تحقیقات تولیدات دامی
سال دوم/ شماره سوم/ پاییز ۱۳۹۲ (۵۸-۴۹)

اثر سیلی‌مارین بر صفات تولیدی و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی

علیرضا مجاهدطلب[۱]، مهرداد محمدی[۲*]، محمد روستائی علی‌مهر[۳]، محمد اسدی[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۱- تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۴)

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر مصرف سطوح مختلف سیلی‌مارین بر صفات تولیدی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شد. ۲۸۸ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه کاب ۵۰۰ در یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۴ تکرار و ۱۲ مشاهده در هر تکرار بررسی شدند. مقادیر صفر (شاهد)، ۱۶۰، ۲۰۰، ۲۴۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ قسمت در میلیون (ppm) سیلی‌مارین از روز سوم به جیره جوجه‌ها اضافه شد. مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی پاسخ ایمنی هومورال در روزهای ۸ و ۲۲ پرورش، ml ۰/۱ از سوسپانسیون ۲۵ درصد گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) به عضله سینه جوجه‌ها تزریق و اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی سرم در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ به روش هماگلوتیناسیون انجام شد. با تزریق ml ۰/۱ فیتوهماگلوتینین (PHA-P) در روز ۱۶ پرورش به چین پوستی بال جوجه‌ها و با تعیین ضخامت پوست بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت، پاسخ ایمنی سلولی ارزیابی شد. نتایج نشان داد که مصرف ۲۰۰، ۲۴۰، ۲۸۰ و ppm ۳۲۰ سیلی‌مارین موجب کاهش خوراک مصرفی و بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها شد ($P<0/05$)، ولی بر افزایش وزن جوجه‌ها تاثیری نداشت ($P>0/05$). مصرف ۲۰۰، ۲۴۰، ۲۸۰ و ppm ۳۲۰ سیلی‌مارین موجب افزایش تیتر آنتی‌بادی تام علیه SRBC و IgG در مقایسه با گروه شاهد شد ($P<0/05$)، ولی بر تیتر IgM و شاخص تحریک پوستی در پاسخ به PHA-P تاثیری نداشت ($P>0/05$). به طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد مصرف مقادیر ۲۰۰، ۲۴۰، ۲۸۰ و ppm۳۲۰ سیلی‌مارین در جیره باعث بهبود عملکرد و پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی شدند.

واژه‌های کلیدی: پاسخ‌های ایمنی، جوجه گوشتی، سیلی‌مارین، عملکرد

* نویسندهٔ مسئول: mohammadi@guilan.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌های حاصل از آنها، ضمن تقویت سیستم ایمنی طیور عوارض سوء ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک را روی سلامت انسان ندارند (تیموری‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸). ماریتیغال یا خارمریم با نام علمی *Silybum marianum L.* گیاهی از خانواده گل ستاره (*Asteraceae*) است (زرگری، ۱۳۷۶). عصاره بذر گیاه ماریتیغال حاوی یک ترکیب فلاوونوئیدی به نام سیلی‌مارین است. سیلی‌مارین شامل مخلوطی از چند ترکیب فنولی است که ایزومر هم هستند و سیلی‌بین[1]، ایزوسیلی‌بین[2]، سیلی‌کریستین[3] و سیلی‌دیانین[4] نامیده می‌شوند (Kvasnicka *et al*., 2003). سیلی‌بین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و محافظ کبدی شناخته شده و ترکیب موثری در درمان بیماری‌های کبدی است (Basiglio *et al*., 2009). سیلی‌مارین علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی قوی چندین برابری در مقایسه با ویتامین E (Vogle, 1979)، دارای خواص ضد باکتریایی، ضد التهابی و ضد سرطانی نیز هست (Agarwal *et al*., 2006). آنتی‌اکسیدان‌ها موجب تقویت سیستم دفاعی بدن علیه تنش‌های اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب‌های ناشی از رادیکالهای آزاد می‌شوند. مواد آنتی‌اکسیدان همچنین از پراکسیداسیون چربی‌های غشا سلول‌های ایمنی جلوگیری کرده و با حفظ سیالیت غشای سلول، مانع از تضعیف سیستم ایمنی بدن می‌شوند (Bendich, 1993). مطالعات در انسان مشخص کرد که سیلی‌مارین، سطوح سوپر اکسید دسموتاز گلبول‌های قرمز و لنفوسیت‌ها را افزایش و در نتیجه میزان توان آنتی‌اکسیدانی بدن را افزایش می‌دهد (Feher *et al*., 1987). گزارش شده است ترکیبات فلاوونوئیدی با افزایش فعالیت ویتامین C و با اثر ضد باکتریایی خود موجب تقویت سیستم ایمنی در حیوانات می‌شوند (Cook and Samman, 1996). استفاده از سیلی‌مارین در جیره طیور باعث کاهش مسمومیت با آفلاتوکسین شده است (Tedesco *et al*., 2004). همچنین گزارش شده که استفاده از سیلی‌مارین باعث افزایش قابلیت جوجه‌درآوری و افزایش وزن بدن در جوجه‌های گوشتی و بوقلمون می‌شود (Gawe *et al*., 2003). از آنجائیکه، تاکنون اثر سیلی‌مارین بر سیستم ایمنی طیور بررسی نشده است، لذا در این تحقیق اثر سطوح مختلف آن بر صفات تولیدی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش در مجموع از ۲۸۸ قطعه جوجه نر و ماده یک‌روزه گوشتی سویه کاب ۵۰۰ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل مقادیر صفر (شاهد)، ۱۶۰، ۲۰۰، ۲۴۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ ppm سیلی‌مارین (تهیه شده از شرکت داروسازی گل دارو، ایران) بودند که به صورت مخلوط در جیره از روز سوم تا ۴۲ روزگی در اختیار جوجه‌ها قرار داده شدند. جیره پایه مورد استفاده در آزمایش بر اساس پیشنهاد انجمن تحقیقات ملی آمریکا (NRC, 1994) تهیه شد (جدول ۱). مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن روزانه تعیین شده و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. برای ارزیابی پاسخ‌های سیستم ایمنی هومورال در روزهای ۸ و ۲۲ دوره پرورش ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون ۲۵ درصد گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در بافر فسفات (PBS) تهیه و در ماهیچه سینه تمام جوجه‌ها تزریق شد (Grasman, 2010). در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ دوره پرورش از راه سیاهرگ بال خونگیری انجام شد. بعد از لخته شدن خون، سرم‌ها به کمک سانتریفیوژ جدا و در دمای ۲۰- درجه سیلسیوس ذخیره شدند. تعیین تیتر آنتی‌بادی تام و IgG علیه SRBC، با روش هماگلوتیناسیون انجام شد (Morazzoni, 1992). سرم‌ها پس از یخ‌گشایی جهت غیرفعال کردن عوامل کمپلمان، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به دو بخش تقسیم شدند. بخش اول جهت تعیین تیتر آنتی‌بادی تام و بخش دوم جهت تعیین تیتر IgG مورد استفاده قرار گرفت. به منظور غیر فعال کردن IgM و تعیین تیتر IgG در بخش دوم نمونه‌ها، محلول ۱/۴ درصد ۲-مرکاپتواتانول (Sigma, St, Louis Mo, USA) در بافر فسفات به صورت حجمی (۱:۱) با سرم مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس ذخیره شد. شماره اولین خانه‌ای که ۵۰ درصد آگلوتیناسیون در آن صورت گرفته بر اساس لگاریتم بر مبنای ۲ یادداشت شد. نتیجه مثبت وقتی است که حداقل در ۵۰ درصد از

1. Silybin
2. Isosilybin
3. Silychristin
4. Silydianin

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه

Table 1. Ingredients and chemical composition of basal diets

Ingredients (% of diet)	Starter (1-10)	Grower (11-25)	Finisher (26-42)
Corn grain	55.3	62.73	67.07
Soybean meal	38.2	31.28	27.25
Dicalcium phosphate	2.04	2.02	1.89
Sunflower oil	2.2	1.8	1.6
Ca carbonate	0.88	0.85	0.8
Salt	0.3	0.3	0.3
Na bicarbonate	0.25	0.13	0.1
Mineral	0.3	0.3	0.3
Vitamins	0.3	0.3	0.3
Methionin	0.18	0.19	0.22
Lysine	0.05	0.1	0.17
Total	100	100	100
Calculated analysis			
Metabolizable energy (kcal/kg)	2988	3083	3176
Protein (%)	21	19	18
Calcium (%)	1.00	0.96	0.90
Available phosphorus (%)	0.5	0.48	0.45
Sodium (%)	0.20	0.17	0.16
Lysine (%)	1.20	1.10	1.05
Arginine (%)	1.26	1.17	1.13
Methionin (%)	0.46	0.44	0.43
Methionin + Cystein (%)	0.89	0.84	0.82
Tryptophan (%)	0.20	0.19	0.19

SRBCها، آگلوتیناسیون مشاهده شود. از تفاضل تیتر ایمونوگلوبولین G از تیتر آنتی‌بادی تام علیه SRBC، تیتر ایمونوگلوبولین M به دست آمد.

به منظور بررسی سیستم ایمنی سلولی در روز ۱۶ پرورش، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۱ میلی‌گرم PHA-P[1] (Sigma, St, Louis Mo, USA) در ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین به چین پوستی بال راست جوجه‌ها تزریق شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سالین به عنوان شاهد به چین پوستی بال چپ تزریق شد. در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق، ضخامت پوست بال با دستگاه میکرومتر (با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) اندازه‌گیری شد و شاخص تحریک میتوژن با تفاضل ضخامت محل تزریق PBS از ضخامت محل تزریق PHA-P محاسبه شد (Grasman, 2010). در ۴۲ روزگی ۲ جوجه از هر تکرار کشتار و اجزای لاشه شامل سینه، ران، بورس، تیموس و چربی بطنی با ترازوی دیجیتال با حساسیت ۰/۱ گرم توزین و نسبت وزن آنها به وزن لاشه محاسبه شد.

نتایج با استفاده از نرم افزار SAS و رویه GLM بر اساس یک طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و برای مقایسه میانگین تیمارها برای صفات مورد نظر از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد ($P<0/05$).

نتایج و بحث

نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف سیلی‌مارین بر میانگین مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد میانگین مصرف خوراک روزانه در دوره آغازین (۱۰-۱روزگی) تحت تاثیر سطوح مختلف سیلی‌مارین قرار نگرفت ($P>0/05$). مقایسه میانگین خوراک مصرفی روزانه در دوره رشد (۲۵-۱۱روزگی) نشان داد که تیمار ۱۶۰ppm سیلی‌مارین با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت ($P>0/05$)، ولی سایر تیمارها باعث کاهش مصرف خوراک شدند ($P<0/05$). بیشترین میانگین مصرف خوراک در این دوره مربوط به تیمار شاهد و تیمار ۱۶۰ ppm سیلی‌مارین بود. مقایسه میانگین خوراک مصرفی روزانه در دوره پایانی (۴۲-۲۶ روزگی) اختلاف معنی‌داری را بین تیمار شاهد با تیماری که ۱۶۰ ppm سیلی‌مارین مصرف کرده بود نشان نداد ($P>0/05$)، ولی با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$). برای خوراک مصرفی

1. Phytohemagglutinin-P

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- اثر سیلی‌مارین بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of silymarin on performance of broiler chicks

	Dietary Silymarin Level (ppm)						SEM
	0	160	200	240	280	320	
Growth periods	Daily feed intake (g)						
Starter (1-10 d)	31.85	31.74	31.59	31.46	31.51	31.54	0.024
Grower (11-25 d)	99.65^{a}	98.82^{a}	97.45^{b}	96.19^{c}	96.47^{bc}	96.50^{bc}	0.237
Finisher (26-42 d)	199.73^{a}	197.52^{ab}	197.25^{bc}	195.02^{bc}	194.80^{c}	195.46^{bc}	0.317
Entire period (1-42 d)	118.38^{a}	117.25^{b}	116.64^{b}	115.34^{c}	115.63^{c}	115.57^{c}	0.198
	Daily weight gain (g)						
Starter (1-10 d)	20.89	21.18	21.85	21.55	21.23	21.31	0.055
Grower (11-25 d)	54.30	55.70	56.47	57.64	57.13	57.21	0.206
Finisher (26-42 d)	91.70	92.47	93.26	92.78	92.93	93.16	0.095
Entire period (1-42 d)	59.27	59.84	60.59	60.76	60.52	60.64	0.199
	Feed conversion ratio						
Starter (1-10 d)	1.52^{a}	1.50^{ab}	1.44^{b}	1.46^{ab}	1.48^{ab}	1.48^{ab}	0.005
Grower (11-25 d)	1.85^{a}	1.77^{ab}	1.72^{ab}	1.68^{b}	1.68^{b}	1.69^{b}	0.011
Finisher (26-42 d)	2.18	2.13	2.11	2.09	2.09	2.10	0.006
Entire period (1-42 d)	2.00^{a}	1.96^{ab}	1.92^{b}	1.90^{b}	1.91^{b}	1.91^{b}	0.007

Means with different superscripts in each row are significantly different (P<0.05)

روزانه در کل دوره آزمایش (۴۲-۱روزگی)، بین تیمار شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵). بیشترین میانگین خوراک مصرفی مربوط به تیمار شاهد و کمترین میانگین مصرف خوراک مربوط به تیمارهایی بود که ۲۴۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ ppm سیلی‌مارین در جیره مصرف کرده بودند.

در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی و کل دوره پرورش مصرف سیلی‌مارین تاثیر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه تیمارهای آزمایشی نداشت (P>۰/۰۵).

در دوره آغازین، ضریب تبدیل خوراک تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری با تیمار ۲۰۰ ppm سیلی‌مارین نشان داد (P<۰/۰۵). در دوره رشد، اختلاف میانگین ضریب تبدیل خوراک بین تیمار شاهد با تیمارهایی که ۱۶۰ و ۲۰۰ppm سیلی‌مارین مصرف کرده بودند معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵)، ولی با تیمارهای ۲۴۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ ppm سیلی‌مارین اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). ضریب تبدیل خوراک در دوره پایانی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). همچنین مقایسه میانگین ضریب تبدیل خوراک در کل دوره بین تیمار شاهد با سایر تیمارها بجز تیمار ۱۶۰ ppm سیلی‌مارین اختلاف معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). بالاترین ضریب تبدیل مربوط به تیمار شاهد و ۱۶۰ ppm سیلی‌مارین بود، بین سایر تیمارهایی که سیلی‌مارین را در جیره دریافت کرده بودند اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

کاهش میزان خوراک مصرفی تیمارهای آزمایشی می‌تواند به دلیل کاهش میزان خوشخوراکی جیره در پی افزودن سیلی‌مارین به جیره باشد (Schiavone *et al.*, 2007). پیامد مهم کاهش مصرف خوراک، کاهش سرعت عبور مواد بلع شده از دستگاه گوارش پرنده است و غذای خورده شده برای مدت بیشتری تحت تاثیر آنزیم‌های ترشحی پانکراس قرار می‌گیرد، در نتیجه قابلیت هضم مواد بلع شده افزایش یافته و جذب حداکثری مواد مغذی رخ می‌دهد (Soto *et al.*, 2003). استفاده از سیلی‌مارین به مقدار ۴۰ و ۸۰ ppm در جیره جوجه‌های گوشتی نژاد راس (Schiavone *et al.*, 2007) و ۴۰۰ppm در جیره مرغان تخم‌گذار (Quarantelli *et al.*, 2005) موجب کاهش خوراک مصرفی شده است.

مصرف سیلی‌مارین اثر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه جوجه‌ها نشان نداد. گزارش شده است که مصرف سیلی‌مارین در جیره جوجه‌های گوشتی راس (Schiavone *et al.*, 2007) و مرغان نژاد لگهورن (Blevins *et al.*, 2010) بر افزایش وزن تاثیری نداشت. همچنین افزودن ۰/۲ و ۱ درصد بذر گیاه ماریتیغال به جیره جوجه‌های گوشتی تاثیر معنی‌داری بر افزایش وزن نداشته است (Suchy *et al.*, 2008).

از آنجاییکه ضریب تبدیل غذایی تابع دو عامل خوراک مصرفی و افزایش وزن است، لذا می‌توان اختلاف موجود بین تیمارهای آزمایشی را در این دو عامل جستجو نمود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- اثر سیلی‌مارین بر تولید و اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of silymarin on carcass yield and part proportions of broiler chicks

Dietary Silymarin level (ppm)	Carcass yield[1]	Breast[2]	Thigh[2]	Bursa of Fabricius[1]	Thymus[1]	Abdominal fat[1]
0	65.17	37.53	32.17	0.147[c3]	0.78	1.96
160	65.36	37.44	32.26	0.162[bc]	0.74	1.88
200	65.76	38.02	32.73	0.186[ab]	0.83	1.92
240	65.89	38.51	32.14	0.197[a]	0.89	1.83
280	67.09	37.83	32.60	0.214[a]	0.86	1.87
320	66.58	37.63	32.25	0.203[a]	0.79	1.91
SEM	0.123	0.066	0.042	0.004	0.009	0.007

1. % of live weight
2. % of carcass weight
Means with different superscripts in each column are significantly different ($P<0.05$)

چون مصرف سطوح مختلف سیلی‌مارین اثر منفی روی افزایش وزن نداشت ولی خوراک مصرفی را کاهش داد لذا بهبود ضریب تبدیل قابل انتظار است. فرآورده‌های گیاهی به صورت رایجی جهت بهبود عملکرد پرندگان بکار برده می‌شوند که این بهبود از طریق تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی و بهبود هضم و جذب مواد مغذی حاصل می‌شود. علاوه بر آن وجود اجزای فنولی در گیاهان باعث کاهش تعداد میکروب‌های بیماری‌زا در روده و ممانعت از اتلاف مواد مغذی شده و بدین ترتیب موجب سلامتی بیشتر روده و بهبود عملکرد تولیدی می‌شوند (Recoquillay, 2006). پیشنهاد شده است که فلاوونوئیدها با اثر روی سلول‌های روده میزان جذب مواد مغذی را افزایش می‌دهند (Morazzoni *et al*., 1992). در یک تحقیق که از سیلی‌مارین به همراه چند عصاره گیاهی دیگر در جیره غذایی خوک‌ها استفاده شده بود، کاهش ضریب تبدیل خوراک مشاهده شد (Urbanczyk *et al*., 2002). نتایج تحقیق حاضر در مغایرت با نتایج Schiavone *et al*. (2007) است که گزارش کردند مصرف سیلی‌مارین بر ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی تاثیری ندارد. این عدم تطابق تحقیق احتمالاً به دلیل مصرف مقادیر پایین‌تر سیلی‌مارین (۴۰ و ۸۰ ppm) در مقایسه با تحقیق حاضر بوده است.

نتایج مربوط به مقایسه سطوح مختلف سیلی‌مارین بر صفات لاشه در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که صفات لاشه شامل بازده لاشه و اوزان نسبی سینه، ران، تیموس و چربی بطنی تحت تاثیر مصرف سیلی‌مارین قرار نگرفتند ($P>0/05$). استفاده از سیلی‌مارین (به‌جز تیمار ۱۶۰ ppm) موجب افزایش وزن نسبی بورس فابریسیوس جوجه‌ها شد ($P<0/05$).

گزارش شده که مصرف ترکیبات فلاوونوئیدی، رشد اندام ایمنی جوجه‌های گوشتی را تحریک کرده و موجب افزایش وزن معنی‌دار آنها شد (Takahashi *et al*., 2000). نتایج به دست آمده در مورد اجزای لاشه در این تحقیق با نتایج Schiavone *et al*. (2007) که گزارش کردند مصرف سیلی‌مارین تاثیری بر نسبت وزن لاشه، سینه، ران و چربی بطنی نداشت مطابقت دارد.

نتایج حاصل از تحلیل داده‌های تاثیر سطوح مختلف سیلی‌مارین بر میانگین تیترهای آنتی‌بادی تام علیه SRBC، IgG و IgM در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۵ دوره پرورش در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج حاصل از مقایسه تیتر آنتی‌بادی تام در ۲۱ روزگی نتوانست اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی نشان دهد ($P>0/05$). در روزهای ۲۸، ۳۵ و ۴۲ دوره پرورش مصرف سیلی‌مارین (بجز تیمار ۱۶۰ ppm) تیتر آنتی‌بادی تام را افزایش داد ($P<0/05$). تیتر IgG در ۲۱ روزگی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0/05$). برای تیتر IgG در ۲۸ روزگی، اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد با تیمارهای ۲۴۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ ppm سیلی‌مارین اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<0/05$). در روزهای ۳۵ و ۴۲ پرورش با مصرف تمام دوزهای سیلی‌مارین تیتر IgG افزایش داشت ($P<0/05$). کمترین تیتر مشاهده شده مربوط به تیمار شاهد و بالاترین تیتر مشاهده شده نیز مربوط به تیمارهای ۲۴۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ ppm سیلی‌مارین بود. نتایج حاصل از مقایسه تیتر IgM در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ پرورش، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($P>0/05$).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- اثر سیلی‌مارین بر میزان تیتر Anti-SRBC تام، IgG و IgM

Table 4. Effect of Sylimarin on total Anti-SRBC, IgG and IgM

Dietary Silymarin level (ppm)	Day 21[1]			Day 28[1]			Day 35[1]			Day 42[1]		
	Total	IgG	IgM	Total	IgG	IgM	Total	IgG	IgM	Total	IgG	IgM
0	2.50	0.25	2.25	3.50^{c}	1.25^{c}	2.25	4.25^{c}	2.25^{c}	2.00	4.75^{c}	3.00^{d}	1.75
160	2.50	0.25	2.25	4.25^{bc}	1.75^{bc}	2.50	5.50^{bc}	3.25^{b}	2.25	5.75^{bc}	3.75^{c}	2.00
200	2.75	0.25	2.50	5.25^{ab}	1.75^{bc}	3.50	6.50^{ab}	3.75^{b}	2.75	6.50^{ab}	4.50^{b}	2.00
240	2.75	0.50	2.25	5.75^{a}	2.25^{ab}	3.50	6.75^{ab}	4.50^{a}	2.25	7.00^{a}	5.25^{a}	1.75
280	3.25	0.50	2.75	6.25^{a}	2.75^{a}	3.50	7.50^{a}	5.00^{a}	2.50	7.50^{a}	6.75^{a}	1.75
320	3.25	0.25	3.00	6.25^{a}	2.75^{a}	3.50	7.25^{a}	4.75^{a}	2.50	7.50^{a}	5.50^{a}	2.00
SEM	0.079	0.040	0.061	0.187	0.102	0.097	0.204	0.174	0.044	0.181	0.180	0.023

1. Means with different superscripts in each column are significantly different (P<0.05)

جدول ۵- اثر سیلی‌مارین بر پاسخ پوست بال به تزریق PHA-P در جوجه‌های گوشتی

Table 5. Effect of Sylimarin on PHA-P stimulation index in broiler chicks

Dietary Silymarin level (ppm)	Stimulation index (mm) 24 h	Stimulation index (mm) 48 h
0	0.76	0.79
160	0.72	0.71
200	0.79	0.83
240	0.87	0.79
280	0.74	0.70
320	0.66	0.63
SEM	0.044	0.014

پاسخ ثانویه آنتی‌بادی علیه SRBC تزریق شده با قدرت بیشتری همراه است زیرا با افزایش سن جوجه‌ها سیستم ایمنی آنها تکامل بیشتری می‌یابد و سلول‌های خاطره تولید شده در پاسخ اولیه موجب تقویت تولید آنتی‌بادی در پاسخ ثانویه می‌شوند. تغییرات تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند در آزمایش‌های مختلف ممکن است تحت تاثیر روش تزریق آنتی‌ژن، سن و زمینه ژنتیکی جوجه‌ها قرار گیرد، به طوریکه گزارش شده تزریق داخل وریدی SRBC تیتر بالاتری نسبت به تزریق داخل عضلانی یا داخل صفاقی آن نشان می‌دهد (Van der Zijpp *et al*., 1986). همچنین نشان داده شده که افزایش دوز مصرف نیز بر تولید آنتی‌بادی اثر داشته و با افزایش درصد SRBC در محلول تزریقی می‌توان تیتر بالاتری را به دست آورد (Kreunkint and Van der Zijpp, 1990). بیان شده است که گیاهان غنی از فلاونوئید و ترکیبات ترپنی با افزایش فعالیت ویتامین C و با اثر ضد باکتریایی خود موجب تقویت سیستم ایمنی و تولید آنتی‌بادی می‌شوند (Cook and Samman, 1996). نتایج تحقیقات نشان داد که گلیکوپروتئین‌ها و مشتقات اسید کافئیک (اسید شیکوریک) و آلکامیدها که در منابع گیاهی یافت می‌شوند توانایی تعدیل و بهبود سیستم ایمنی را دارند و می‌توانند موجب تقویت فعالیت ماکروفاژها شوند (Goel *et al*., 2002). در تحقیقی که به صورت آزمایشگاهی روی سلول‌های انسانی انجام شده مشخص کرد که سیلی‌مارین موجب افزایش فعالیت تکثیری لنفوسیت‌ها شد (Wilasrusmee *et al*., 2002). در تحقیق مربوطه، سیلی‌مارین به‌عنوان تحریک کننده سیستم ایمنی عمل نموده و موجب افزایش میزان اینترفرون گاما (IFN-γ)، اینترلوکین-۴ و افزایش ترشح اینترلوکین-۱۰ شد که در پی آن فعالیت لنفوسیت‌ها تحریک شد. آنتی‌اکسیدان‌ها با دادن الکترون‌های اضافی در طول چرخه‌های تولید انرژی قادر به کنترل و مهار تولید رادیکال‌های آزاد هستند. همچنین از پراکسیداسیون چربی‌های غشا جلوگیری کرده و مانع از تضعیف سیستم ایمنی بدن می‌شوند (Bendich, 1993). در یک بررسی اثر سیلی‌مارین روی فعالیت سوپراکسیددسموتاز داخل سلول‌های اریتروسیت و لنفوسیت بیماران مبتلا به اختلالات کبدی مطالعه و بیان شد که سیلی‌مارین بطور معنی‌داری موجب افزایش فعالیت

Archive of SID

www.SID.ir

سوپراکسیددسموتاز در این سلول‌ها شد. این اثر می‌تواند نشان دهنده فعالت آنتی‌اکسیدانی سیلی‌مارین در حذف رادیکال‌های آزاد، مهار پراکسیداسیون چربی‌ها و نقش محافظتی آن از سلول‌ها باشد (Muzes *et al*., 1991).

نتایج حاصل از تاثیر مصرف سطوح مختلف سیلی‌مارین بر میزان پاسخ ایمنی سلولی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق زیرجلدی PHA-P در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تجزیه داده‌های مربوط به حساسیت پوستی نسبت به PHA-P اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد ($P>۰/۰۵$).

گزارش‌های متعدد در مورد اثر سیلی‌مارین بر سیستم ایمنی بیان کرده‌اند که سیلی‌مارین دارای خاصیت تنظیم کننده سیستم ایمنی است، بدین معنا که بسته به روش بکار بردن و غلظت آن هم می‌تواند خاصیت تحریک‌کنندگی و هم خاصیت مهارکنندگی روی سیستم ایمنی داشته باشد (Gharagozloo *et al*., 2010). عنوان شده است که مصرف سیلی‌مارین در دزهای پایین موجب مهار فعالیت لنفوسیت‌های T می‌شود در حالیکه در دزهای بالا موجب تحریک فرآیند التهاب می‌شود (Johnson *et al*., 2002).

تحقیقات روی مدل‌های انسانی نشان داد که سیلی‌مارین موجب افزایش فعالیت تکثیری لنفوسیت‌ها، ترشح اینترفرون گاما، اینترلوکین-۴ و اینترلوکین-۱۰ شد (Wilasrusmee *et al*., 2002). در مقابل تحقیقاتی که در محیط آزمایشگاهی و روی سلول‌های موش مبتلا به هپاتیت انجام گرفت مشخص کرد که سیلی‌مارین از فعالیت القایی PHA-P روی لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک آسیب‌رسان به کبد جلوگیری نموده و همچنین موجب مهار عامل نکروز تومور (TNF[1]) و اینترفرون گاما در سلول‌های کبدی می‌شود (Schumann *et al*., 2003). گزارش شده که سیلی‌بین که بخش اصلی تشکیل دهنده سیلی‌مارین است از فعالیت تکثیری لنفوسیت‌های T هنگامی که در محیط آزمایشگاهی در معرض مواد میتوژن از جمله PHA، ConA [2] و PWM[3] قرار می‌گیرد ممانعت می‌کند (Meroni *et al*., 1988)، که این عمل احتمالاً مربوط به خواص ضد التهابی سیلی‌مارین است (Morazzoni *et al*., 1992).

نتیجه‌گیری

در کل نتایج این تحقیق تاثیر مثبت استفاده از سیلی‌مارین در جیره را بر ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی از خود نشان داد. مصرف سیلی‌مارین همچنین موجب تقویت پاسخ‌های ایمنی هومورال شد. با توجه به این که مقادیر ۲۴۰، ۲۸۰ و ۳۲۰ ppm اثرات مشابهی را از خود نشان دادند، لذا مقدار ۲۴۰ ppm در جیره توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

از شرکت داروسازی گل دارو به خاطر تامین سیلی‌مارین مورد نیاز این تحقیق کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

1. Tumor Necrosis Factor
2. Concanavalin
3. Pokeweed Mitogen

Archive of SID

www.SID.ir

فهرست منابع

تیموری‌زاده ز.، رحیمی ش.، کریمی ترشیزی م. ا. و امیدبیگی ر. ۱۳۸۸. مقایسه اثر عصاره‌های آویشن(*Thymus vulgaris L.*)، سرخارگل(*Echinacea purpurea* (L.) Moench.)، سیر(*Allium sativum L.*) و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر جمعیت میکروفلور روده و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۵ (۱): ۳۹-۴۸.

زرگری ع. ۱۳۷۶. گیاهان دارویی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. چاپ پنجم، جلد سوم، صفحه: ۲۴-۳۸.

Agarwal R. Agarwal C. H., Ichikaw H. and Singh R. P. 2006. Anticancer potential of Silymarin: From bench to bed side (Review). Anticancer Research, 26: 4457-4498.

Basiglio C. L., Sanchez Pozzi E. J., Mottino A. D. and Roma M. G. 2009. Differential effects of Silymarin and its active component silibinin on plasma membrane stability and hepatocellular lysis. Chemico-Biological Interaction, 179: 297-303.

Bendich A. 1993. Physiological role of antioxidant in the immune system. Journal of Dairy Science, 76: 2789-2794.

Blevins S., Siegel P. B., Blodgett D. J., Ehrich M., Saunders G. K. and Lewis R. M. 2010. Effects of Silymarin on gossypol toxicosis in divergent lines of chickens. Poultry Science, 89: 1878-1886.

Cook N. C. and Samman S. 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardio protective effects, and dietary sources. The Journal of Nutritional Biochemistry, 7: 66-76.

Feher J., Lang I., Nekam K., Csomos G., Muzes G. and Deak G. 1987. Effect of silibinin on the activity and expression of superoxide dismutase in lymphocytes from patients with chronic alcoholic liver disease. Free Radical Research Communical, 3: 373-377.

Gawe A., Kotonski B., Madej J. A. and Mazurkiewicz M. 2003. Effect of silymarin on chicken and turkey broilers' rearing and the production indices of reproduction hen flocks. Medycyna Weterynaryjna, 59 (6): 517-520.

Gharagozloo M., Velardi E., Bruscoli S., Agostini, M., Di Sante M., Donato V., Amirghofran Z. and Riccardi C. 2010. Silymarin suppress CD4+ T cell activation and proliferation: Effects on NF-B activity and IL-2 production. Pharmacological Research, 61: 405-409.

Goel V., Chang C., Slama J. V., Barton R., Bauer R., Gahler R. and Basu T. K. 2002. Alkylimids of *Echinacea purpurea* stimulate alveolar macrophage function in normal rats. International Journal of Immunopharmacology, 2(3): 381-387.

Grasman K. A. 2010. In vivo functional tests for assessing immunotoxicity in birds (Ed.), Immunotoxicity testing: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology (pp. 387-397). Humana Press, Product.

Johnson V. J., Osuchowski M. F., He, Q. and Sharma R. P. 2002. Physiological responses to a natural antioxidant flavonoids mixture, Silymarin, in BALB/c mice: II Alterations on thymic differentiation correlate with changes in c-myc gene expression. Planta Medica, 68 (11): 289-296.

Kreunkinet M. and Van der Zijpp I. 1990. Effect of different dose of sheep erythrocytes on the humoral immune response of chicken lines selected for high or low antibody production. Poultry Science, 69: 608-614.

Kvasnicka F., Biba B., Sevcik R., Voldrich M. and Kratka J. 2003. Analysis of the active components of Silymarin. Journal of Chromatography, 990: 239-245.

Meroni P. L., Barcellini W., Borghi M. O., Vismara A., Ferraro G., Ciani D. and Zanussi C. 1988. Silybin inhibition of human T-lymphocyte activation. International Journal of Tissue Reactions, 10(3): 177-181.

Morazzoni P., Magistretti M. J., Giachetti C. and Zanolo G. 1992. Comparative bioavailability of Silipide, a new flavanolignan complex, in rats. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 17: 39-44.

Muzes G., Deak G., Lang I., Nekam K., Gergely P. and Feher J. 1991. Effect of the bioflavonoid Silymarin on the in vitro activity and expression of superoxide dismutase (SOD) enzyme. Acta Physiologica Hungarica, 78: 3-9.

Quarantelli A., Righi F., Bonomi A., Renzi M., Bruni R. and Fusari A. 2005. La silimarina nell'alimentazione delle galline ovaiole. Congresso della Societa` Italiana, 5 Jun. Italia, pp. 463-464.

Recoquillay F. 2006. Active plant extracts show promise in poultry production. Poultry International, 45 (2): 28-30.

Schiavone A., Righi F., Quarantelli A., Bruni R., Serventi P. and Fusari A. 2007. Use of *Silybum marianum* fruit extract in broiler chicken nutrition: influence on performance and meat quality. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 91: 256-262.

Schumann J., Prockl J., Kiemer A. K., Vollmar A. M., Bang R. and Tiegs G. 2003. Silibinin protects mice from T cell-dependent liver injury. Journal of Hepatology, 39(3): 333-340.

Soto C., Recoba R., Barron H., Alvarez C. and Favari L. 2003. Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology and Pharmacology, 136: 205-212.

Archive of SID

www.SID.ir

Suchy P., Strakova E., Kummer V., Herzig I. and Blechova E. 2008. Hepatoprotective effects of milk thistle (*Silybum marianum*) seed cakes during the chicken broiler fattening. Acta Veterinaria Brno, 77: 31-38.

Takahashi K., Mashiko T. and Akiba Y. 2000. Effect of dietary concentration of xylitol on growth in male broiler chicks during immunological stress. Poultry Science, 79: 743-747.

Tedesco D., Steidler S., Galletti S., Tameni M., Sonzogni O. and Ravarotto L. 2004. Efficacy of Silymarin-phospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B[1] in broiler chicks. Poultry Science, 83(11): 1839-1843.

Urbanczyk J., Hanczakowska E. and Swiatkiewicz M. 2002. Herb mixture as an antibiotic substitute in pig feeding. Medycyna Weterynaryjna, 58 (11): 887-889.

Van der zijpp, A. J., Scott T. R. and Glick B. 1986. The effect of different routes of antigen administration on the humoral immune response of the chicks. Poultry Science, 65: 809-811.

Vogle G. 1979. Studies on pharmacodynamics, site and mechanism of action of silymarin the antihepatotoxic principale from *Silybum marianum (L.) Gaert.* Arzneim Forsch, 25: 179-185.

Wilasrusmee C., Kittur S., Shah G., Siddiqui J., Bruch D. and Wilasrusmee S. K. 2002. Immunostimulatory effect of *Silybum marianum* (milk thistle) extract. Medical Science Monitor, 8(11): 439-443.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of Silymarin on performance and immune responses of broilers

A. R. Mojahedtalab[1], M. Mohammadi[2*], M. Roostaei–Ali Mehr[3], M. Asadi[4]

1. Graduated M.S. Student, Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Guilan
2. Associated professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Guilan
3. Assistant professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Guilan
4. Graduated M.S. Student, Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Guilan

(Received: 22-5-2013- Accepted: 26-10-2013)

Abstract

The effects of different levels of Silymarin were studied on performance and immune responses in 288 one-day chicks (Cobb 500) in a completely randomized design with 6 treatments and 4 replicates and 12 observations per replicate. The treatment groups received 0 (Control), 160, 200, 240, 280 and 320 ppm of Silymarin in diet, respectively during days 3 to 42. Daily feed intake, daily body weight gain and feed conversion ratio (performance) were measured. The birds were immunized with sheep red blood cells (SRBC) on days 8 and 22 of age and serum antibody levels produced in response to SRBC were measured on days 21, 28, 35 and 42 by hemagglutination assay. Skin response to phytohemagglutinin-P (PHA-P) injected intradermally on day 16 were measured 24 and 48 h after injection. The results indicated that consumption of 200, 240, 280 and 320 ppm Silymarin reduced feed intake and feed conversion rate ($P<0.05$), but they did not affect on daily weight gain ($P>0.05$). The levels of 200, 240, 280 and 320 ppm Silymarin were increased total Anti-SRBC and IgG titer in experimental groups compared to control group ($P<0.05$), but IgM titer and skin response against PHA-P were not affected by Silymarin ($P>0.05$). It is concluded that the continuum consumption of 200, 240, 280 and 320 ppm Silymarin improved performance and increased humoral immunity in broilers.

Key words: Broiler, Immune responses, Performance, *Silybum marianum*, Silymarin

Archive of SID

*Corresponding author: mohammadi@guilan.ac.ir

www.SID.ir