکرد در دوره‌های رشد، پایانی و کل دوره و همچنین کاهش شاخص کارایی تولید شد (P<۰/۰۵). در دوره رشد تیمارهای حاوی پروبیوتیک، مکمل مخلوط ویتامین-سلنیوم و سطح بالای عصاره چویر مصرف خوراک را در پرنده‌های تحت چالش آفلاتوکسین کاهش دادند (P<۰/۰۵) در دوره مذکور تیمارهای حاوی جاذب سم و سطح کم عصاره چویر مشابه تیمار شاهد منفی موجب بهبود در افزایش وزن بدن در مقایسه با تیمار شاهد مثبت گردید (P<۰/۰۵) همچنین تمام تیمارهای حاوی افزودنی به استثنای تیمار مکمل مخلوط ویتامین-سلنیوم موجب کاهش ضریب تبدیل خوراک در مقایسه با تیمار شاهد مثبت شدند (P<۰/۰۵). در دوره پایانی و همچنین در کل دوره همه تیمارهای حاوی افزودنی به استثنای تیمار مکمل مخلوط ویتامین-سلنیوم از کاهش مصرف خوراک در اثر چالش آفلاتوکسین جلوگیری کردند (P<۰/۰۵). در دوره‌های مذکور تیمارهای حاوی افزودنی اثرات منفی آفلاتوکسین را بر افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک تخفیف دادند (P<۰/۰۵) تیمار

حاوی جاذب سم در مقایسه با تیمار شاهد مثبت نرخ تلفات کمتر اما در مقایسه با تیمار شاهد منفی نرخ تلفات بالاتری داشت (P<۰/۰۵). همچنین همه تیمارهای حاوی افزودنی منجر به کاهش اثرات منفی آفلاتوکسین بر شاخص تولید شدند (P<۰/۰۵) و بالاترین شاخص تولید به ترتیب در تیمار شاهد منفی و تیمار حاوی مکمل جاذب سم مشاهده شد.

Table 2 - Effect of experimental treatments on growth performance and mortality of broilers under aflatoxin challenge during different breeding periods

Item	NC	PC	TB	Pro	ECSe	FAE200	FAE400	SEM	P-Value
Starter (1-10 d)									
Feed intake (g/d)	266.0	247.0	256.4	252.0	243.4	241.8	253.2	6.42	0.11
Body weight gain (g/d)	181.2	154.8	165.0	177.8	165.2	159.6	171.0	7.81	0.32
FCR	1.47	1.61	1.55	1.42	1.49	1.51	1.48	0.05	0.21
Grower (11-24 d)									
Feed intake (g/d)	970.8^{a}	928.4^{ab}	886.6^{bc}	824.0^{d}	846.6^{dc}	928.0^{ab}	738.8^{e}	18.21	<0.01
Body weight gain (g/d)	528.0^{a}	448.4^{dc}	496.0^{ab}	459.6^{bc}	437.0^{dc}	517.0^{a}	411.2^{d}	12.57	<0.01
FCR	1.85^{b}	2.09^{a}	1.79^{b}	1.79^{b}	1.93^{ab}	1.79^{b}	1.79^{b}	0.06	0.03
Finisher (25-42 d)									
Feed intake (g/d)	2768^{b}	2429^{c}	2747^{b}	2803^{b}	2523^{c}	2842^{b}	3063^{a}	35.18	<0.01
Body weight gain (g/d)	1320^{a}	898.8^{f}	1167^{c}	1109^{d}	1044^{e}	1152^{dc}	1240^{b}	18.51	<0.01
FCR	2.09^{e}	2.70^{a}	2.35^{d}	2.52^{b}	2.41^{dc}	2.46^{bc}	2.47^{bc}	0.03	<0.01
Total (1-42 d)									
Feed intake (g/d)	4005^{a}	3604^{c}	3890^{b}	3879^{b}	3613^{c}	4011^{a}	4055^{a}	34.32	<0.01
Body weight gain (g/d)	2030^{a}	1502^{e}	1828^{b}	1746^{c}	1646^{d}	1828^{b}	1822^{b}	13.71	<0.01
FCR	1.97^{d}	2.40^{a}	2.12^{c}	2.22^{b}	2.19^{b}	2.19^{b}	2.22^{b}	0.01	<0.01
Production index	228.2^{a}	89.70^{d}	163.8^{b}	118.3^{c}	119.1^{c}	138.7^{c}	136.6^{c}	8.23	<0.01
Mortality (%)	6.66^{c}	40.0^{a}	20.0^{b}	36.6^{a}	33.3^{ab}	30.0^{ab}	30.0^{ab}	4.24	<0.01

[a-f] Means within the same row with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

[1]NC; basal diet without any feed additive or aflatoxin B_1; PC: basal diet + 1 mg aflatoxin B1/kg; TB: PC + 1 g toxin binder/kg; Pro: PC + 1 g/kg probiotic; ECSe: PC + a vitamin-selenium complex preparation; FAE200: PC + 200 mg/kg FAE, and FAE400: PC + 400 mg/kg FAE.

در مطالعه حاضر چالش آفلاتوکسین اثر منفی بر عملکرد رشد داشت. در این راستا محققان گزارش نمودند که وجود آفلاتوکسین در جیره سبب کاهش مصرف خوراک، کاهش وزن بدن و ضعیف شدن ضریب تبدیل خوراک شده است (محمد و همکاران ۲۰۱۲ و رشیدی و همکاران ۲۰۲۰). نتایج پژوهش‌ها نشان داد که وجود آفلاتوکسین در جیره از ۲۱ تا ٤٩ روزگی سبب کاهش شاخص کارایی تولید جوجه‌های گوشتی شد (آل داراجی ۲۰۱۲). محققان دریافتند که به هنگام تغذیه با جیره‌های آلوده به مایکوتوکسین‌ها، نکروزه شدن بافت با تغییرات لومن به صورت موضعی گسترش پیدا می‌کند که نتیجه این عمل از دست رفتن جایگاه‌های گیرنده مواد مغذی، تولید سلول‌های التهابی در محل آسیب‌دیده با متابولیت‌های سمی و همچنین افزایش تولید و ترشح موکوس و تحت تأثیر قرار گرفتن کیفیت مواد غذایی در بافت روده می‌باشد (منافی ۲۰۱۸)، که از این طریق عملکرد حیوان را بطور منفی تحت تأثیر قرار می‌دهد. محققین کاهش وزن بدن به هنگام چالش با آفلاتوکسین را در ارتباط با اثرات سمی مایکوتوکسین‌ها بر اندامک‌های مختلف سلول می‌دانند که نتیجه آن امتناع جوجه‌ها از خوردن جیره حاوی سم می‌باشد (حسین ۲۰۱۵). نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که پرندگان تحت چالش آفلاتوکسین درصد تلفات بالایی داشتند. در این راستا، محققان بیشترین درصد تلفات را در گروه جوجه‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین گزارش نمودند (آراک و همکاران ۲۰۱۳). در مقابل، در یک مطالعه قبلی وجود آفلاتوکسین در جیره غذایی اثرات معنی‌داری

بر نرخ تلفات نداشت که مخالف نتیجه‌ی آزمایش حاضر است (محمود و همکاران ۲۰۱۷). آفلاتوکسین در دوزهای بالا به طور مستقیم باعث تلفات می‌گردد، اما ضرر اقتصادی اصلی ناشی از آن به علت کاهش رشد و کاهش ضریب تبدیل خوراک در مقادیر بالاتر از ۱ قسمت در میلیون است (ال ساد و محمود ۲۰۰۹).

در یک مطالعه در جوجه‌های گوشتی در زمان چالش آفلاتوکسین (جیره حاوبی ۸۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 در هفته اول و ۵۲۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 از ۸ تا ۳۵ روزگی)، افزودن جاذب سم مایکود[1] به جیره غذایی در سطح ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم سبب بهبود عملکرد شد (محمد و همکاران ۲۰۱۲). همچنین در مطالعه دیگر استفاده از ۲/۵ میلی‌گرم جاذب سم پلی‌ذورب[2] در کیلوگرم جیره غذایی توانست به طور موثری اثرات مسمومیت ناشی از آفلاتوکسین B_1 (جیره آلوده حاوی ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین) را در بلدرچین ژاپنی کاهش دهد (آراک و همکاران ۲۰۱۳). همچنین مشابه نتایج حاضر، رشیدی و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که مکمل‌سازی پروبیوتیک پروتکسین[3] و عصاره شیرین‌بیان به جیره جوجه‌های گوشتی چالش یافته با آفلاتوکسین (جیره حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1)، سبب کاهش اثرات مضر آفلاتوکسین بر عملکرد رشد گردید. همچنین در یک مطالعه قبلی استفاده از پروبیوتیک چندسویه از طریق افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل خوراک اثر منفی جیره‌های حاوی آفلاتوکسین (۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1) را در بلدرچین‌های ژاپنی کاهش داد (باقرزاده کاسمانی و مهری ۲۰۱۵). مکانیسم عمل پروبیوتیک‌ها به این صورت است که بدون اینکه تغییر شیمیائی در سطح سموم ایجاد کند با آفلاتوکسین باند می‌شوند و باعث خروج سم از بدن می‌شود. کمپلکس پروبیوتیک و آفلاتوکسین می‌تواند به راحتی از بدن دفع شود و خروج آفلاتوکسین را از محیط روده افزایش دهد که نتیجه آن کاهش جذب آفلاتوکسین در روده پرنده می‌باشد (باقرزاده کاسمانی و مهری ۲۰۱۵). با توجه به کاهش اثرات منفی آفلاتوکسین بر عملکرد رشد توسط تیمار مکمل مخلوط ویتامین-سلنیوم، گزارش شده است که استفاده از مواد افزودنی مثل سلنیوم برای حذف قارچ‌هایی مثل آسپرژیلوس در خوراک طیور کاربرد دارد (هاتفیلد و همکاران ۲۰۱۲). سلنیوم اثرات متفاوت ضد سرطانی، سم‌زدایی، حفاظت در برابر آسیب اکسیداتیو و حفاظت حیوان در مقابل ناهنجاری تغذیه‌ای ماهیچه‌ای را دارا می‌باشد (هاتفیلد و همکاران ۲۰۱۲). همچنین با توجه به اینکه در زمان آفلاتوکسیکوزیس پراکسیداسیون لیپید و تولید رادیکال-های آزاد باعث آسیب به غشای سلولی می‌شود (منافی و خسروانی ۲۰۱۳)، ویتامین‌های C و E همانند گیاهان دارویی بدلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی که دارند می‌توانند موجب ممانعت از تولید و آسیب رادیکال‌های آزاد در سیستم‌های بیولوژیکی شوند و از این طریق باعث بهبود عملکرد در شرایط آلودگی به آفلاتوکسین شوند.

در مطالعه حاضر مصرف عصاره چویر در هر دو سطح توسط جوجه‌های چالش یافته با آفلاتوکسین سبب بهبود عملکرد شد که از این نظر قابل قیاس با تیمارهای حاوی پروبیوتیک و مکمل ویتامینی-سلنیوم بود. موافق با این نتیجه، محققان بیان داشتند وجود روغن میوه مرکبات در جیره جوجه‌های آلوده به آفلاتوکسین سبب افزایش وزن بدن و کاهش ضریب تبدیل خوراک شد (دهانپال و همکاران ۲۰۱٤). در یک مطالعه دیگر، افزودن زردچوبه به جیره جوجه‌های تحت چالش آفلاتوکسین B_1، سبب افزایش وزن بدن جوجه‌ها شد (گوران و همکاران ۲۰۱۵). ترکیبات گیاهی خاص همچون فلاوونوئیدها و کورکومومینوئیدها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند و از تبدیلات زیستی آفلاتوکسین B_1 به مشتقات اپوکسید

[1] Mycoad
[2] Polysorb
[3] Protexin

فعال آن جلوگیری می‌کنند (منافی و خسروانی ۲۰۱۳). محققان بیان نمودند که ترکیبات فنولیک بخصوص پلی-فنولیک عصاره چویر توانایی بالایی در پاکسازی رادیکال‌های آزاد دارند و می‌توانند به عنوان آنتی-اکسیدانت طبیعی در خوراک و صنعت دارویی بکار برده شوند (حسینی و همکاران ۲۰۱۲). بنابراین کاهش تأثیرات آفلاتوکسین بر مصرف خوراک، وزن بدن و ضریب تبدیل در اثر مصرف عصاره چویر احتمالاً ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه دارویی و پاکسازی رادیکال‌های آزاد حاصل از مسمومیت آفلاتوکسین باشد.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های هماتولوژی و جمعیت تفریقی گلبول‌های سفید خون جوجه‌ها در جدول ۳ آمده است. چالش آفلاتوکسین سبب کاهش سطح هماتوکریت، گلبول قرمز، گلبول سفید، ائوزینوفیل و لنفوسیت و افزایش سطح هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد؛ درحالیکه تیمارهای حاوی افزودنی اثرات منفی این مایکوتوکسین را روی تعداد لنفوسیت‌ها، هتروفیل‌ها و نسبت هتروفیل به لنفوسیت کاهش دادند (P<۰/۰۵). همچنین تیمارهای حاوی افزودنی به استثنای تیمار پروبیوتیک سبب افزایش میزان هماتوکریت، گلبول قرمز و گلبول سفید خون در مقایسه با تیمار شاهد مثبت گردید (P<۰/۰۵). همچنین تیمارهای حاوی افزودنی به استثنای تیمارهای جاذب سم و سطح اول عصاره چویر مانع از کاهش سطح ائوزینوفیل خون در نتیجه چالش آفلاتوکسین شدند (P<۰/۰۵).

محققان کاهش سطح هماتوکریت، گلبول قرمز و لنفوسیت را در قوچ‌های مرینو در اثر وجود آفلاتوکسین در جیره (۲۵۰ میکروگرم آفلاتوکسین B_1 به‌صورت روزانه) گزارش نمودند (دونمز و همکاران ۲۰۱۲) که در راستای نتیجه آزمایش حاضر است. در مطالعه حاضر آفلاتوکسین سبب کاهش گلبول‌های سفید خون شد که از این طریق می‌تواند تأثیر منفی بر سیستم ایمنی داشته باشد. نتایج یک مطالعه قبلی نشان داد که ایجاد چالش آفلاتوکسین (از طریق جیره آلوده حاوی ۲ گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1) سبب کاهش سلول‌های خون از جمله گلبول‌های سفید خون، ترمبوسیت، هموگلوبین، نسبت هتروفیل به لنفوسیت و هماتوکریت در جوجه‌های گوشتی شده است (آل داراجی ۲۰۱۲). محققان علت کاهش سطوح هموگلوبین و هماتوکریت توسط آفلاتوکسین را کاهش مصرف خوراک خصوصاً کاهش مصرف پروتئین، سوء تغذیه و اختلالات متابولیسم پروتئین عنوان کردند (محمود و همکاران ۲۰۱۷).

Table 3- The effect of experimental treatments on hematological parameters of broiler chickens under aflatoxin challenge

Treatment[1]	Hb (g/d)	HCT (%)	RBC (10^6/µl)	WBC (10^3/µl)	Euo (%)	Mon (%)	H (%)	L (%)	H/L
NC	12.80	33.40^{a}	2.710^{a}	20.82^{a}	4.40^{bc}	1.8	21.40^{d}	72.40^{b}	0.29^{cd}
PC	10.40	29.80^{b}	2.190^{c}	15.89^{c}	1.40^{d}	1.4	45.60^{a}	51.60^{d}	0.88^{a}
TB	13.00	32.60^{a}	2.466^{b}	18.03^{b}	3.40^{bcd}	0.6	24.80^{c}	71.20^{b}	0.34^{c}
Pro	11.20	32.00^{ab}	2.058^{c}	16.30^{c}	5.60^{ab}	1.4	29.40^{b}	63.60^{c}	0.46^{b}
ECSe	13.60	34.40^{a}	2.762^{a}	20.40^{a}	7.60^{a}	1.4	17.60^{e}	73.40^{ab}	0.24^{de}
FAE200	12.60	33.20^{a}	2.404^{b}	18.03^{b}	2.20^{cd}	1.0	25.00^{c}	71.80^{b}	0.35^{c}
FAE400	12.60	33.60^{a}	2.690^{a}	21.78^{a}	4.60^{bc}	2.0	16.60^{e}	76.80^{a}	0.21^{e}
SEM	0.72	0.83	0.069	0.564	0.78	0.46	1.10	1.23	0.02
P-Value	0.07	0.04	<0.01	<0.01	<0.01	0.63	<0.01	<0.01	<0.01

[a-e] Means within the same row with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

[1]NC; basal diet without any feed additive or aflatoxin B_1; PC: basal diet + 1 mg aflatoxin B1/kg; TB: PC + 1 g toxin binder/kg; Pro: PC + 1 g/kg probiotic; ECSe: PC + a vitamin-selenium complex preparation; FAE200: PC + 200 mg/kg FAE, and FAE400: PC + 400 mg/kg FAE.

همچنین در مطالعه‌ی دیگری بیان شده کاهش سطح پارامترهای هماتولوژی ممکن است در اثر فاکتورهای مثل ممانعت از سنتز پروتئین، کاهش توانایی باند کردن آهن و نقص سلولی در اثر آفلاتوکسین باشد (دونمز و همکاران ۲۰۱۲). محققان گزارش کردند که هتروفیل‌ها سلول‌هایی هستند که از دیگر گرانولوسیت‌ها متمایز هستند و به طور خاصی به مسمومیت آفلاتوکسین حساس هستند (محمدی و همکاران ۲۰۱۵). همچنین گزارش شده است که آفلاتوکسین از طریق کاهش فعالیت مونوسیت‌های خون، کاهش فعالیت عامل‌های کمکی و بنابراین افت فعالیت پادتن‌های موجود در سرم برای مبارزه با عوامل خارجی و فعالیت فاگوسیتوز، سبب سرکوب سیستم ایمنی می‌شود (ابدولماجد ۲۰۱۱).

استفاده از جاذب سم در جیره سبب افزایش هماتوکریت، گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها و کاهش هتروفیل‌ها و نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد که این امر می‌تواند ناشی از اتصال جاذب سم با آفلاتوکسین و کاهش بار سم در دستگاه گوارش باشد. در همین رابطه گزارش شده است که اتصال جاذب سم پلی‌ذورب با آفلاتوکسین‌ها و کاهش جذب آن‌ها در روده سبب کاهش اثرات مضر آفلاتوکسین بر هماتولوژی جوجه‌ها شده است (آراک و همکاران ۲۰۱۳). در راستای نتایج حاضر، رشیدی و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که مکمل‌سازی پروبیوتیک و توکسین بایندر (اگروباند)[1] در جیره جوجه‌های آلوده به آفلاتوکسین، سبب بهبود سلول‌های خونی شدند. همچنین در تحقیق حاضر مکمل مخلوط ویتامین-سلنیوم منجر به افزایش گلبول‌های سفید و لنفوسیت و کاهش هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جوجه‌های گوشتی تحت شرایط چالش آفلاتوکسین گردید. در این راستا، گزارش شده است که ویتامین‌ها ترکیباتی هستند که مکمل کردن آن‌ها در جیره سبب بهبود پاسخ سیستم ایمنی در جوجه‌ها می‌شود (بولو و همکاران ۲۰۱٤) ویتامین‌ها بدلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی که دارند سبب محافظت سلول‌های بدن از جمله گلبول‌های سفید خون در برابر صدمات اکسیداتیو در زمان چالش افلاتوکسین می‌شوند و بنابراین مقدار این سلول‌ها را افزایش می‌دهند. همچنین در مطالعه حاضر نقش مثبت استفاده از عصاره چویر در جیره جوجه‌های گوشتی بویژه در سطح بالاتر بر میزان هماتوکریت، گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در خون مشاهده شد که از این نظر مشابه مکمل مخلوط ویتامین-سلنیوم و بهتر از مکمل‌های جاذب سم و پروبیوتیک بود. در این راستا، کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در اثر مصرف پودر خشک گیاه چویر گزارش شد (رستمی و همکاران ۲۰۱۵). همچنین در مطالعه‌ای دیگری تغذیه چویر سبب افزایش لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها شد (بهلولی و صادقی ۲۰۱٦). آنتی-اکسیدان‌های موجود در گیاهان دارویی از پراکسیداسیون چربی‌های غشاء سلول جلوگیری می‌کنند و نتیجه آن محافظت سلول‌های بدن در مقابل آسیب‌های سلولی و ممانعت از تضعیف سیستم ایمنی بدن می‌باشد. در همین رابطه، مؤثربودن گیاهان و فرآورده‌های آن‌ها بر ارتقای سیستم ایمنی به اثبات رسیده است (بولو و همکاران ۲۰۱٤).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ایمنی همورال و وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی در جدول ٤ آمده است. تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر ایمونوگلوبین G اولیه، ایمونوگلوبین کل اولیه، ایمونوگلوبین M ثانویه و ایمونوگلوبین کل ثانویه و وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی نداشتند ($P>0/05$). در مقابل، تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ایمونوگلوبین M اولیه و ایمونوگلوبین G ثانویه معنی‌دار شد ($P<0/05$)؛ بطوری که تیمار پروبیوتیک مانع از کاهش تولید تیتر ایمونوگلوبین M اولیه به هنگام چالش آفلاتوکسین شد ($P<0/05$). همچنین تیمارهای حاوی

[1] Agrabound

جاذب سم، پروبیوتیک و سطح بالای عصاره چویر موجب افزایش تیتر ایمونوگلوبین G ثانویه در مقایسه با تیمار شاهد مثبت شد (P<۰/۰۵).

Table 4- The effect of experimental treatments on antibody titer against SRBC and relative weight of lymphoid organs relative to live weight (%) in aflatoxin-challenged broilers

	Antibody titer against SRBC(log_2)						Lymphoid organs		
	First response			Second response					
Treatment[1]	IgG	IgM	Total	IgG	IgM	Total	Bursa	Thymus	spleen
NC	1.4	1.4[ab]	2.8	4.6[ab]	3.6	8.2	0.21	0.14	0.10
PC	1.2	1.2[b]	2.4	3.6[bc]	3.6	7.2	0.26	0.12	0.16
TB	1.6	2.0[ab]	3.6	4.8[a]	3.2	8.0	0.24	0.18	0.16
Pro	1.6	2.2[a]	3.8	5.2[a]	3.0	8.2	0.20	0.13	0.14
ECSe	1.4	1.6[ab]	3.1	4.8[ab]	3.2	8.0	0.18	0.08	0.20
FAE200	1.4	1.2[b]	2.6	2.8[c]	3.4	6.2	0.27	0.11	0.12
FAE400	1.4	2.0[ab]	3.4	4.8[a]	3.0	7.8	0.24	0.10	0.14
SEM	0.24	0.27	0.38	0.40	0.42	0.57	0.03	0.02	0.02
P-Value	0.91	0.04	0.10	<0.01	0.9	0.11	0.27	0.15	0.09

[a-c] Means within the same row with different superscripts differ significantly (P < 0.05).

[1]NC; basal diet without any feed additive or aflatoxin B_1; PC: basal diet + 1 mg aflatoxin B1/kg; TB: PC + 1 g toxin binder/kg; Pro: PC + 1 g/kg probiotic; ECSe: PC + a vitamin-selenium complex preparation; FAE200: PC + 200 mg/kg FAE, and FAE400: PC + 400 mg/kg FAE.

مصرف خوراک آلوده به آفلاتوکسین ممکن است سبب ایجاد خطر جدی بر سلامت حیوان، افزایش حساسیت به عفونت و یا کاهش مؤثر بودن واکسیناسیون شود (بولو و همکاران ۲۰۱٤). به نظر می‌رسد حتی مقادیر اندکی از آفلاتوکسین هم می‌تواند پاسخ ایمنی سلولی را تحت تاثیر قرار دهد در حالی که مقادیر بالاتری از آفلاتوکسین (غلظت‌های بیشتر از یک میلی‌گرم بر کیلوگرم در جیره) بر تولید ایمونوگلوبین و ایمنی هومورال تاثیر می‌گذارد (محمدی و همکاران ۲۰۱۵). همچنین در مطالعه‌ای دیگری محققان کاهش اندازه بورس را علت اصلی کاهش میزان تولید آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزا اعلام نمودند (فانی مکی و همکاران ۲۰۱۳) با توجه به اینکه در مطالعه حاضر تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز خون تحت تأثیر آفلاتوکسین قرار نگرفت می‌توان گفت علت آن تحت تأثیر قرار نگرفتن وزن بورس فابرسیوس در زمان چالش آفلاتوکسین است. در راستای مطالعه حاضر، افزودن دیواره مخمر به عنوان جاذب سم به خوراک جوجه‌های گوشتی سبب بهبود سیستم ایمنی شده است (آراک و همکاران ۲۰۱۳). بنظر می‌رسد که هدف استفاده از مواد جاذب غیرمغذی در جیره، ترکیب شدن با آفلاتوکسین‌ها و کاهش جذب آن‌ها در دستگاه گوارش باشد (آراک و همکاران ۲۰۱۳) از اینرو جاذب سم توانست اثرات منفی آفلاتوکسین را بر سیستم ایمنی جوجه‌ها کاهش دهد. استفاده از ویتامین C در جیره جوجه‌های گوشتی بدلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکال‌های آزاد در زمان پراکسیداسیون لیپید سبب بهبود ایمنی می‌شود. از سویی دیگر گزارش شده است که ویتامین E از طریق محافظت سلول‌های مثل لنفوسیت‌ها و ماکروفاژ-ها در برابر صدمات اکسیداتیو در پاسخ ایمنی نقش دارد (بولو و همکاران ۲۰۱٤) با توجه به این موضوع مکمل مخلوط ویتامین-سلنیوم توانستند تقریباً اثرات منفی آفلاتوکسین را بر ایمنی تخفیف دهند. باتوجه به افزایش سطح ایمنی توسط پروبیوتیک در زمان چالش آفلاتوکسین، محققان بیان کردن باکتری‌های پروبیوتیک از طریق تحریک سد ایمونولوژی روده سبب افزایش بیشتر پاسخ ایمنی هومورال می‌شوند (ایسولاری و همکاران ۲۰۰۱). با توجه به اینکه خواص آنتی‌اکسیدانی و سم‌زدایی گیاهان دارویی باعث کاهش تأثیر منفی آفلاتوکسین بر سیستم ایمنی می‌شود (محمدی و همکاران ۲۰۱۵) و همچنین برخی ترکیبات گیاهی که دارای

فلاونوئیدها هستند سبب افزایش فاکتور فعال‌کننده لنفوسیت (اینترلوکین) به وسیله‌ی ماکروفاژها و در نتیجه‌ی بلوغ سلول‌های B و تبدیل شدن آن‌ها به مست-سل‌ها و در نهایت افزایش ایمونوگلوبین‌ها می‌شود (فرجام پور و همکاران ۲۰۱۷)؛ می‌توان گفت بهبود پاسخ ایمنی توسط عصاره چویر در جوجه‌های تحت چالش آفلاتوکسین مربوط به عوامل مذکور می‌باشد.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مورفولوژی ژژنوم جوجه-های گوشتی در جدول ٤ آمده است. آفلاتوکسین سبب کاهش طول پرز، کاهش نسبت طول پرز به عمق کریپت و کاهش سطح جذب پرز ژژنوم شد (P<۰/۰۵). همه تیمارهای آزمایشی به استثنای تیمار جاذب سم سبب افزایش طول پرز ژژنوم در مقایسه با تیمار شاهد مثبت گردید (P<۰/۰۵). همچنین تیمارهای حاوی پروبیوتیک، مکمل مخلوط ویتامین-سلنیوم و سطح بالای عصاره چویر مشابه تیمار شاهد منفی موجب افزایش نسبت طول پرز به عمق کریپت در مقایسه با تیمار شاهد مثبت شد (P<۰/۰۵). همچنین تیمارهای حاوی مکمل مخلوط ویتامین-سلنیوم و عصاره چویر اثرات منفی آفلاتوکسین بر سطح جذب پرز ژژنوم را تخفیف دادند (P<۰/۰۵).

هر چه طول پرزها بیشتر باشد ظرفیت جذب روده کوچک بیشتر است. پرزهای بلندتر سبب ممانعت از عبور سریع‌تر مواد هضمی، کاهش رطوبت محتویات و بهبود ضریب تبدیل خوراک می‌شوند (دانش‌پور و همکاران ۲۰۱۰). به عنوان یک قاعده کلی بیان شده افزایش طول پرز به همراه عمق کمتر کریپت باعث سوخت و ساز کمتر در سلول‌های لایه مخاطی روده می‌شود بنابراین میزان ریزش این سلول‌ها به درون لومن روده کاهش می‌یابد که در نتیجه سبب صرفه‌جویی در سوخت و ساز سلولی می‌گردد. این امر موجب کاهش انرژی نگهداری اپی‌تلیوم روده و در نتیجه بهبود بازده خوراک می‌شود (دانش‌پور و همکاران ۲۰۱۰). موافق با نتیجه آزمایش حاضر، مالکی نژاد و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که چالش آفلاتوکسین سبب کاهش ارتفاع پرز و همچنین کاهش نسبت طول پرز به عمق کریپت شد و مکمل‌سازی فلفل به جیره جوجه‌های چالش یافته با آفلاتوکسین، سبب کاهش اثرات منفی آفلاتوکسین بر مورفولوژی روده شد. در تضاد با نتیجه حاضر، محققان عدم تأثیر آفلاتوکسین (۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و عصاره آبی آویشن بر عمق کریپت و طول پرز ژژنوم بلدرچین ژاپنی را گزارش نمودند (گوران و همکاران ۲۰۱۷). احتمالاً غلظت متفاوت آفلاتوکسین مورد استفاده در جیره جوجه‌های گوشتی و بلدرچین سبب ایجاد نتایج متفاوتی در مورفولوژی روده شده باشد. پروبیوتیک‌ها علاوه بر اینکه به حفظ تعادل میکروبی در دستگاه گوارش کمک می‌کنند همچنین اثرات ضد سمی آنها به اثبات رسیده است. مطالعات نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌ها از طریق اثرات ضد سمی باعث کاهش جذب آفلاتوکسین در روده در نهایت کاهش آسیب آن به دیواره روده می‌شوند (نادا و همکاران ۲۰۱۰) که نتیجه این عمل احتمالاً افزایش طول پرز به هنگام استفاده از پروبیوتیک است.

در آزمایش حاضر طول پرز توسط عصاره چویر افزایش یافت. با توجه به خاصیت ضدقارچی گزارش شده برای گیاه چویر(حسینی و همکاران ۲۰۱۲)، این امر ممکن است بدلیل اثر مثبت چویر در کاهش سمیت قارچ و کاهش بار آفلاتوکسین در روده باشد که احتمالاً از رشد قارچ در روده جلوگیری کرده و بدنبال آن رشد مناسب پرزهای روده صورت گرفته است که نتیجه این عمل افزایش سطح تماس مواد هضم شده با روده بوده و بدین ترتیب فرصت برای جذب مواد مغذی بیشتر می‌شود که می‌توان گفت چویر یک عامل مؤثر برای مقابله با چالش آفلاتوکسین می‌باشد. همچنین با توجه به اینکه خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چویر اثبات رسیده است (گواهی و همکاران ۲۰۱۳)، می‌توان اثر محافظت‌کنندگی بافت روده را به این خاصیت گیاه چویر نسبت داد. بطوریکه، مالکی نژاد و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که گیاه فلفل از طریق جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان سلولی، از آسیب اکسیداتیو ناشی از سم آفلاتوکسین

جلوگیری می‌کند در نتیجه از سلول‌های اپی‌تلیال روده در برابر عوامل اکسیداتیو ناشی از سموم حفاظت می‌کند.

Table 6- The effect of experimental treatments on the jejunal morphology of aflatoxin-challenged broiler at 42 days

Treatment[1]	Villus height (µm)	Villus width (µm)	Crypt depth (µm)	VH/VD[2]	Villus surface area (mm^2)
NC	1140[a]	173.8	268.6	4.31[a]	0.61[a]
PC	832.6[d]	153.6	334.4	2.57[d]	0.39[c]
TB	916.6[cd]	152.2	310.6	3.03[cd]	0.43[bc]
Pro	964.0[c]	160.6	280.0	3.59[abc]	0.48[bc]
ECSe	989.4[bc]	167.0	281.6	3.59[abc]	0.51[ab]
FAE200	988.9[bc]	163.6	296.2	3.37[bcd]	0.50[ab]
FAE400	1096[ab]	174.0	273.2	4.04[ab]	0.61[a]
SEM	38.19	11.15	20.92	0.28	0.03
P-Value	<0.01	0.71	0.31	<0.01	<0.01

[a-f] Means within the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).
[1]NC; basal diet without any feed additive or aflatoxin B_1; PC: basal diet + 1 mg aflatoxin B1/kg; TB: PC + 1 g toxin binder/kg; Pro: PC + 1 g/kg probiotic; ECSe: PC + a vitamin-selenium complex preparation; FAE200: PC + 200 mg/kg FAE, and FAE400: PC + 400 mg/kg FAE.
VH/CD = Villus height/crypt depth

نتیجه گیری کلی

در مجموع با توجه به نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، استفاده از عصاره گیاه چویر به خصوص در سطح ٤٠٠ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی می‌تواند مشابه پروبیوتیک و مکمل ویتامین–سلنیوم موجب بهبود عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های سلامتی در جوجه‌های گوشتی در زمان چالش آفلاتوکسین گردد؛ هر چند از نظر بهبود فراسنجه‌های رشد در مقایسه با مکمل جاذب سم و جیره شاهد منفی (گروه فاقد چالش آفلاتوکسین) وضعیت ضعیف‌تری داشتند.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع مورد استفاده

Abdulmajeed NA, 2011. Therapeutic ability of some plant extracts on aflatoxin B1 induced renal and cardiac damage. Arabian Journal of Chemistry 4(1): 1-10.

Al-Daraji HJ, 2012. Effect of liquorice extract supplemented diet on aflatoxin degradation and blood parameters in broiler chickens. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research 2(2): 87-91.

Arak H, Karimi Torshizi MA, Rahimi SH, 2013. Study on the effect of Savory (Satureja khuzestanica) essential oil and Polysorb toxin-binder against experimental aflatoxicosis in Japanese Quail. Journal of Veterinary Clinical Pathology 7(27): 249-259 (In Persian).

Bagherzadeh Kasmani F, Mehri M, 2015. Effects of a multi-strain probiotics against aflatoxicosis in growing Japanese quails. Livestock Science 177: 110-116.

Bohlouli S and Sadeghi E, 2016. Growth performance and haematological and immunological indices of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fingerlings supplemented with dietary Ferulago angulata (Schlecht) Boiss. Acta Veterinaria Brno 85(3): 231-238.

Bolu SA, Elelu N, Ahmed RN, Solaojo FE, Daramola KF, Omotosho VS, Atitebi AG and Afeni M, 2014. Effect of vitamins, amino Acids and phyto-active biomolecules on *Aspergillus flavus* in poultry production. pp. 23-45. In: Gowder SJT (ed). Pharmacology and therapeutics. London: IntechOpen.

Cheema MA, Qureshi MA and Havenstein GB, 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry science 82(10): 1519-1529.

Daneshpour MA, Shariatmadari F and Karimi Torshizi MA, 2010. Effects of Medicinal Plant, Prebiotic, Probiotic and Antibiotic on Intestinal Morphology and Nutrient Digestibility of Broilers Chickens. Veterinary Researches Biological Products 23(1): 65-73 (In Persian).

Dhanapal SK, Rao S, Govindaraju PKP, Hukkeri R and Mathesh K, 2014. Ameliorative efficacy of citrus fruit oil in aflatoxicosis in broilers: a growth and biochemical study. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 38(2): 207-211.

Dönmez N, Dönmez HH, Keskin E and KısadereI, 2012. Effects of aflatoxin on some haematological parameters and protective effectiveness of esterified glucomannan in Merino rams. The Scientific World Journal (4): 1-4.

El-Saad AA and Mahmoud HM, 2009. Phytic acid exposure alters aflatoxinB1-induced reproductive and oxidative toxicity in albino rats (Rattus norvegicus). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 6(3): 331-341.

Ellis AE, 1990. Lysozyme assays. Techniques in fish immunology 1: 101-103.

Fani MakkiO, Afzali N, Omidi A, Allah Resani A and Frouzanmehr M, 2013. The Effect of Different Levels of Aflatoxin B1 on Intestinal Length, Blood Parameters and Immune System in Broiler Chickens. Journal of Veterinary Microbiology 9(1): 73-79 (In Persian).

Farjampour M, Parsai S, Naghiha R and Khajavi M, 2017. The effect of adding Chevill powder (Ferulago angulate) on performance, blood parameters, intestine microflora and humeral immunity of female broiler chickens. Iranian Veterinary Journal 12(4):90-100 (In persian).

Gorran A, Shivazad M and Ghassempour A, 2015. The effect of detoxification of aflatoxin-contaminated corn grain using thyme aqueous extract on performance and total blood protein of Japanese quail. Journal of Veterinary Research 70(1):79-87 (In persian).

Gorran A, Shivazad M and Rezaeian M, 2017. Efficacy of Aqueous Extract of Thymus Daenensis to Ameliorate the Adverse Effects of Aflatoxin in Japanese Quail. Research On Animal Production 8(15): 25-32 (In Persian).

Govahi R, Ghalamkari G, Toghyani M, Eghbal Saied S, Mohammadrezaei M, Shahryari M and Dehghani Abari A, 2013. Effect of Ferulago angulata sub. carduchorum on total serum antioxidant activity and some of the humoral immune responses in broiler chicks. Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs) 4(3): 119-126.

Gratz S, Mykkänen H and El-Nezami H, 2005. Aflatoxin B1 binding by a mixture of Lactobacillus and Propionibacterium: in vitro versus ex vivo. Journal of food protection 68(11): 2470-2474.

Hatfield DL, Berry MJ and Gladyshev VN, 2012. Selenium: its molecular biology and role in human health. Kluwer Academic Publishers.

Hay FC and Westwood OMR, 2002. Practical immunology. Blackwell Scientific Oxford.

Hosseini N, Akbari M, Ghafarzadegan R, Changizi Ashtiyani S and Shahmohammadi R, 2012. Total phenol, antioxidant and antibacterial activity of the essential oil and extracts of Ferulago angulata ssp. angulata. Journal of Medicinal Plants 3(43): 80-89.

Hussein HZ, 2015. Activity of pomegranate peels and clove powders in detoxification of aflatoxin B1 and ochratoxin A from contaminated poultry diet. Journal of Plant Pathology and Microbiology 6(1): 1-4.

Iji PA, Saki AA and Tivey DR, 2001. Intestinal development and body growth of broiler chicks on diets supplemented with non-starch polysaccharides. Animal Feed Science and Technology 89(3-4): 175-188.

Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H and Salminen S, 2001. Probiotics: effects on immunity. The American journal of clinical nutrition 73(2): 444-450.

Mahmood S, Younus M, Aslam A and Anjum AA, 2017. Toxicological effects of aflatoxin B1 on growth performance, humoral immune response and blood profile of Japanese quail. The Journal of Animal And Plant Sciences 27(3): 833-840.

Manafi M, 2018. Impact of Application of Natural Toxin Binder on Performance, Humoral Immune Response, Cecal Microbial Population and Chages in Small Intestine Mophology of Broilers Fed with Diet Contaminated with Aflatoxin B1. Journal of Veterinary Research 73(3): 273-282 (In Persian).

Manafi M and Khosravinia H, 2013. Effects of aflatoxin on the performance of broiler breeders and its alleviation through herbal mycotoxin binder. Journal of Agricultural Science and Technology 15: 55-63.

Mohammadi F, Bagherzadeh Kasamani F, Shojaeian K, Mehri M and Karimi Torshizi MA, 2015. Effect of Hibiscus Sabdariffa on Performance of Broilers Fed Aflatoxin Contaminated Diet. Journal of Animal Production 17(2); 301-309 (In persian).

Malekinezhad P, E.Ellestad L, Afzali N, Farhangfar SH, Omidi A and Mohammadi A, 2021. Evaluation of berberine efficacy in reducing the effects of aflatoxin B1 and ochratoxin A added to male broiler rations. Poultry Science 100:797–809.

Muhammad D, Chand N, Khan S, Sultan A and Mushtaq M, 2012. Hepatoprotective role of milk thistle (Silybum marianum) in meat type chicken fed aflatoxin B_1 contaminated feed. Pakistan Veterinary Journal 32(3): 443-446.

Nada S, Amra H, Deabes M and Omara E, 2010. "Saccharomyces cerevisiae and probiotic bacteria potentially inhibit aflatoxins production in vitro and in vivo studies. The Internet Journal of Toxicology 8(1): 1-17.

Payne RL and Southern LL, 2005. Changes in glutathione peroxidase and tissue selenium concentrations of broilers after consuming a diet adequate in selenium. Poultry Science 84(8): 1268-1276.

Rashidi N, Khatibjoo A, Taherpour k, Akbari-Gharaei M and Shirzadi H, 2020. Effects of licorice extract, probiotic, toxin binder and poultry litter biochar on performance, immune function, blood indices and liver histopathology of broilers exposed to aflatoxin-B_1. Poultry Science 99:5896–5906.

Rostami F, Ghasemi HA and Taherpour K, 2015. Effect of Scrophularia striata and Ferulago angulata, as alternatives to virginiamycin, on growth performance, intestinal microbial population, immune response, and blood constituents of broiler chickens. Poultry Science 94(9): 2202-2209.

SAS, 2009. SAS Statistics User’s Guide, Statistical Analysis System, 9.2 version. SAS Institute Inc, Cary, NC.

Trusheva B, Trunkova D and Bankova V, 2007. Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. Chemistry Central Journal 1(13): 1-4.

Effects of *Ferulago angulate* extract on growth response, immune response and small intestine morphology of broiler chickens exposed to aflatoxin challenge

Z Nooreh[1], K Taherpour[2*], M Akbari Gharaei[2], HA Ghasemi[3] and H Shirzadi[2]

Received: March 10, 2021 Accepted: September 1, 2021
[1]Former PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam university, Ilam, Iran
[2]Associate Professor, Assistant Professor, and Assistant Professor, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam university, Ilam, Iran
[3]Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Environment, Arak University, 38156-8-8349 Arak, Iran
[*]Corresponding Author: Email: k.taherpour@ilam.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research
Journal of Animal Science/vol.32 No.2/ 2022/pp 47-62
https://animalscience.tabrizu.ac.ir
OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/AS.2021.44969.1609

Introduction: In most parts of the world, poultry are exposed to mycotoxins-containing foods. Aflatoxins are the most common mycotoxins formed primarily by the fungus *Aspergillus*. Fungi that produce aflatoxin can grow and multiply on different materials and under different conditions of humidity, temperature and pH (Mohammadi et al. 2015). A variety of additives, including organic acids, plant essential oils and extracts, probiotics, enzymes, vitamins, and minerals, have been tested to alleviate the negative effects of aflatoxins. Medicinal plant extracts contain active substances with antifungal and antioxidant properties that are able to reduce the toxicity of aflatoxins in food (Abdulmajeed 2011). *Ferulago angulate* is one of the *Apiaceae* (*Umbelliferae*) families native to western Iran (Hosseini et al., 2012) that has been shown to have antioxidant properties and to improve the humoral immune system (Govahi et al. 2013). The aim of this experiment was to investigate the comparative effects of hydroalcoholic extract of *Ferulago angulate* (FAE), antifungal sorbate, probiotic, and vitamin-selenium complex (containing vitamin C, vitamin E, and selenium) on growth performance, immune response and intestinal morphology in broilers chickens challenged with aflatoxins.

Material and methods: A total of 350 one-day-old broilers (Ross 308) were distributed to 7 treatments with 5 replications/treatment in a completely randomized design. The experimental groups were: 1) negative control (NC; basal diet without any feed additive or aflatoxin B_1); 2) positive control (PC; basal diet + 0.5 mg aflatoxin B1/kg diet); 3) PC + 1 g toxin binder/kg (TB); 4) PC + 1 g/kg probiotic PrimaLac (Pro); 5) PC + a vitamin-selenium complex preparation (ECSe; 200 IU vitamin E/kg feed + 250 mg vitamin C/kg feed + 0.2 mg selenium/kg feed); 6) PC + 200 mg/kg FAE (FAE200), and 7) PC + 400 mg/kg FAE (FAE400). Body weight gain and feed intake were recorded during starter (d 1 to 10), grower (d 11 to 24), finisher periods (d 25 to 42) and entire experimental period (d 1 to 42), then the FCR was calculated.

At the end of the experiment (42 d), 2 birds of each replicate were randomly selected and then slaughtered. Spleen, bursa of Fabricius and thymus weights were measured and relative weight to total BW of broiler chickens were determined. At 42 d of age, blood samples were collected from two birds in each replicate into vials containing EDTA to avoid blood clot formation. The values of hemoglobin (Hb) and hematocrit (Hct), red blood cell (RBC), white blood cell (WBC), as well as

blood leucocyte profiles were measured. In order to assay the primary and secondary antibody responses against sheep red blood cell (SRBC), at 28 and 35 d of age, two birds per replicate were immunized intramuscularly with 1 mL of 2.5 % SRBC in PBS. Blood samples (1.5 mL/bird) were obtained from brachial vein at 7 d after each injection (d 35 and 42). For histopathological examination, the jejunal tissues of slaughtered broiler chickens (1 per replicate) were fixed in 10% of neutral buffered formalin, routinely embedded in paraffin, cut into 6-µm thick sections, and processed for hematoxylin and eosin staining.

Results and discussion: The results showed that aflatoxin challenge adversely affected growth parameters; while antifungal and FAE200 treatments during the growing period and all additive-containing treatments during the finisher and whole experimental periods reduced the negative effect of aflatoxin on growth performance ($P<0.05$). The heterophil count and the heterophil to lymphocytes ratio were lower in all dietary treatments than the PC group ($P<0.05$). All treatments, except probiotic, increased the values of red blood cells, white blood cells, and hematocrit as compared with PC group ($P<0.05$). The antifungal, probiotic and FAE400 treatments also increased the secondary IgG titer against sheep red blood cells in the aflatoxin-challenged birds ($P<0.05$). Furthermore, vitamin-selenium and FAE-containing treatments alliviated the negative effect of aflatoxin on villus surface area ($P<0.05$). According to a previous study (Hussein 2015), the weight loss during aflatoxin challenge is attributed to the toxic effects of mycotoxins on different cell organs, resulting in chickens refusing to consume toxins in their diets. It has been documented that additives like selenium can remove fungi such as *Aspergillus* in poultry feed (Hatfield et al. 2012), which can explain the reduction of negative effects of aflatoxin on performance by vitamin-selenium mixture treatment in the present study. It is also reported that lipid peroxidation and the production of free radicals can cause damage to cell membranes during aflatoxicosis (Manafi and Khosravinia 2013). Therefore, due to their antioxidant properties, vitamin C, vitamin E, and medicinal plants can prevent the production of free radicals in biological systems and thereby improve performance and health status under aflatoxin-induced conditions. The phenolic compounds, especially polyphenolic compounds in the FAE have been reported to scavenge free radicals and thus can be used as a natural antioxidant in food and pharmaceutical industry (Hosseini et al. 2012). As a result, consuming FAE might reduce the impact of aflatoxin on growth performance, immune response and gut morphology, which is likely due to the antioxidant properties of this medicinal plant and its ability to scavenge free radicals caused by aflatoxin consumption.

Conclusion: In general, according to the findings of this study, *Ferulago angulate* extract, particularly at a dose of 400 mg/kg of diet, can improve growth performance, immune response, and health status during aflatoxin exposure, which appeared to be comparable to those recorded in the prebiotic and vitamin-selenium treatments. However, the growth benefits by *Ferulago angulate* extract were not as significant as those recorded in the chickens fed with the NC and antifungal diets.

Keywords: Aflatoxin, *Ferulago angulata* extract, Humoral immunity, Gut morphology, Growth performance, Broiler chickens