Archive of SID

پژوهش‌های علوم دامی
Animal Science Researches

نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۸ شماره ۱/ سال۱۳۹۷/ صفحات ۳۳ تا ۴۹

بررسی اثر اسانس زنیان و بتا آگونیست زیلپاترول هیدروکلراید بر روی عملکرد و برخی از شاخص‌های آنزیمی مرتبط با تنش سرمایی در جوجه‌های لاین آرین

فرهاد صمدیان*[۱]، آرمین توحیدی[۲]، محمد امیر کریمی ترشیزی[۳] و وحید واحدی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۵/٤/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۵

[۱] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
[۲] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم زراعی و دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
[۳] دانشیار گروه پرورش و مدیریت طیور ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
[٤] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی
*مسئول مکاتبه: Email: fsamadian@yu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: این مطالعه به منظور بررسی اثرات اسانس گیاه دارویی زنیان و زیلپاترول هیدروکلراید روی عملکرد رشد و برخی فراسنجه‌های خونی مرتبط با تنش سرمایی در جوجه‌های نر متعلق به خط پدری لاین آرین صورت گرفت. **روش کار:** در این تحقیق ۱۹۲ قطعه جوجه گوشتی در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل ٤×۲ با هشت تیمار و شش تکرار که هر تکرار شامل ٤ جوجه بود، استفاده شد. تیمارهای خوراکی شامل اسانس زنیان در دو سطح ۱۵۰ و ٤۵۰ppm و زیلپاترول و برنامه دمایی شامل دمای طبیعی و تنش سرمایی بود. خون‌گیری در روزهای ۱۳، ۲۹ و ۳٦ صورت گرفت. **نتایج:** افزودن خوراکی ۱۵۰ppm اسانس زنیان، در دوره رشد افزایش وزن روزانه را نسبت به گروه شاهد کاهش داد (P≤۰/۰۵)، ولی اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها نداشت (P>۰/۰۵). افزودن اسانس زنیان در هر دو سطح مکمل سازی موجب کاهش سطوح فعالیت آنزیمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در خون‌گیری روز ۳٦ و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در خون‌گیری روز ۲۹ شد. تنش سرمایی موجب بالا بردن سطوح هماتوکریت، نسبت H:L و آسپارتات آمینوتراسفراز در خون‌گیری دوم شد (P<۰/۰۵). در بین گروه‌های تیماری پرورش یافته در تنش سرمایی، دوز بالای اسانس زنیان توانست به طور معنی‌داری موجب تخفیف افزایش مشاهده شده در مقادیر مالون‌دی‌آلدئید پلاسمایی(MDA) و سطوح فعالیت ALT تحریک شده توسط سرما در مقایسه با گروه شاهد سرمایی شود (P<۰/۰۵). در بین گروه‌های تیماری پرورش یافته در محیط طبیعی، زیلپاترول، موجب افزایش سطوح کراتین فسفوکیناز، نسبت T3 به T4 و مقادیر MDA پلاسمایی در مقایسه با گروه «شاهد-برنامه دمایی طبیعی» گردید. **نتیجه گیری نهایی:** اسانس زنیان، به علت اثرات نشان داده شده آنتی‌اکسیدانی و ضد تنشی خود ممکن است در تخفیف اثرات تنش سرمایی مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: جوجه لاین آرین، اسانس زنیان، زیلپاترول هیدروکلراید، تنش سرمایی، شاخص‌های هماتولوژیکی و بیوشیمی بالینی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تغییرات در فعالیت های آنزیمی در پلاسمای خون، آزمون بسیار مفیدی برای تشخیص اولیه برخی بیماری ها در اندام های مختلف، اختلالات متابولیکی و همچنین بیماری های کبد است. آسیت یک بیماری متابولیکی است که دیگر به ارتفاعات بلند محدود نمی‌شود به طوری که در دهه‌های اخیر علایم مشابهی در سطح دریا نیز در جوجه‌های گوشتی مشاهده شده است. تیمار سرمایی ضمن این که موجب افزایش تقاضا برای مصرف اکسیژن می‌شود، منجر به کاهش تهویه و کاهش فراهمی اکسیژن در فضای مرغداری می‌گردد. بنابراین سرما به عنوان یک عامل بسیار مهم در ایجاد آسیت به ویژه در ارتفاعات تلقی می شود، به طوری که فشار اکسیژن خون را کاسته و ویسکوزیته‌ی خون را افزایش می‌دهد (بالوگ ۲۰۰۳).

مطالعات نشان می‌دهند که تنش‌های اکسیداتیو از طریق تولید رادیکال‌های فعال اکسیژنی (ROS) ممکن است باعث توسعه‌ی سندرم آسیت شوند. افزایش پراکسیدهای لیپیدی پلاسما و کاهش آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند گلوتاتیون، آلفاتوکوفرول و اسید اسکوربیک در کبد و شش جوجه‌های گوشتی مبتلا به آسیت، دلالت بر استفاده از این آنتی‌اکسیدان ها علیه رادیکال های اکسیژنی تولید شده در بافت‌ها می‌نماید. احتمال می‌رود که آنتی‌اکسیدان‌ها در خون و در سطح غشای سلول‌های تنفسی، آسیب سلولی را کمتر نموده و از القای هایپوکسی جلوگیری کنند و در نتیجه ممکن است بتوانند احتمال بروز آسیت را کاهش دهند (بوتج و همکاران ۱۹۹۵). اثرات مثبتی از آنتی‌اکسیدان‌های غیر گیاهی بر روی بهبود وضعیت سندروم آسیت در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است. ایمپلنت ۱۵ میلی‌گرم ویتامین E در جوجه‌های گوشتی از صفر تا سه هفتگی (بوتج و همکاران ۱۹۹۵) و افزودن ppm ۵۰۰ ویتامین C به جیره جوجه‌ها، موجب کاهش معنی‌داری در وقوع آسیت و تلفات ناشی از آن شده است (حسن زاده و همکاران ۱۹۹۷). بنابراین، محتمل است که استفاده از آنتی‌اکسیدان های گیاهی نیز بتوانند از طریق افزایش ساز و کارهای دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش تنش اکسیداتیو، در کاهش سندرم آسیت مفید باشند. در این مطالعه از بین آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی، اسانس گیاه زنیان استفاده شده است که دارای خواص منحصر به فردی است. زنیان[1] گیاه یک ساله‌ای است که در شرق هند، ایران و مصر با گل‌های سفید و دانه‌های کوچک مایل به قهوه‌ای رشد می‌کند. دانه‌های این گیاه دارای بویی شبیه تیمول است و محتویات اسانس‌های گیاهی آن، از تیمول[2] (۵۴/۵ درصد)، گاماترپینن[3] (۲۲/۹۶ درصد)، آلفاپینن[4] (۰/۱ درصد)، پی‌سایمن[5] (۱۹/۳۸ درصد) و بتاپینن[6] و سایر مواد از قبیل کارواکرول (۰/۴۶ درصد) تشکیل شده است (محقق زاده و همکاران ۲۰۰۷). دانه‌های این گیاه دارای خصوصیات آنتی‌اسپاسمی، ضد آسم و ضد تنگی نفس است. همچنین اثرات گشادکنندگی برونشی، اثرات آنتی‌کولینرژیکی، اثر ممانعت‌کننده بر گیرنده‌های هیستامینی، اثر تحریک کنندگی بر گیرنده‌های بتاآدرینرژیک و خواص قوی آنتی‌اکسیدانی توسط این گیاه نشان داده شده است (زاهین و همکاران ۲۰۱۰ و بوسکابادی و همکاران ۲۰۰۳).

از سویی گزارش شده است که بتا آگونیست‌هایی چون کلنبوتارول و متاپروترنول که هر دو آگونیست گیرنده‌های بتا ۲ هستند، موجب کاهش مرگ و میر ناشی از آسیت شوند (اکامپو و همکاران ۱۹۹۸). این مواد بر گیرنده‌های ویژه در داخل برونش‌ها اثر کرده و با اتساع شش‌ها، تهویه ریوی را افزایش می‌دهد. اتساع موقت

1 *Carum copticum*
2 Thymol
3 γ-terpinene
4 α-pinene
5 P.cynene
6 B-pinene

www.SID.ir

Archive of SID

عروقی و کاهش فشار خون (هایپوتانسیون) میانجی‌گری شده با گیرنده بتا ۲، ممکن است برون‌ده قلبی برای پرنده جوان را افزایش داده و هایپوکسی را جبران نماید. در نتیجه آگونیست‌های گیرنده‌های بتا ۲ ممکن است تا حدی اثر حفاظت‌کنندگی در مقابل آسیت داشته باشد (اکامپو و همکاران ۱۹۹۸). همچنین گزارش شده است که در پرندگان تیمار شده با کلن‌بوتارول (یک آگونیست گیرنده بتا ۲) توده‌های بطنی قلب افزایش می‌یابد که در نتیجه، پرنده را قادر می‌سازد تا تغییرات قلبی-عروقی مرتبط با آسیت را بهتر تحمل نماید (اکامپو و همکاران ۱۹۹۸).

تا کنون مطالعه‌ای در مورد بررسی اثر اسانس‌های گیاهی و همچنین بتاآگونیست زیلپاترول هیدروکلراید بر فعالیت‌های آنزیمی سرم در جوجه‌های پرورشی گزارش نشده است. لازم به ذکر است که سرما یکی از عوامل مهم مستعد کننده پرنده‌ها برای بیماری آسیت محسوب می شود و شاخص‌های خونی مرتبط با سندرم آسیت (از قبیل افزایش هماتوکریت و فعالیت‌های آنزیمی پلاسما) در اثر تنش سرمایی بالا می‌روند (اکامپو و همکاران ۱۹۹۸، حسن زاده ۲۰۰۹ و خضرایی نیا و همکاران ۱۳۸۸). بنابراین هدف کلی از این پژوهش، بررسی امکان تأثیر مثبت مکمل سازی خوراکی اسانس زنیان و زیلپاترول هیدروکلراید در تخفیف شاخص‌های بالینی مرتبط با بیماری آسیت و کاهش تلفات ناشی از این بیماری در جوجه‌های لاین آرین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرنده‌ها، جیره غذایی و طرح آزمایشی: در این آزمایش از ۱۹۲ قطعه جوجه نر خط پدری لاین آرین استفاده شد (لاین پدری به علت درشت‌جثه بودن از حساسیت بیشتری نسبت به آسیت برخوردار است). : در این تحقیق ۱۹۲ قطعه جوجه گوشتی در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل ۴×۲ با هشت تیمار و شش تکرار که هر تکرار شامل ۴ جوجه بود، استفاده شد. افزودنی‌های خوراکی عبارت بودند از افزودن ppm ۱۵۰ اسانس زنیان (گروه زنیان-۱۵۰)، ppm ۴۵۰ اسانس زنیان (گروه زنیان-۴۵۰) و افزودن ۱/۶ میلی‌گرم ماده مؤثره از زیلپاترول‌هیدروکلراید (ساخت شرکت اینتروت) در کیلوگرم جیره یا ۰/۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده پرنده (گروه زیلپاترول) که همگی به جیره پایه مکمل‌سازی می‌شدند. بنابراین تیمارها عبارت بودند از: ۱- شاهد، محیط طبیعی ۲- شاهد، محیط سرمایی ۳- زنیان-۱۵۰، محیط طبیعی ۴- زنیان-۱۵۰، محیط سرمایی ۵- زنیان-۴۵۰، محیط طبیعی ۶- زنیان-۴۵۰، محیط سرمایی ۷- زیلپاترول، محیط طبیعی ۸- زیلپاترول، محیط سرمایی.

در سن چهار روزگی، جوجه‌ها وزن‌کشی شده و بعد از انتقال به قفس‌های انفرادی، اسانس زنیان در دو سطح آزمایشی به جیره خوراکی گروه‌های مربوطه اضافه شد. استخراج اسانس زنیان به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. افزودن اسانس گیاهی به جیره تا انتهای آزمایش (روز ۳۵) ادامه یافت. افزودن خوراکی زیلپاترول از سن ۱۳ روزگی پرنده‌ها به جیره گروه‌های مربوطه آغاز شد و تا پایان روز ۳۲ (سه روز قبل از کشتار) ادامه یافت. برنامه دمایی در محیط طبیعی و ترکیب جیره‌های پایه مورد استفاده در آزمایش مطابق توصیه کارشناسان لاین آرین برای جوجه‌های گوشتی آرین بوده است. تنش سرمایی در تیمارهای مربوطه از پایان روز ۱۳ و در ساعات شب به طور تدریجی اعمال شد تا به ۱۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ ساعت در ساعات شب رسید (حسن زاده و همکاران ۲۰۰۲). این تنش تا پایان دوره رشد (پایان روز ۲۹) ادامه یافت، سپس از روز سی‌ام تا روز کشتار، تنش سرمایی متوقف شده و دمای هر دو محیط یکسان و طبیعی گردید. از آن‌جایی که پیش‌بینی می‌شد در طول دوره تنش سرمایی میزان تلفات بالاتر رود، پرنده‌های ضعیف قبل از زمان شروع اعمال تنش سرمایی، با پرنده‌هایی جایگزین شدند که همان تیمارهای غذایی را

www.SID.ir

Archive of SID

در بستر دریافت کرده بودند. وزن ۱۲ روزگی جوجه‌ها به عنوان عامل کوواریت لحاظ گردید. اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره در جدول ۱ ارائه شده است.

اندازه‌گیری عملکرد رشد: وزن‌کشی پرنده‌های هر قفس به صورت انفرادی ۳-٤ ساعت پس از قطع دان در روزهای ۳، ۱۲، ۲۹ و ۳۵ دوره پرورش صورت گرفت. برای پرندگان تلف شده نیز مقدار افزایش وزن به ازای روزهای زنده بودن پرنده در آن دوره محاسبه شد. مقدار خوراک مصرفی روزانه هر تکرار برای هر دوره پرورشی محاسبه شد و سپس حداقل مربعات میانگین در مقایسات آماری مورد استفاده قرار گرفت. ضریب تبدیل غذایی نیز از تقسیم متوسط خوراک مصرفی روزانه بر افزایش وزن محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی: نمونه‌های خون از پرنده‌ها (چهار نمونه خون از هر تیمار) در روزهای ۱۳ (قبل از اعمال تنش سرمایی)، ۲۹ (خاتمه دوره تنش سرمایی) و ۳٦ (روز کشتار) از ورید بال گرفته شد. برای اندازه‌گیری غلظت آنزیم کراتین فسفوکیناز (CPK) از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون استفاده شد. اساس اندازه‌گیری بر اساس روش DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) و IFCC (فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی) بود. برای اندازه‌گیری آلکالین فسفاتاز (ALP) از کیت‌های زیست شیمی و بر اساس روش DGKC/DEA/Kinetic, Endpoint استفاده شد. برای سنجش آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) از کیت‌های زیست شیمی و بر اساس روش Optimized Reitman-Frankel استفاده شد. فعالیت آنزیم‌ها بر حسب واحد در لیتر محاسبه و گزارش شدند.

تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسیت: جهت تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسیت، از نمونه‌های خون‌گیری شده در روز بیست و نهم، گسترش‌های خونی روی لام تهیه شد و بعد از خشک شدن در مجاورت هوا در جایگاه رنگ‌آمیزی به صورت افقی قرار داده شدند و سپس سطح لام با رنگ رایت به طور کامل برای ۱ الی ۳ دقیقه پوشانده شد. بدون تخلیه رنگ، هم حجم آن آب مقطر به رنگ افزوده شد و با دمیدن توسط پیپت، رنگ و آب مخلوط شدند تا رنگ‌های قلیایی و اسیدی از تجزیه رنگ حاصل شوند. بعد از ۳ تا ٥ دقیقه سطح لام با آب مقطر شستشو داده شد، پشت لام تمیز شده و لام به صورت مایل قرار گرفت تا خشک شود. بررسی لام‌ها با میکروسکوپ نوری و در بزرگنمایی ×۱۰۰ و مطابق دستورالعمل استاندارد طیور (کمبل ۱۹۸۸) صورت گرفت. در هر میدان میکروسکوپی فقط هتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها مورد شمارش قرار گرفتند، تا جایی که جمع هتروفیل و لنفوسیت شمرده شده به صد عدد بر سد. تمام شمارش‌های سلولی توسط یک فرد صورت گرفت.

تعیین درصد هماتوکریت: هماتوکریت در نمونه‌های مربوط به خونگیری روز ۲۹ و ۳٦ تعیین شد. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از هر قفس در همان روز به آزمایشگاه منتقل شد. مقداری از هر نمونه خون، جهت تعیین هماتوکریت در لوله‌های مویین مخصوص قرار داده شد و به مدت ٥ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت و سپس با استفاده از خط‌کش مخصوص هماتوکریت، درصد هماتوکریت هر نمونه مشخص گردید.

اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی: سنجش هورمون‌های تیروئیدی از نمونه‌های پلاسمایی روز بیست و نهم و با استفاده از کیت‌های سنجش شرکت پیشتاز طب و به روش الایزا صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید از نمونه‌های پلاسمای حاصل از خونگیری روز کشتار استفاده شد. بدین طریق که ابتدا یک میلی‌لیتر از نمونه را با دو میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۱۰ درصد مخلوط نموده تا پروتئین پلاسما رسوب کند. بعد از ته‌نشینی و رسوب پروتئین مجدداً مایع رویی سانتریفوژ گردید تا رسوبات دیگر آن ته نشین شود. مایع رویی با تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۰/٦۷ درصد با حجمی برابر و به مدت ۱۰

www.SID.ir

Archive of SID

دقیقه در آب جوش قرار گرفت. پس از خنک شدن، غلظت مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد (کنان کوبان و اینانس ۲۰۰٤).

تعیین نسبت وزن بطن راست نسبت به وزن مجموع دو بطن: به منظور تعیین نسبت وزن بطن راست نسبت به وزن مجموع دو بطن (RV/TV)، جوجه‌ها در ۳٦ روزگی کشتار شدند و پس از کالبد گشایی، قلب هر یک از لاشه‌ها جدا شده و عروق بزرگ، سینوس‌ها، دهلیزها و چربی‌های اطراف قلب به دقت حذف گردید به طوری که فقط بطن‌ها باقی ماندند. سپس بطن راست از دیواره بین دو بطن بریده شد و خون داخل بطن‌ها تخلیه گردید و وزن بطن راست و مجموع دو بطن با ترازوی حساس اندازه گیری شد.

آنالیز آماری: داده ها بر اساس مدل آماری $y_{ijk}=\mu+A_i+B_j+(AB)_{ij}+b(FB_{ijk})+e_{ijk}$ و به روش تجزیه واریانس، توسط نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و با استفاده از رویه GLM تجزیه و تحلیل شدند. در این مدل y_{ijk} عبارت بود از : Kاُمین مشاهده در iاُمین سطح عامل A (جیره یا افزودنی خوراکی) و Jاُمین سطح عامل B (دمای محیط پرور شی)؛ μ = میانگین کل؛ Ai = اثر iاُمین سطح عامل A؛ Bj = اثر Jاُمین سطح عامل B؛ $(AB)_{ij}$= اثر متقابل iاُمین سطح عامل A و Jاُمین سطح عامل B، $b(FB_{ijk})$ = اثر نتایج خونگیری اولیه به عنوان متغییر کوواریت و e_{ijk} = اثرات باقیمانده می‌باشد.

نتایج

تلفات از ابتدای دوره رشد تا روز کشتار در گروه‌های مختلف تیماری در محیط تنش سرمایی به صورت زیر بود: شاهد: ۲۹ درصد؛ زنیان-۱۵۰: ۲۰/۸ درصد؛ زیلپاترول: ۱٦/٦٦ درصد؛ زنیان-٤۵۰: ٤/۱ درصد. در محیط طبیعی درصد تلفات ناچیز بوده و در این محیط فقط یک پرنده از گروه زیلپاترول و یک پرنده از گروه زنیان-٤۵۰ تلف شد (٤/۱ درصد). کمترین و بیشترین تلفات به ترتیب مربوط به گروه زنیان-٤۵۰ و گروه شاهد بود. از این رو شاید بتوان ادعا نمود که اسانس گیاهی به کار رفته موجب کاهش میزان مرگ و میر ناشی از تنش سرمایی شده است.

اثر متقابل جیره × محیط بر روی افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی پرنده‌ها در دوره رشد و پایانی معنی‌دار نبود. بنابراین تنها به ارائه اثرات اصلی اکتفا شده است. اثر اصلی افزودنی خوراکی و محیط پرورشی بر عملکرد به ترتیب در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است. میانگین افزایش وزن بدن در دوره رشد در تیمار زنیان-۱۵۰ در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$). جدول ٤ نشان می‌دهد که اثر سطوح اسانس خوراکی بر مصرف خوراک روزانه پرنده‌ها معنی‌دار نبود و زیلپاترول در دوره رشد در پرندگان محیط طبیعی و نه در پرندگان تنش سرمایی موجب کاهش مصرف خوراک شده است. تأثیر تیمارهای خوراکی بر فعالیت آنزیم‌ها و برخی از فراسنجه‌های خونی در جدول ۵ ارائه شده است. در خون‌گیری‌های دوم و سوم افزودن خوراکی ٤۵۰ppm اسانس زنیان موجب کاهش سطوح ALT پلاسمایی در مقایسه با گروه شاهد شد ($P<0/05$). افزودنی‌های خوراکی تأثیر معنی‌داری بر سطوح AST پلاسمایی در هیچ یک از مراحل خون‌گیری نداشته است ($P>0/05$). مکمل‌سازی خوراکی دوز بالای اسانس زنیان موجب کاهش معنی‌دار سطوح فعالیت آنزیمی CPK پلاسمایی نسبت به گروه شاهد در خون‌گیری نهایی گردید ($P<0/05$).

هر چند زیلپاترول در مرحله دوم و سوم خون‌گیری سطوح فعالیت ALT پلاسمایی را کاهش داد ($P<0/05$) ولی این بتاآگونیست موجب افزایش سطوح ALP و CPK پلاسمایی در خون‌گیری دوم در مقایسه با گروه شاهد گردید ($P<0/05$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- انرژی و پروتئین جیره‌ی پایه در سنین مختلف جوجه‌های گوشتی

Table 1- Ingredients and composition of the basal diet

اجزای جیره (g/ kg) Diet ingredients	1-12 d	13-29 d	30-36 d
ذرت Corn (8% CP)	538	635	652
کنجاله سویا Soybean meal (43 % CP)	400	306	288
روغن سویا Soybean oil	17.5	18.5	22
کربنات کلسیم Calcium carbonate	11.6	10	9.6
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	18.4	16.8	15.5
دی ال-متیونین DL-Methionine	2.9	2.45	2.3
ال-لازین L-lysine	1	1.3	1.05
ترئونین Threonine	0.55	0.6	0.5
جوش شیرین Sodium bicarbonate	1.5	1	1
مکمل ویتامینی Vitamin Premix	2.5	2.5	2.5
مکمل معدنی Mineral Premix	2.5	2.5	2.5
نمک Salt	3.2	2.8	2.8
ترکیبات شیمیایی Calculated composition			
انرژی قابل متابولیسم Metabolizable energy (KCal/kg)	2910	3025	3070
پروتئین خام Crude protein (g/kg)	22	18.9	18.2
کلسیم Calcium (g/kg)	1.03	0.9	0.85
فسفر قابل دسترس Available phosphorous(g/kg)	0.5	0.45	0.42
متیونین+سیستین Methionine + Cystine (g/kg)	0.97	0.84	0.81

تأثیر محیط پرورشی و تنش سرمایی بر فعالیت آنزیم‌ها و فراسنجه‌های خونی در دفعات مختلف خون‌گیری در جدول ٦ ارائه شده است. همان طور که در این جدول مشاهده می‌شود، سطوح پلاسمایی آنزیم AST در خون‌گیری دوم (P<۰/۰۵) و سطوح پلاسمایی آنزیم ALT و CPK در خون‌گیری سوم (p<۰/۰۱) در محیط تنش سرمایی به طور معنی‌داری بالاتر از محیط طبیعی بود. تنش سرمایی از نظر آماری سطوح ALP پلاسمایی را تحت تأثیر قرار نداد (P>۰/۰۵).

همان طور که در جدول ٥ نشان داده شده است، مکمل نمودن جیره با افزودنی های خوراکی تأثیر معنی‌داری بر مقادیر هورمون های تیروئیدی نداشته است (P<۰/۰۵). اثر اصلی افزودنی های خوراکی در مورد فراسنجه‌های MDA و نسبت هتروفیل به لنفوسیت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، به طوری که مکمل‌سازی خوراکی ٤٥٠ اسانس زنیان موجب کاهش این فراسنجه‌ها در مقایسه با گروه شاهد گردید (P<۰/۰۵). نسبت وزن بطن راست به مجموع دو بطن تحت تأثیر تیمارهای خوراکی و محیط پرورش قرار نگرفت (P>۰/۰۵).

شرایط محیط پرورشی تأثیر معنی‌داری بر مقادیر هورمون های تیروئیدی و غلظت MDA نشان نداد (P>۰/۰۵). اثر اصلی محیط پرورشی بر فراسنجه «نسبت هتروفیل به لنفوسیت» معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، به طوری که تنش سرمایی موجب افزایش این نسبت در جوجه‌ها گردید (به ترتیب ۰/۳٦ و ۰/۵۳ در محیط پرورشی طبیعی و تنش سرمایی؛ جدول ٦). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که درصد هماتوکریت در خون‌گیری دوم در پرندگانی که تحت تنش سرمایی قرار گرفتند از نظر آماری در سطح ۰/۰۵ افزایش یافت (جدول ٦).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- اثر اصلی افزودنی‌های خوراکی آزمایشی روی عملکرد پرنده‌ها در دوره‌های مختلف آزمایشی

Table 2- Main effect of experimental feed additives on performance of broilers at different periods of experiment

اثرات اصلی Main effect	میانگین افزایش وزن بدن DBWG (gr)		ضریب تبدیل غذایی FCR	
	13-29 days	30-35 days	13-29 days	30-35 days
شاهد Control	41.27[a]	65.31	2.31	2.52
زنیان-۱۵۰ Ajwain-150	37.66[b]	66.31	2.40	2.52
زنیان-٤٥٠ Ajwain-450	40.40[ab]	60.80	2.28	2.69
زیلپاترول Zilmax	40.39[ab]	62.54	2.28	2.58
SEM	0.80	2.52	0.05	0.08

میانگین‌های هر ستون با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (P< ۰۵/).

Means within same column with different superscripts differ (P≤0.05).

جدول ۳- اثر اصلی سرما در دوره رشد روی عملکرد پرنده‌ها در دوره‌های مختلف آزمایشی

Table 3- Main effect of cold exposure at grower phase (13-29 d) on performance of broilers at different periods of experiment

اثرات اصلی Main effect	میانگین افزایش وزن بدن DBWG (gr)		ضریب تبدیل غذایی FCR	
	12-29 days	30-35 days	12-29 days	30-35 days
دمای طبیعی Thermoneutral	42.34[a]	68.91[a]	2.15[a]	2.45[a]
محیط سرد Cold exposure	37.54[b]	58.57[b]	2.48[b]	2.72[b]
SEM	0.72	1.76	0.05	0.07

میانگین‌های هر ستون با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (P< ۰۵/).

Means within same column with different superscripts differ (P≤0.05).

جدول ۴- اثر متقابل قرار گرفتن در معرض سرما × افزودنی خوراکی روی مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورشی

Table 4- Effect of cold exposure×feed additives interaction on daily feed intake (gr) of broilers at different rearing periods

	دوره Period		دمای طبیعی Thermoneutral		محیط سرد Cold exposure				SEM
	Con	Aj-150	Aj-450	Zilmax	Con	Aj-150	Aj-450	Zilmax	
13-29 d	94.29[ab]	91.07[b]	92.84[b]	84.82[c]	93.50[ab]	91.42[b]	90.65[b]	97.33[a]	0.84
30-35 d	166.92[a]	167.66[a]	164.70[a]	169.61[a]	160.11[ab]	159.67[ab]	160.11[ab]	149.29[b]	3.20

میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (P< ۰۵/).

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- تأثیر افزودنی‌های خوراکی بر فعالیت آنزیم‌های خونی (بر حسب U/L) و برخی از فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های آرین

Table 5- Effect feed additive on blood enzyme activity (U/L) and some blood parameters in Arian broiler chickens

صفات مورد مطالعه Item	شاهد Control	زنیان-۱۵۰ Ajwain-150	زنیان-۴۵۰ Ajwain-450	زیلپاترول Zilmax	SEM
آلانین آمینو ترانسفراز-۳ ALT-3	22.10[a]	14.69[b]	14.73[b]	13.55[b]	1.45
آسپارتات آمینو ترانسفراز-۲ AST-2	56.06	59.55	55.25	59.52	1.39
آسپارتات آمینو ترانسفراز-۳ AST-3	55.02	51.65	52.42	49.17	1.69
آلکالین فسفاتاز-۳ ALP-3	184.4	225.4	234.3	212.5	22.6
هورمون تری یدو تایرونین Triiodothyronine (T3)	2.84	2.62	2.78	2.50	0.27
هورمون تیروکسین Thyroxine (T4	9.11	9.09	7.13	7.74	0.69
نسبت هتروفیل به لنفوسیت heterophil to lymphocyte (H:L)	0.49[a]	0.40 [b]	0.36 [b]	0.50[a]	0.02
نسبت وزن بطن راست به مجموع دو بطن	0.22	0.18	0.18	0.20	0.01
درصد هماتوکریت-۲ Hematocrit %	38.4	37.2	35.5	38.9	1.02

میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵).

Means within same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

در مورد فراسنجه‌های که اثر متقابل جیره در محیط در مورد آن ها معنی‌دار شده بود، از ذکر اثرات اصلی صرف‌نظر شده و اثرات متقابل در جدول ۷ ارائه شده است. «نسبت هتروفیل به لنفوسیت» و مقادیر مالون‌دی‌آلدئید پلاسمایی در گروه زنیان-۴۵۰-سرما در مقایسه با گروه شاهد-سرما کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). هیچ کدام از افزودنی های خوراکی نتوانستند اثر تنش سرمایی بر افزایش درصد هماتوکریت را تخفیف دهند (جدول ۷). در خون‌گیری دوم، میانگین مقادیر CPK در گروه زیلپاترول-طبیعی در مقایسه با گروه شاهد طبیعی بالاتر بود (P<۰/۰۵). همچنین در گروه زیلپاترول-سرما فعالیت آنزیمی ALP افزایش قابل توجهی نسبت به سایر گروه‌های تیماری نشان داد (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶- تأثیر محیط پرورشی بر فعالیت آنزیم‌های خونی (بر حسب U/L) و برخی از فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های آرین

Table 6- Effect of temperature on blood enzyme activity (U/L) and some blood parameters in Arian broiler chickens

صفات مورد مطالعه Item	دمای طبیعی Thermoneutral	دمای سرد Cold Exposure	SEM
آلانین آمینو ترانسفراز-۳ ALT-3	14.52 b	18.01a	1.03
آسپارتات آمینو ترانسفراز-۲ AST-3	56.1b	59.1a	0.98
آسپارتات آمینو ترانسفراز-۳ AST-3	52.67	51.42	1.19
آلکالین فسفاتاز-۳ ALP-3	222.7	205.7	16.4
هورمون تری یدو تایرونین Triiodothyronine (T3)	2.79	2.61	0.19
هورمون تیروکسین Thyroxine (T4)	8.30	8.19	0.49
نسبت هتروفیل به لنفوسیت heterophil to lymphocyte (H:L)	0.35 b	0.53a	0.01
نسبت وزن بطن راست به مجموع دو بطن	0.18	0.21	0.009
درصد هماتوکریت-۲ Hematocrit %	32.1b	40.4a	0.72

میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵).

Means within same row with different superscripts differ significantly (P<0.05).

بحث

در مورد اثر زنیان بر عملکرد جوجه‌های گوشتی گزارشی وجود ندارد، ولی یافته حاضر در سازگاری با مطالعات دیگری است که گزارش کردند مکمل‌سازی خوراکی اسانس های مختلف گیاهی تأثیر مثبتی بر عملکرد پرنده‌ها نداشته است (کیرکپینار و همکاران ۲۰۱۱). کاهش وزن پرنده‌ها و عدم مشاهده تأثیر معنی‌دار اسانس زنیان بر ضریب تبدیل غذایی، ممکن است به ترکیب جیره پایه، شرایط محیط پرورشی، دوره مکمل‌سازی و سن پرنده‌های دریافت کننده اسانس نسبت داده شود (کیرکپینار و همکاران ۲۰۱۱). مکمل‌سازی زیلپاترول (در دوره ۱۳ تا ۳۲ روزگی) تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن پرنده‌ها نداشت، در حالی که در مطالعات قبلی نشان داده شده است که مکمل نمودن زیلپاترول به جیره پایانی بلدرچین (محمدی و همکاران ۲۰۱۲) و جوجه گوشتی (خیرخواه و همکاران ۲۰۱۲) باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی پرنده ها می‌شود.اختلاف در نتایج عملکردی در مطالعات مختلف را می‌توان به شرایط پرورشی، ترکیب جیره پایه و حضور مقادیر کافی از اسیدهای آمینه ضروری، نوع بتا آگونیست، سطح و مدت مکمل سازی زیلپاترول به جیره نسبت داد (مرسمن ۲۰۰۲). همچنین در بالاتر بودن واریانس پاسخ در بین بتاآگونیست‌ها، ممکن است عواملی چون تأثیر پذیرفتن این ترکیبات از سن، گونه، جنس، جیره و نوع پرورش و دیگر شرایط مؤثر باشد. در این آزمایش تنش سرمایی در کل تأثیر سویی بر عملکرد

www.SID.ir

Archive of SID

پرنده‌ها داشته است (جدول ۳) و موجب افزایش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی و کاهش وزن روزانه پرنده‌ها گردید (P<۰/۰۵).

در خون‌گیری مرحله دوم، اثر اصلی محیط پرورشی بر سطوح فعالیت آنزیمی AST معنی‌دار گزارش گردید؛ به طوری که تنش سرمایی موجب افزایش سطوح این فراسنجه شد. همچنین در خون‌گیری سوم با وجود این که پنج روز از اعمال تنش سرمایی سپری شده بود، ولی پرندگان قرار گرفته در معرض تنش سرمایی سطوح ALT بالاتری نشان دادند. گزارش شده است که میزان فعالیت سرمی ALT در طیور به طور معمول کمتر از AST می‌باشد ولی در آسیب‌های کبدی در مقایسه با AST به مدت طولانی‌تری افزایش یافته باقی می‌ماند (خضرایی نیا و همکاران ۱۳۸۸).

چنین به نظر می‌رسد که تنش سرمایی موجب آسیب در کبد پرنده شده است. این یافته با نتایج خضرایی‌نیا و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت دارد که نشان دادند تنش سرمایی سطوح آنزیم را در پلاسما قبل از مشاهده علایم بالینی آسیت، بالا می‌برد؛ ولی با نتایج دانشیار و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت ندارد که گزارش کردند فعالیت آنزیم‌های AST و ALT بین پرندگان محیط طبیعی و محیط تنش سرمایی مشابه بود. در مطالعه‌ای دیگر تیمار سرمایی علی‌رغم تفاوت‌های اندک، اثر معنی‌داری بر فعالیت این آنزیم‌ها نداشت (خزعلی وهمکاران ۲۰۰۵). فعالیت AST و ALT سرم (آنزیم‌های کبدی) برای ارزیابی عملکرد کبد به کار رفته‌اند و صرف نظر از منشأ آن، افزایش در فعالیت این آنزیم‌ها با تخریب هپاتوسیت‌ها یا آسیب کبدی مرتبط شده است (میر ۲۰۰٤). در آسیب‌های حاد کبدی به طور معمول فعالیت AST سرمی یک روز بعد از آسیب به حداکثر میزان خود می‌رسد و حدود پنج روز بعد از ایجاد ضایعه حاد به میزان پایه برمی‌گردد (میر ۲۰۰٤).

زیلپاترول هیدروکلراید بعد از خاتمه دوره تنش سرمایی موجب افزایش سطوح آنزیم‌ها ALP شد. از مقایسه اثر متقابل جیره در محیط برای فراسنجه CPK نیز مشاهده می‌شود که اختلاف بین فعالیت آنزیمی CPK بین گروه «زیلپاترول-طبیعی» و «شاهد- طبیعی» معنی‌دار بود. گزارش شده است که تنش اکسیداتیو با تحریک فعالیت دستگاه عصبی خودمختار و افزایش احتمال تولید رادیکال‌های آزاد، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های ALP و CPK شود (اوهتا ۲۰۰۹). در جوجه‌های گوشتی در پاسخ به قرار گرفتن در معرض تنش های محیطی و پاتولوژی‌های مختلف (از جمله آسیب عضلانی، بیماری‌های ریوی و فعالیت شدید ماهیچه‌های تنفسی در نتیجه هایپوکسی)، آنزیم CPK به جریان خون آزاد می‌شود (بوگین و همکاران ۱۹۹۷). همچنین ALP نیز یکی از شاخص‌های اختلالات کبدی و استخوانی است و فعالیت آنزیمی آن در بسیاری از بیماری‌های کبدی، استخوانی، صفراوی و سوء تغذیه افزایش می‌یابد (نایت ۲۰۰۵). همچنین در مطالعه‌ای که در آن مقایسه‌ای بین فراسنجه‌های هماتولوژیکی لاین‌های مقاوم و حساس به آسیت صورت گرفت، مشاهده شد که فعالیت ALP سرمی در پرندگان حساس به آسیت بالاتر بود (بالوگ و همکاران ۲۰۰۳). با توجه به اثرات متقابل جیره در محیط برای این فراسنجه‌ها مشاهده می‌شود که تنش سرمایی نتواندست موجب بالاتر رفتن سطوح فعالیت آنزیمی ALP و CPK گردد. هر چند از مقایسه سطوح فعالیت آنزیمی CPK در بین گروه‌های قرار گرفته‌ی قبلی در معرض تنش سرمایی و گروه های تحت برنامه دمایی طبیعی در خون‌گیری پایانی، مشاهده می‌شود که در پرندگان مصرف‌کننده دوز پایین اسانس زنیان تنش سرمایی تأثیر معنی‌داری بر این فراسنجه داشته باشد (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷- اثر متقابل قرار گرفتن در معرض سرما × افزودنی خوراکی بر روی مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورشی

Table 7- Effect of cold exposure×feed additives interaction on daily feed intake (gr) of broilers at different rearing periods

صفات مورد مطالعه Item	دمای طبیعی Thermoneutral				دمای سرد Cold exposure				
	Con	Ajwain-150	Ajwain-450	Zilmax	Con	Ajwain-150	Ajwain-450	Zilmax	SEM
آلانین آمیو ترانسفراز-۲ ALT-2	16.25^{bc}	22.37^{ab}	16.65^{bc}	16.06^{cb}	26.00^{a}	10.18c	11.71^{bc}	21.56^{ab}	2.34
کراتین فسفوکیناز-۲ CPK-2	231.8^{c}	272.4^{bc}	252.1^{c}	450.9^{a}	330.2^{bc}	301.6^{bc}	278.9^{bc}	372.1^{ab}	23.9
کراتین فسفوکیناز-۳ CPK-3	656.5^{abc}	297.1^{d}	427.1^{cd}	636.7^{abc}	710.9 ^{ab}	559.2^{bc}	657.1 ^{abc}	849.2^{a}	45.5
آلکالین فسفاتاز-۲ ALP-2	190.2^{b}	199.2 ^{b}	200.8 ^{b}	211.2 ^{b}	211.7 ^{b}	165.4 ^{b}	168.0 ^{b}	300.1^{a}	17.9
T3:T4	0.36 ^{abc}	0.31^{bc}	0.39 ^{abc}	0.47 ^{a}	0.35 ^{abc}	0.28 ^{c}	0.46 ^{ab}	0.25^{c}	0.04
مالون دی آلدئید-۳ MDA-3	0.30 ^{bc}	0.34 ^{abc}	0.29 ^{bc}	0.41 ^{ab}	0.46 ^{a}	0.39 ^{ab}	0.25 ^{c}	0.38 ^{ab}	0.03
درصد هماتوکریت-۲ Hematocrit-2 %	35.0^{b}	33.3^{b}	33.2^{b}	35.0^{b}	41.7^{a}	41.2^{a}	37.7^{ab}	40.8^{a}	1.44

میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵).

Means within same wow with different superscripts differ (P<0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

علت این امر را می‌توان به کم بودن شدت اعمال تنش سرمایی و پاسخ‌پذیری کمتر این آنزیم‌ها به تنش اعمال شده نسبت داد. احتمال داده می‌شود که زیلپاترول با تشدید برون‌ده قلبی در طی شرایط تنش سرمایی موجب آسیب ماهیچه قلبی شده باشد. همچنین تغییرات مشاهده شده در فعالیت آنزیم‌های سرمی در اثر مکمل نمودن زیلپاترول در این مطالعه ممکن است ناشی از اثر دارو بر سنتز و کلیرانس این آنزیم ها باشد (کانکو ۱۹۸۹). بنابراین استفاده از زیلپاترول به عنوان عامل مفید در تخفیف اثرات تنش سرمایی قابل توصیه نمی‌باشد. از طرفی بالا رفتن سطوح فعالیت CPK در اثر داروی زیلپاترول می‌تواند دلالت بر تأثیر منفی بر رشد پرنده‌ها داشته باشد.

در خون‌گیری مرحله دوم، اسانس زنیان در هر دو سطح مکمل سازی توانست در طی پرورش در محیط سرمایی موجب کاهش سطوح فعالیت ALT پلاسمایی در مقایسه با گروه «شاهد-سرمایی» شود (P<۰/۰۵؛ جدول ٤). همچنین در خون‌گیری پایانی مشاهده گردید که سطوح فعالیت ALT در هر دو سطح اسانس زنیان پایین‌تر از جیره شاهد بود (جدول ۳). در مطالعه‌ای مکمل نمودن خوراکی برگ رزماری مقدار ALP و ALT پلاسمایی را متأثر نساخت در حالی که سطوح AST در گروه شاهد کمتر از گروه‌هایی بوده است که در سطح ۱ و ۲ در صد مکمل برگ رز ماری در یافت می‌کردند (غزاله و علی ۲۰۰۸). برای نتیجه‌گیری در مورد اثر زنیان بر سطوح فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سلامت قلب و کبد پرنده، به مطالعات بیشتری نیاز است.

در پژوهش حاضر مقادیر هورمون‌های تیروئیدی پلاسمایی فقط در خاتمه دوره تنش سرمایی (روز ۲۹) مورد سنجش قرار گرفت و مشاهده شد که افزودنی‌های خوراکی تأثیر معنی‌داری بر مقادیر هورمون های T3 و T4 پلاسمایی نداشته است. علت این امر احتمالاً چنین باشد که شدت و طول دوره تنش سرمایی به حدی نبوده تا مقادیر هورمون های تیروئیدی پلاسمایی را متأثر سازد. نسبت T3 به T4 در گروه «زنیان-٤٥٠-سرما» در مقایسه با گروه «زیلپاترول-سرما» به طور معنی‌داری (P≤۰/۰۵) بیشتر بود (جدول ٤). نقش هورمون‌های تیروئیدی در کنترل نرخ متابولیکی به ویژه در شرایط تنش سرمایی امری شناخته شده است (یاهو ۲۰۰۰). در پرندگان آسیتی یک ناتوانی در تبدیل T4 به T3 شکل می‌گیرد (کاهش نسبت T3 به T4) که احتمالاً به دلیل پاسخ به تنش هیپوکسی و ارتباط آنتاگونیستی بین هورمون‌های تیروئیدی و کورتیکوسترون است (گریس و همگاران ۱۹۹۹). افزایش نرخ متابولیکی در اثر تنش سرمایی با افزایش در ترشح هورمون T4 همراه می‌باشد که در اندام‌های پریفرال و به طور عمده در کبد جوجه‌ها به T3 دی‌آیودینه می‌شود. هورمون T3 شکل فعال هورمون است و موجب تنظیم و کنترل دمایی بدن شده و یک محرک رشد در جوجه‌هاست (یاهو ۲۰۰۰). محققین استدلال نمودند که کاهش شکل فعال هورمون تیروئیدی می‌تواند منجر به عدم مطابقت بین نیاز و عرضه اکسیژن در سطح بافت ها شود و نقش مهمی در ناتوانی در اکسیژن‌رسانی کافی در جوجه‌های گوشتی ایفا می‌نماید که در نهایت منجر به آنوکسی، ناتوانی قلبی و آسیت می‌شود (حسن زاده ۲۰۰۹).

اسانس زنیان در هر دو سطح مکمل‌سازی، موجب کاهش معنی‌دار نسبت هتروفیل به لنفوسیت نسبت به گروه شاهد شد (جدول ۲). همچنین اثر اصلی محیط پرورشی بر این فراسنجه معنی‌دار بود (P<۰/۰۵ ؛ جدول ۳). هر گونه تنش می‌تواند تحریک غده آدرنال را افزایش داده تا هورمون هایی از قبیل کورتیکوسترون تولید شوند. این هورمون‌ها اثر مستقیمی در تجزیه یک سلول لنفاوی داشته که موجب افزایش در نسبت هتروفیل به لنفوسیت می‌شوند. نسبت هتروفیل به لنفوسیت یک معیار شناخته شده از تنش در پرندگان می‌باشد که به عنوان ابزار ارزشمندی در تحقیقات بر روی تنش استفاده می‌شود. این شاخص، همچنین به عنوان معیار انتخاب برای مقاومت به تنش در جوجه‌های گوشتی پیشنهاد

www.SID.ir

Archive of SID

شده است(المورانی و همکاران ۱۹۹۷). گزارش شده است که مکمل سازی ویتامین C به عنوان آنتی‌اکسیدان، نسبت هتروفیل به لنفوسیت را در طیور در شرایط تنش گرمایی، تنش قبل کشتار و بیماری کاسته و منجر به کاهش مرگ و میر شده است (ساترلی و همکاران ۱۹۸۹). بنابراین می‌توان چنین پیشنهاد نمود که اسانس زنیان با دارا بودن خصوصیات آنتی اکسیدانی موجب کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در پرنده‌ها شده و اثر ضد تنشی نشان داده است.

در مطالعه حاضر تنش سرمایی موجب افزایش درصد هماتوکریت پلاسمایی شد ($P\leq ۰/۰۵$)، ولی بعد از بر طرف شدن تنش سرمایی و خون‌گیری در هفته بعدی (روز ۳۶)، تفاوت معنی‌داری بین دو محیط پرورشی از نظر این فراسنجه مشاهده نشد. گزارش شده است که مقادیر هماتوکریت و ویسکوزیته خون توسط القای سرمایی آسیت افزایش می‌یابد و هنگامی که پرندگان آسیتی به مدت ۱۴ روز در دمای کنترل شده محیطی ($۲۰\pm۵^{\circ}C$) نگهداری شدند علایم آسیت در اکثر پرندگان از بین رفت و هماتوکریت به حدود طبیعی خود کاهش یافت (ساتو و همکاران ۲۰۰۲). افزایش هماتوکریت خون یک افزایش فیزیولوژیک جبرانی است که در پی هیپوکسی رخ می‌دهد. بالا رفتن سطوح کورتیکوسترون و نقش تحریک‌کنندگی این هورمون در تکثیر اریتروسیت‌ها ممکن است توجیهی برای افزایش هماتوکریت در این پرندگان باشد. ویسکوزیته خون در نتیجه بالا رفتن هماتوکریت افزایش می‌یابد و ممکن است به توسعه سندرم آسیت کمک نماید(ساتو و همکاران ۲۰۰۲).

نتایج مربوط به نسبت وزن بطن راست به مجموع دو بطن در این آزمایش معنی‌دار نبود. هایپرتروفی بطن راست قلب از شایع‌ترین علایم آسیت می‌باشد (خضرایی نیا و همکاران ۱۳۸۸) که با نتایج مطالعه حاضر سازگار نمی‌باشد. عدم افزایش این نسبت در مطالعه حاضر ممکن است بدین دلیل باشد که پرندگان در روز کشتار آسیتی نبوده و یا پرندگانی بوده‌اند که مقاومت به آسیت را در خود توسعه داده بودند.

در کل نتیجه گیری می‌شود که اثرات تعدیل‌کنندگی بر روی برخی از شاخص‌های خونی پیش از آسیت توسط اسانس زنیان، ممکن است ناشی از اثرات آنتی‌اکسیدانی و فروشاندن رادیکال‌های آزاد و تنش اکسیداتیو توسط این عصاره گیاهی باشد. در حالی که مکمل نمودن بتاآگونیست زیلپاترول هیدروکلراید در محیط سرمایی تأثیر مثبتی بر کاهش مرگ و میر ناشی از آسیت و فراسنجه های خونی مرتبط با آن نداشت که ممکن است به دلیل ناسازگاری نوع بتا آگونیست به کار رفته برای طیور، دوز و مدت زمان مورد استفاده از مکمل باشد.

منابع مورد استفاده

Al-Murrani WK, Kassab A, Al-Sam HZ and Al- Athari AM, 1997. Heterophil/lymphocyte ratio as a selection criterion for heat resistance in domestic fowls. British Poultry Science 38: 159–163.

Balog JM, Kidd BD, Huff WE, Huff GR, Rath NC and Anthony NB, 2003. Effect of cold on broilers selected for resistance or susceptibility to ascites syndrome. Poultry Science 82: 1383–1387.

Bogin E, Peh CH, Avidar B and Cahaner A, 1997. Sex and genotype dependence on the effects of long term high environmental temperatures on cellular enzyme activities from chicken organs. Avian Pathology 26: 511-524.

Boskabady MH, Ramazani M and Tabei T, 2003. Relaxant effects of different fractions of essential oil from Carum copticum on guinea pig tracheal chains. Phytotherapy Research 17(10): 1145-1149.

Bottje WG, Enkvetchakul B and Moore R, 1995. Effect of α-tocopherol on antioxidants, lipid peroxidation, and the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers. Poultry Science 74: 1356–1369.

www.SID.ir

Archive of SID

Bottje WG and Wideman RF, 1995. Potential role of free radicals in the pathogenesis of pulmonary hypertension syndrome. Poultry Avian Biology Review 6: 221–231.

Campbell TW, 1988. Avian hematology and cytology. Iowa State Univ. Press, Ames, IA.

Currie RJW, 1999. Ascites in poultry: recent investigations. Avian Pathology 28: 313-326.

Dawson YL, Gores GL and Nieminen AL, 1993. Mitochondria as a source of reactive oxygen species during reductive stress in rats hepatocytes. American Journal of Physical Anthropology 264: 961-967.

Enkyetchakul B, Bottje W, Anthony N, Moore R and Huff W, 1993. Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. Poultry Science 72: 2272–2280.

Geris KL, Berghman LR, Kuhn ER and Darras VM, 1999. The drop in plasma thyrotropin concentrations in fasted chickens is caused by an action at the level of the hypothalamus: role of corticosterone. Domestic Animal Endocrinology 16: 231–237.

Ghazalah AA and Ali AM, 2008. Rosemary Leaves as a Dietary Supplement for Growth in Broiler Chickens. International Journal of Poultry Science 7 (3): 234–239.

Gupta AR, 2011. Ascites syndrome in poultry: a review. World Poultry Science Journal 67: 457-468.

Hassanzadeh M, Buyse N, Dewil E, Rahimi G and Decuypere E, 1997b. The prophylactic effect of vitamin C supplementation on broiler ascites incidence and plasma thyroid hormone concentration. Avian Pathology 26: 33–44.

Hassanzadeh M, Buyse J and Decuypere E, 2002. Further evidence for the involvement of cardiac b-adrenergic receptors in right ventricle hypertrophy and ascites in broiler chickens. Avian Pathology 31: 177–181

Hassanzadeh M, 2009. New approach for the incidence of ascites syndrome in broiler chickens and management control the metabolic disorders. International Journal Poultry Science 8(1): 90–98.

Kaneko J, 1989. Clinical biochemistry of domestic animal. 4th Ed. Acad. Press, IWC.

Kenan Coban Y and Inanc F, 2004. Low-volume tumescent liposuction does not change plasma malondialdehyde levels: A preliminary study. Aesthetic Plastic Surgery 28: 321–323.

Khajali F and Qujeq D, 2005. Relationship between growth and serum lactate dehydrogenase activity and the development of ascites in broilers subjected to skip-a-day feed restriction. International Journal Poultry Science 4: 317–319.

Khalafalla FA, Ali FMH, Zahran DA and Mosa AMA, 2011. Influence of Feed Additives in Quality of Broiler Carcasses. Journal of World's Poultry Research 2(3): 40–47.

Khazraeinia P, Arab H, Zaeemi M and Jamshidi R, 2009. Journal of Veterinary Research (Research and Development) 82: 74-79 (In Persian).

Kheyrkhah H, Towhidi A, Moravej H and Mohammadi Arkhelu M, 2011. Effects of different levels of zilpaterol hydrochloride on performance, carcass quality and some blood parameters of broilers. Iranian Journal of Animal Science 43(1): 51–60. (In Persian)

Kirkpınar F, Bora Ünlü H and Özdemir G, 2011. Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcase, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. Livestock Science 137: 219–225

Knight JA, 2005. Liver function tests: their role in the diagnosis of hepatobiliary diseases. Journal of Infusion Nursing 28:108-117.

Malucelli A, Ellendorff F and Meyer HHD, 1994. Tissue distribution and residues of clenbuterol, salbutamol, and terbutaline in tissues of treated broiler chickens. Journal of Animal Science 72: 1555–1560

Mersmann HJ, 2002. Beta-adrenergic receptor modulation of adipocyte metabolism and growth. Journal of Animal Science 80: 24–29.

Meyer JD, 2004. Veterinary laboratory medicine, Interpretation & Diagnosis. Third edition.USA. 161p.

Mohagheghzadeh A, Faridi P and Ghasemi Y, 2007. Carum copticum Benth. & Hook., essential oil chemotypes. Food Chemistry 100: 1217–1219.

www.SID.ir

Archive of SID

Mohammadi-Arekhlo M, Towhidi A, Moravej H and Zare Shahaneh A, 2012. Effect of different levels of zilpaterol hydrochloride in two days on-two days off feeding program on performance, carcass quality and blood metabolites in Japanese quails. Animal Production Research 1(3): 1–8.

Nemati MH, Shahir MH, Harakinezhad MT and Lotfalhian H, 2017. Cold-Induced Ascites in Broilers: Effects of Vitamin C and Coenzyme Q10. Brazilian Journal of Poultry Science 19(3): 537-544.

Ocampo L, Cortez U, Sumano H and Avila E, 1998. Use of low dose of clenbuterol to reduce incidence of ascites syndrome in broilers. Poultry Science 77: 1297–1299.

Ohta, Y, Kaida S, Chiba S, Tada M, Teruya A and Imai Y, 2009. Involvement of oxidative stress in increases in the serum levels of various enzymes and components in rats with water-immersion restraint stress. Journal of Clinical Biochemistry 45: 347–54.

Ruiz-Feria CA, 2009. Concurrent supplementation of arginine, vitamin E, and vitamin C improve cardiopulmonary performance in broilers chickens. Poultry Science 88: 526–535.

Sato T, Tezuk K, Shibuya H, Watanabe T, Kamata H and Shirai W, 2002. Cold-induced ascites in Broiler chickens and its improvement by temperature-controlled rearing. Avian Diseases 46: 989–996.

Satterlee DG, Aguilera-Qintana I, Munn BJ and Krautmann BA, 1989. Vitamin C amelioration of the adrenal stress response in broilers being prepared for slaughter. Comparative Biochemistry and Physiology 99: 569–574.

Torki M, Akbari M and Kaviani K. 2015. Single and combined effects of zinc and cinnamon essential oil in diet on productive performance, egg quality traits, and blood parameters of laying hens reared under cold stress condition, International Journal of Biometeorology, 59: 1169-1177.

Yahav S, 2000. Relative humidity at moderate ambient temperatures: its effect on male broiler chickens and turkeys. British Poultry Science 41: 94–100.

Zahin M, Ahmad I and Aqil F, 2010. Antioxidant and Antimutagenic activity of Carum copticum fruit extracts. Toxicology in Vitro 24(4): 1243–1249.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of Ajwain essential oil and β-agonist zilpaterol hydrochloride on performance and some enzymatic markers associated with cold stress in paternal line of Arian broiler chickens

F Samadian[1], A Towhidi[2], MA Karimi Torshizi[3] and V Vahedi[4]

Received: July 11, 2016 Accepted: March 15, 2017

[1]Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[3]Associate Professor, Poultry Science Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[4]Assistant Professor, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[*]Corresponding author; Email: fsamadian@yu.ac.ir

Introduction: This study was conducted to determine the effects of dietary supplementation of ajwain essential oil (EO) and Zilmax® (Zilpaterol hydrochloride) on growth performance and some blood parameters associated with cold stress in male chicks belong to paternal line of Arian broiler chickens. Cold environmental temperatures tend to increase blood triiodothyronine (T3) levels, required for the generation of additional metabolic heat to maintain body temperature in colder environments. The subsequent increase in basal metabolic rate results in an increase in oxygen demand and the heart attempts to maintain oxygen supply to the organs and muscles, thus chronically leading to pulmonary hypertension syndrome (PHS), right ventricular hypertrophy, ascites and eventually death (Gupta 2011). According to Currie (1999) the main reasons of the etiology of ascites could be classified as: pulmonary hypertension, cardiac pathologies, and cellular damage due to oxidative stress caused by increased reactive oxygen species (ROS) production. Enkvetchakul et al. (1993) verified that chickens with ascites suffered from high oxidative stress. Therefore, ROS production is increased during hypoxia and ascites (Dawson et al., 1993). As a result of oxidative stress, major antioxidants, such as glutathione, α-tocopherol, and ascorbic acid are reduced in the liver and the lungs of broilers with PHS (Bottje and Wideman 1995). Vitamin E, vitamin C, and other antioxidants have beneficial effects as they scavenge free radicals (Gupta, 2011, Ruiz -Feria, 2009) .

It has been reported that supplementation of vitamin C (Nemati et al. 2017) in diet of broilers and herbal essential oils as natural antioxidants in the diet of laying hens (Torki et al., 2015) under cold stress conditions resulted improved performance parameters (body weight and feed conversion ratio). Ascites related traits (low red blood cell count, hematocrit, T3, heart weights and high T4) were also improved due to antioxidant (Coenzyme Q10 and vitamin C) supplementation in the diet of broiler chickens (Nemati et al. 2017).

Various β-adrenergic agonists have been shown to be capable of improving weight gain when added to the feed of various domestic species (Malucelli et al., 1994). Moreover it was eported that, the use of clenbuterol at 0.25 ppm to reduce mortality due to the ascites syndrome in broilers (Ocampu et al. 1998) .We hypothesized that dietary addition of *C. copticum* and Zilpaterol hydrochloride in chicks diet could attenuate cold stress effects with respect to mortality, serum enzyme activity and plasma levels of thyroid hormones.

Material and methods: A total of 196 day-old male chicks were purchased from Babolkenar Arian Line Breeding Center, Babolkenar, Iran. Birds were divided into cold and normal temperature groups after rearing until 13 d. Four dietary treatments (basal diet, dietary addition of ajwain EO at 150 and 450 ppm and zilmax® at 1.6 ppm) each with corresponding replicates (24 replicate; n=192; one male

www.SID.ir

Archive of SID

chick in each individual cage as a replicate) were fed to chicks at two different thermal programming environment at the grower phase. At the end of the grower phase, cold thermal program was stopped and ambient temperature became the same and normal through the finisher phase for all chicks. This study was done according to a Complete Randomized Design with 8 treatments. Feed intake (FI) and body weight gain (BWG) were measured at the end of each rearing phase. At the end of experiment (42 days of age), eight birds per treatment were sacrificed, and their RV: TV ratios calculated. At 13, 29 and 36 days of age four birds of each treatment were randomly taken for blood collection from wing vein and the assay of serum Alkaline Phosphatase (ALP), Alanine Transaminase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST) and thyroid hormones levels using commercial kits. Heterophyl to lymphocyte ratio as a measure of stress and hematocrit as a measure of PHS were also assessed in blood samples.

Results and discussion: Dietary addition of 150 ppm ajwain EO decreased body weight gain ($P\leq0.05$) but has no significant effect on feed conversion ratio (FCR) of chicks at growing phase ($P>0.05$), and did not affect overall performance at the end of the experiment as well. The main effect of cold exposure was significant ($P<0.05$) and performance were significantly lower in cold stress birds compared to chicks reared in thermoneutral environment. Dietary addition of ajwain EO at two supplemented doses decreased heterophil to lymphocyte (H:L) ratio at sampling on day 29 and serum enzymatic activity of alanine aminotransferase (ALT) in blood samples collected at 36 d ($P\leq0.05$). Thermal program main effects showed that cold stress itself increased hematocrit and aspartate aminotransferase enzymatic activity at sampling on day 29 ($P\leq0.05$). Among the treatment groups reared in cold exposure environment, dietary supplementation of ajwain EO at 450 ppm could attenuate cold induced increases in serum MDA values and ALT enzymatic activity levels compared to control-cold exposure group ($P\leq0.05$). Among the treatment groups reared in normal temperature program, Zilmax® supplementation increased T3:T4 ratio, creatine phosphokinase enzymatic activity levels and values of MDA compared to control-thermoneutral group ($P\leq0.05$). Dietary treatments did not any significant effect on hematocrit in neither of blood samples taken from birds belong to two thermal program groups. RV/TV as indices of ascites syndrome was not significantly different between experimental groups. This may be attributed to the fact that the birds that were killed at the end of the experiment were not ascetic birds or may have developed resistance to ascites syndrome. The lowest and highest mortality rate at cold environment was in the group supplemented with 450 ppm ajwain essential oil (4.1%) and control (29%) respectively.

Conclusion: The use of zilpaterol hydrochloride at 0.3 ppm, in the diet did not affect significantly daily weight gain (DWG) and feed conversion ratio (FCR) and had no ascites attenuating effects on paternal line of broiler breeders. Dietary supplementation of ajwain essential also did not affect significantly performance of birds, but may be effective in attenuating cold stress due to its illustrated antioxidant (according to MDA concentration) and anti-stress effects (Decreasing effect on H:L ratio and some enzymatic assays) at the present study. Further research in still required to confirm this hypothesis.

Keywords: Ajwain essential oil, Cold stress, Hematological indices and clinical biochemistry, Paternal line of commercial broiler, Zilpaterol hydrochloride

www.SID.ir