

## تأثیر پروبیوتیک و روغن دانه گیاه دارویی کدو تخم کاغذی (*Cucurbita pepo* L. convar. *pepo* var. *styriaca*) بر صفات تولیدی، فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

داریوش خادمی شورمستی<sup>۱\*</sup>، فرید شریعتمداری<sup>۲</sup> و محمد امیر کریمی ترشیزی<sup>۳</sup>

\*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران، پست الکترونیک: dkhademi@gmail.com

۲- استاد، گروه علوم طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۸

تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۸

### چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر پروبیوتیک بر صفات تولیدی، فراسنجه‌های خونی، لیپوپروتئین‌های سرمی و پاسخ ایمنی خونی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با روغن دانه کدو تخم کاغذی (*Cucurbita pepo* L. convar. *pepo* var. *styriaca*) انجام شد. تعداد ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه سویه تجاری آرین در آزمایش فاکتوریل ۲×۳، با دو منبع روغن گیاهی (کانولا و کدو تخم کاغذی) و سه نوع افزودنی (فاقد افزودنی، پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار به طور تصادفی بین واحدهای آزمایشی توزیع شدند. نتایج نشان داد استفاده از پروبیوتیک همراه با منابع روغن گیاهی اثر منفی بر صفات تولیدی شامل وزن نسبی لاشه، سینه، ران، چربی شکمی، درصد زنده‌مانی و ضریب تبدیل غذایی نداشت. درصد هماتوکریت خون در جوجه‌های دریافت‌کننده افزودنی در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود ( $P < 0.05$ ). اثر منبع روغن و افزودنی بر سایر فراسنجه‌های خونی شامل پروتئین تام، گلوکز و اسید اوریک از نظر آماری معنی‌دار نبود. استفاده از روغن دانه کدو تخم کاغذی به طور معنی‌داری موجب کاهش تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم (VLDL) و افزایش کلسترول کل و لیپوپروتئین با چگالی زیاد (HDL) شد ( $P < 0.05$ ). اثر منبع روغن بر لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) از نظر آماری معنی‌دار نبود. کمترین مقادیر تری‌گلیسرید، کلسترول کل، HDL و VLDL در جوجه‌های تغذیه شده با روغن دانه کدو تخم کاغذی به همراه ویرجینامایسین دیده شد ( $P < 0.05$ ). بیشترین مقدار تری‌گلیسرید در جوجه‌های تغذیه شده با روغن کانولا به همراه آنتی‌بیوتیک دیده شد ( $P < 0.05$ ). اثر منبع روغن و نوع افزودنی بر پاسخ ایمنی خونی و وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی از نظر آماری معنی‌دار نبود. به طور کلی می‌توان گفت استفاده از روغن دانه کدو تخم کاغذی، موجب بهبود نسبی لیپوپروتئین‌های سرم شد. از سوی دیگر، کارایی افزودنی‌ها به نوع روغن (الگوی اسید چرب) مورد استفاده در جیره بستگی دارد.

واژه‌های کلیدی: ایمنی خونی، پروبیوتیک، کدو تخم کاغذی (*Cucurbita pepo* L. convar. *pepo* var. *styriaca*)، لیپوپروتئین، ویرجینامایسین.

**مقدمه**

گیاه دارویی کدو تخم‌کاغذی (*Cucurbita pepo* convar. *pepo* var. *styriaca*) جزء خانواده کوکوربیتاسه می‌باشد که گیاهانی علفی دارای ساقه خزننده و گل‌های زرد رنگ هستند. ۳ گونه از این جنس شامل ماکسیمما، موسکادا و پیو از اهمیت بیشتری برخوردارند (Azadbakht, 2007). اسیدهای چرب غالب در نمونه‌های روغن تخم کدو به ترتیب شامل اسید لینولئیک و اسید اولئیک می‌باشند (Nederal et al., 2014). اسید لینولئیک، اسید چرب ضروری در غشاهای سلولی، ویتامین D و هورمون‌های مختلف می‌باشد. توکوفرول‌ها عمده‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های چربی‌دوست در دانه کدو تخم‌کاغذی و روغن حاصل است (Murkovic et al., 1999). فیتواستروژن اصلی شناسایی شده در کدو، سکویزولاریکی‌رزینول (Secoisolariciresinol) است. این ماده بر غلظت کلسترول سرم مؤثر بوده و از طریق افزایش توسعه عروق خونی نقش حفاظت قلبی دارد (Penumathsa, et al., 2007). از این رو روغن تخم کدو یک منبع عالی از مولکول‌های فعال زیستی و اسیدهای چرب غیر اشباع بوده و می‌تواند به‌عنوان نگهدارنده و ترکیب‌های کاربردی مورد توجه قرار گیرد (Francesco et al., 2016).

به‌دنبال ممنوعیت استفاده از افزودنی‌های خوراکی آنتی‌بیوتیکی محرک رشد در جیره طیور، پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یکی از جایگزین‌های این ترکیب‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند. پروبیوتیک‌ها، کشت میکروبی زنده‌ای هستند که می‌توانند با ایجاد تعادل در جمعیت میکروبی روده و مقابله با میکروب‌های بیماری‌زا برای میزبان سودمند باشند (Havenaar et al., 1992). لاکتوباسیل‌ها که عمده باکتری‌های مورد استفاده در تهیه پروبیوتیک‌ها هستند، عامل اصلی هیدرولیز نمک‌های صفراوی می‌باشند (Tannock et al., 1989). از این رو بکارگیری پروبیوتیک‌ها ممکن است سبب کاهش قابلیت هضم چربی جیره شود. نشان داده شده که استفاده از پروتکسین در جیره‌های حاوی چربی تأثیر

منفی بر قابلیت هضم مواد مغذی و رشد دارد (Sharifi et al., 2012). از سوی Jafari Ahangari و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که پروبیوتیک سبب افزایش معنی‌دار تیترا آنتی‌بادی علیه گامبرو و نیوکاسل می‌گردد.

چربی جیره می‌تواند ترکیب خون و سطوح لیپوپروتئین‌های سرم را متأثر کند. در طیور لیپیدهای موجود در جیره غذایی همراه با لیپیدهای سنتز شده در کبد از طریق لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار کم به گردش خون راه می‌یابند و وظیفه انتقال لیپید به بافت را به‌عهده دارند. لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL) کلسترول آزاد را از گردش خون حذف و آن را به سمت استفاده دوباره یا دفع کبدی هدایت می‌کنند. برخی نتایج نشان می‌دهد که بین غلظت لیپیدهای سرم، به‌ویژه لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) و بیماری‌های قلبی و عروقی در انسان یک رابطه خطی وجود دارد و در مقابل بالا رفتن HDL یک عامل محافظت‌کننده است (Qureshi & Dinzz, 1983). تجویز عصاره تخم کدو به‌طور معنی‌داری کلسترول کل، تری‌گلیسرید و LDL سرم جوجه‌های گوشتی را کاهش و در همین زمان به‌طور مشخصی سطوح انسولین و HDL را افزایش داد. همچنین اسیدهای چرب ممکن است پاسخ ایمنی را از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تعدیل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش تغییر دهند (Sharma et al., 2013).

این تحقیق به‌منظور بررسی بیشتر کارایی ترکیب‌های زیست فعال و الگوی اسیدهای چرب روغن دانه کدو تخم‌کاغذی بر صفات تولیدی، برخی فراسنجه‌های خونی، غلظت لیپوپروتئین‌های سرمی، پاسخ ایمنی خونی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره محتوی منابع روغن گیاهی، آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک اجرا شد.

**مواد و روش‌ها**

تعداد ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه (به تعداد مساوی نر و ماده) سویه تجاری آرین در آزمایش فاکتوریل

میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری تخلیه و همراه با یخ به آزمایشگاه منتقل و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد تا پلاسما جدا شود. پلاسما در میکروتیوب‌های جدید منتقل و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. فراسنجه‌های خونی با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت‌های تشخیصی تهیه شده از شرکت‌های پارس آزمون (تری‌گلیسرید) و زیست شیمی (کلسترول کل، HDL، پروتئین کل و گلوکز، اسید اوریک) اندازه‌گیری شدند. برای محاسبه لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم (VLDL) از تقسیم میزان تری‌گلیسرید نمونه به عدد ۵ استفاده و LDL از طریق تفریق مقادیر کلسترول کل از مجموع HDL و VLDL محاسبه شد (Friedwald *et al.*, 1972). برای اندازه‌گیری هماتوکریت، خون پرنده‌ها به لوله‌های موین هپارین‌دار مخصوص اندازه‌گیری هماتوکریت از طریق مایل نگهداشتن لوله‌ها منتقل شد. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شده، سپس به وسیله خط‌کش مخصوص هماتوکریت به صورت درصد اندازه‌گیری گردید.

برای ارزیابی سیستم ایمنی خونی، در روزهای ۲۱ و ۳۵ دوره پرورش، به دو قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون گلوبول قرمز خون گوسفندی (SRBC) ۵٪ در بافر فسفات استریل از طریق عضله سینه تزریق شد و ۷ روز بعد از تزریق، از طریق ورید بالی یک میلی‌لیتر خونگیری شد و به ترتیبی که گفته شد به آزمایشگاه منتقل و نگهداری گردید (Mehrabadi *et al.*, 2011). سرم‌ها پس از یخ‌گشایی برای خنثی شدن سیستم کمپلمان و عدم تداخل با پادتن ضدگلوبول قرمز گوسفند به مدت سی دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شد. برای تعیین تیتراژ از روش هموگلوبیناسیون میکروتیتر استفاده شد (Wegmann & Smithies, 1966). نسبت هتروفیل به لنفوسیت با تهیه گسترش از نمونه خون پرنده‌ها در پایان دوره و شمارش تعداد لنفوسیت‌ها و هتروفیل‌ها به وسیله میکروسکوپ با

۲×۳، با دو منبع روغن گیاهی (کانولا (شرکت غنچه) و کدو تخم‌کاغذی (کشت و صنعت گلکاران کاشان) و سه نوع افزودنی (فاقد افزودنی، پروبیوتیک (باکتوسل (پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی) با غلظت ۱۰×۱۰<sup>۹</sup> cfu/g باکتری (ساخت شرکت لالمنند، فرانسه) و آنتی‌بیوتیک (ویرجینامایسین ۱۰٪) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار به‌طور تصادفی بین واحدهای آزمایشی توزیع شدند. برنامه تغذیه‌ای براساس توصیه دفترچه راهنمای پرورش سویه آرین شامل جیره آغازی (۱۴-۱ روزگی: ۲۸۵۱ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی متابولیسمی و ۲۲/۲۳٪ پروتئین خام)، رشدی (۲۸-۱۵ روزگی: ۲۹۳۷ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی متابولیسمی و ۲۰/۳۹٪ پروتئین خام) و پایانی (۴۲-۲۹ روزگی: ۲۹۶۵ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی متابولیسمی و ۱۸/۵۰٪ پروتئین خام) بود. برای تهیه جیره‌های آزمایشی، در جیره پایه مربوط به هر دوره، از روغن‌های کانولا و یا کدو تخم‌کاغذی به‌عنوان منابع روغن گیاهی (آغازی: ۱/۶٪، رشدی: ۲/۱٪ و پایانی: ۲٪) استفاده شد و براساس تیمارهای آزمایشی و تا پایان دوره رشدی، مقدار ۰/۱ گرم در کیلوگرم باکتوسل و ۰/۱۵ گرم در کیلوگرم ویرجینامایسین به آنها افزوده شد. مدیریت بهداشتی و پرورشی مطابق با استانداردهای معمول اعمال شد. مصرف خوراک و افزایش وزن هفتگی اندازه‌گیری و ضریب تبدیل غذایی محاسبه گردید. تلفات روزانه جمع‌آوری و پس از توزین، معدوم شدند. در پایان دوره ۴۲ روزه، از هر واحد پرورشی یک قطعه خروس با وزن نزدیک به میانگین وزن واحد آزمایشی انتخاب، توزین و به‌روش قطع رگ گردنی کشتار شد. بعد از کشتار وزن قسمت‌های مختلف لاشه، برخی اندام‌های داخلی و چربی محوطه بطنی اندازه‌گیری شد و وزن نسبی آنها به‌عنوان نسبتی از وزن زنده محاسبه گردید.

در پایان دوره پرورش، از ورید بالی دو پرنده از هر واحد آزمایشی، با استفاده از سرنگ یک‌بار مصرف پلاستیکی آغشته به ماده ضد انعقادی خونگیری، به

### نتایج

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات لاشه و صفات تولیدی که در جدول ۱ آمده، نشان داد با وجود بهبود نسبی این صفات در جوجه‌های تغذیه شده با روغن دانه کدو تخم‌کاغذی، تفاوت‌های موجود از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین استفاده از پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک در جیره نیز تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات مذکور نداشتند ( $P > 0.05$ ).

تأثیر منابع روغن گیاهی مورد استفاده در جیره بر فراسنجه‌های خونی مورد مطالعه که در جدول ۲ آمده نشان داد که تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین استفاده از پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک در جیره، موجب تأثیر معنی‌دار بر مقادیر پروتئین تام، گلوکز و اسید اوریک خون نشد ( $P > 0.05$ ). از سویی، استفاده از باکتوسل به‌طور معنی‌داری موجب کاهش درصد هماتوکریت شد ( $P < 0.05$ ).

بزرگنمایی ۱۰۰ و با استفاده از رنگ‌آمیزی گیمسا بدست آمد (Gross & Siegel, 1983).

داده‌های جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار آماری SAS و با استفاده از رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و بررسی معنی‌دار بودن اختلافات بین میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد (SAS, 2002). مدل آماری طرح به‌شرح ذیل بود.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$$

در این رابطه  $Y_{ijk}$ : مقدار هر مشاهده،  $\mu$ : میانگین جامعه،  $\alpha_i$ : اثر نوع روغن،  $\beta_j$ : اثر نوع افزودنی،  $\alpha\beta_{ij}$ : اثر متقابل روغن با افزودنی و  $e_{ijk}$ : خطای آزمایشی می‌باشد.

جدول ۱- تأثیر تیمارهای آزمایشی روی خصوصیات لاشه و صفات تولیدی (%)

منابع تغییرات	لاشه	ران	سینه	چربی بطنی	ضریب تبدیل غذایی	زنده‌مانی
اثر منبع چربی						
کانولا	۶۱/۰۴	۱۸/۷۹	۱۹/۸۲	۱/۳۴۴	۱/۹۶	۹۶/۸۰
تخم کدو	۶۱/۵۳	۱۹/۰۸	۲۰/۴۲	۱/۳۱۶	۱/۹۵	۹۸/۱۹
اشتباه معیار میانگین	۰/۴۴	۰/۲۹	۰/۳۶	۰/۱۱۵	۰/۰۲۶	۰/۷۰۷
اثر افزودنی						
بدون افزودنی	۶۱/۴۰	۱۹/۰۶	۱۹/۶۰	۱/۰۸۸	۱/۹۴	۹۷/۴۵
باکتوسل	۶۱/۴۸	۱۹/۲۱	۲۰/۳۱	۱/۳۵۶	۱/۹۶	۹۷/۱۳
ویرجینامایسین	۶۰/۹۸	۱۸/۵۳	۲۰/۴۴	۱/۵۴۶	۱/۹۸	۹۷/۹۰
اشتباه معیار میانگین	۰/۵۳	۰/۳۵	۰/۴۵	۰/۱۴۱	۰/۰۳۲	۰/۸۶۷
سطح معنی‌داری						
اثر منبع چربی	۰/۵۵	۰/۲۸	۰/۴۷	۰/۰۶	۰/۷۹	۰/۱۸
اثر افزودنی	۰/۶۰	۰/۲۶	۰/۳۹	۰/۰۷	۰/۶۷	۰/۸۲
اثرهای متقابل	۰/۴۱	۰/۱۲	۰/۳۸	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۶۳

جوجه‌های گوشتی مؤثر است. جوجه‌های تغذیه شده با روغن دانه کدو تخم‌کاغذی به‌طور معنی‌داری دارای مقادیر تری‌گلیسرید و VLDL پایین‌تر، کلسترول کل و HDL بالاتری بودند ( $P < 0.05$ ). البته تفاوت آماری معنی‌داری در محتوای LDL خون جوجه‌های تغذیه شده با منابع روغن مورد استفاده دیده نشد.

تفاوت معنی‌داری در میزان درصد هماتوکریت خون جوجه‌های تغذیه شده با ویرجینامایسین در مقایسه با گروه شاهد دیده نشد.

از داده‌های جدول ۳ چنین استنباط می‌شود که منبع روغن گیاهی و افزودنی مورد استفاده و اثرهای متقابل آنها، به‌طور معنی‌داری بر مقادیر لیپید و لیوپروتئین‌های خون

جدول ۲- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر برخی فراسنجه‌های خونی در ۴۲ روزگی

منابع تغییرات	هماتوکریت (%)	پروتئین کل (g/dL)	گلوکز (mg/dL)	اسید اوریک (mg/dL)
اثر منبع چربی				
کانولا	۳۴/۰۴	۳/۹۴	۲۱۷/۰۷	۶/۵۴
تخم کدو	۳۵/۰۸	۴/۰۶	۲۳۹/۵۶	۴/۵۶
اشتباه معیار میانگین	۰/۸۱	۰/۱۷	۱۰/۰۱	۱/۱۰
اثر افزودنی				
بدون افزودنی	۳۶/۷۵a	۴/۳۴	۲۲۳/۹۹	۶/۰۷
باکتوسل	۳۳/۰۰b	۳/۹۴	۲۳۹/۱۰	۷/۹۲
ویرجینامایسین	۳۳/۹۴ab	۳/۷۳	۲۲۱/۸۶	۵/۶۶
اشتباه معیار میانگین	۰/۹۹	۰/۲۱	۱۲/۲۵	۱/۳۵
سطح معنی‌داری				
اثر منبع چربی	۰/۱۲	۰/۲۳	۰/۱۱	۰/۵۶
اثر افزودنی	۰/۰۰۳	۰/۷۲	۰/۲۵	۰/۶۶
اثرهای متقابل	۰/۰۵۵	۰/۹۵	۰/۱۷	۰/۳۰

استفاده از آنتی‌بیوتیک، به‌طور معنی‌داری موجب کاهش محتوای کلسترول کل و HDL و افزایش تری‌گلیسرید و VLDL شد. این در حالیست که کمترین مقادیر تری‌گلیسرید و VLDL در خون جوجه‌های تغذیه شده با پروبیوتیک گزارش شد. همچنین استفاده از پروبیوتیک موجب افزایش معنی‌دار محتوای LDL شد. نتایج نشان داد که بیشترین مقادیر لیپید و لیوپروتئین‌های خون در جوجه‌هایی دیده شد که در جیره خود از هیچ‌یک

نتایج اثرهای متقابل استفاده از منابع روغن و افزودنی در جدول ۳ نشان داد که استفاده از روغن کدو تخم‌کاغذی به همراه آنتی‌بیوتیک به‌طور معنی‌داری موجب کاهش مقادیر کلسترول کل، تری‌گلیسرید، HDL و VLDL شد. همچنین بیشترین مقادیر تری‌گلیسرید و VLDL زمانی دیده شد که آنتی‌بیوتیک به همراه روغن کانولا مورد استفاده قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). مقدار LDL تحت تأثیر معنی‌دار اثرهای متقابل منابع روغن و افزودنی قرار نگرفت.

از افزودنی‌ها استفاده نکردند ( $P < 0.05$ ). نشان داد که منابع روغن گیاهی و افزودنی‌های مورد استفاده و نیز اثرهای متقابل استفاده از آنها تأثیر معنی‌داری بر صفات مورد مطالعه نداشت ( $P > 0.05$ ).

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر لیپید و لیپوپروتئین‌های خون در ۴۲ روزگی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)

VLDL	LDL	HDL	تری‌گلیسرید	کلسترول کل	منابع تغییرات
اثر منبع چربی					
۲۴/۰۷ a	۱۳/۹۳	۷۰/۶۷ b	۱۲۰/۳۳ a	۱۰۸/۶۷ b	کانولا
۱۸/۴۰ b	۱۴/۶۰	۸۳/۶۷ a	۹۲/۰۰ b	۱۱۶/۶۷ a	تخم کدو
۰/۵۲	۱/۴۱	۰/۶۱	۲/۶۲	۱/۲۵	اشتباه معیار میانگین
اثر افزودنی					
۲۱/۱۰ ab	۱۶/۴۰ a	۸۶/۰۰ a	۱۰۵/۵۰ ab	۱۲۳/۵۰ a	بدون افزودنی
۱۹/۹۰ b	۱۶/۶۰ a	۷۹/۵۰ b	۹۹/۵۰ b	۱۱۶/۰۰ b	باکتوسل
۲۲/۷۰ a	۹/۸۰ b	۶۶/۰۰ c	۱۱۳/۵۰ a	۹۸/۵۰ c	ویرجینامایسین
۰/۶۴	۱/۷۲	۰/۷۴	۳/۲۰	۱/۵۴	اشتباه معیار میانگین
اثرهای متقابل					
۲۰/۴۰ c	۱۷/۶۰	۶۸/۰۰ d	۱۰۲/۰۰ c	۱۰۶/۰۰ c	کانولا
۲۲/۰۰ b	۱۵/۰۰	۷۴/۰۰ c	۱۱۰/۰۰ b	۱۱۱/۰۰ c	کانولا × باکتوسل
۲۹/۸۰ a	۹/۲۰	۷۰/۰۰ d	۱۴۹/۰۰ a	۱۰۹/۰۰ c	کانولا × ویرجینامایسین
۲۱/۸۰ b	۱۵/۲۰	۱۰۴/۰۰ a	۱۰۹/۰۰ b	۱۴۱/۰۰ a	تخم کدو
۱۷/۸۰ cd	۱۸/۲۰	۸۵/۰۰ b	۸۹/۰۰ dc	۱۲۱/۰۰ b	تخم کدو × باکتوسل
۱۵/۶۰ d	۱۰/۴۰	۶۲/۰۰ e	۷۸/۰۰ d	۸۸/۰۰ d	تخم کدو × ویرجینامایسین
۰/۹۱	۲/۴۴	۱/۰۵	۴/۵۳	۲/۱۷	اشتباه معیار میانگین
سطح معنی‌داری					
۰/۰۰۹۵	۰/۵۷۰۶	۰/۰۰۴۲	۰/۰۰۲۰	۰/۰۰۰۱	اثر منبع چربی
۰/۰۰۱۰	۰/۰۱۸	۰/۰۰۳۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	اثر افزودنی
۰/۰۰۰۱	۰/۲۴۰۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۸	۰/۰۰۱۰	اثرهای متقابل

abc: حروف نامشابه در هر ستون و در هر اثر نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلافات در سطح ( $P < 0.05$ ) می‌باشد.

## بحث

شده با دانه پرچرب آفتابگردان ضریب تبدیل بهتری نسبت به گروه شاهد داشت و پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی نداشت (Torki & Alizadeh, 2007). از سویی، گزارش شد افزودن پروبیوتیک در جیره‌های حاوی پودر چربی، عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی را بهبود می‌بخشد و اثرهای مثبتی بر خصوصیات لاشه با کاهش چربی محوطه بطنی و سطح کلسترول خون داشت (Abdelrahman, 2013). دلیل اختلاف در نتایج را می‌توان به سویه باکتریایی پروبیوتیک‌ها، تک‌سویه یا چندسویه بودن باکتری‌ها، ترکیب‌های دیگر جیره و ترکیب‌های استفاده شده به‌طور همزمان با مکمل‌های پروبیوتیکی مرتبط دانست. از این رو ضروریست که در تعمیم نتایج تحقیقات، سویه‌های باکتریایی پروبیوتیک و ترکیب‌های جیره مورد توجه قرار گیرد.

در بررسی انواع و سطوح مختلف روغن‌های گیاهی بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی، همسو با نتایج این تحقیق، Nobakht و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند انواع و سطوح مختلف روغن‌های گیاهی تأثیر معنی‌داری بر اجزای مختلف لاشه نداشت. همچنین عدم تأثیر معنی‌دار پروبیوتیک، آنتی‌بیوتیک و گیاه دارویی بر بازده لاشه، وزن نسبی سینه و ران گزارش شده است (Yakhkeshi *et al.*, 2012). از سویی، Jafari Ahangari و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که چربی محوطه بطنی در جوجه‌های استفاده کننده از پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده توأم پروبیوتیک و چربی تأثیر منفی بر عملکرد و صفات تولیدی نداشت. در تطابق با نتایج این آزمایش گزارش شد که جوجه‌های تغذیه

جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی خونی و وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی

منابع تغییرات	تیترا آنتی‌بادی علیه SRBC		نسبت هتروفیل به لنفوسیت	تیموس (%)	طحال (%)	بورس (%)
	۲۸ روزگی	۴۲ روزگی				
اثر منبع روغن						
کانولا	۱/۷۹۲	۳/۲۹۲	۰/۱۲۲	۰/۰۷۹	۰/۱۳۸	۰/۱۶۰
تخم کدو	۱/۵۸۳	۳/۲۰۸	۰/۰۸۶	۰/۰۸۰	۰/۱۲۷	۰/۱۷۹
اشتباه معیار میانگین	۰/۲۲۱	۰/۳۹۳	۰/۰۲۹	۰/۰۰۴	۰/۰۱۳	۰/۰۱۶
اثر افزودنی						
بدون افزودنی	۱/۹۳۸	۳/۲۵۰	۰/۱۰۴	۰/۰۷۷	۰/۱۵۵	۰/۱۷۹
باکتوسل	۲/۰۰۰	۳/۴۳۷	۰/۰۸۸	۰/۰۸۱	۰/۱۲۶	۰/۱۸۳
ویرجیناماسین	۱/۱۲۵	۳/۰۶۳	۰/۱۱۹	۰/۰۸۰	۰/۱۱۷	۰/۱۴۶
اشتباه معیار میانگین	۰/۲۷۱	۰/۴۸۱	۰/۰۳۵	۰/۰۰۴	۰/۰۱۶	۰/۰۱۹
سطح معنی‌داری						
اثر منبع روغن	۰/۵۱	۰/۸۸	۰/۳۷	۰/۴۰	۰/۵۳	۰/۳۸
اثر افزودنی	۰/۰۶	۰/۸۶	۰/۸۱	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۳۳
اثرهای متقابل	۰/۱۲	۰/۴۰	۰/۴۷	۰/۷۳	۰/۲۲	۰/۹۰

البته عدم تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی، ممکن است به علت شرایط محیطی آزمایشی باشد. این آزمایش در محیطی با رعایت کلیه نکات بهداشتی و تراکم مطلوب گله انجام شد. با توجه به اینکه در شرایط پرورشی نامطلوب، رشد و تکثیر این میکروارگانیسم‌های مضر افزایش می‌یابد، از این رو پیش‌بینی می‌شود که اثرهای سودمند افزودنی‌های محرک رشد بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی را بتوان در شرایط نامناسب پرورشی مشاهده کرد (Sarica *et al.*, 2005). در تطابق با نتایج این آزمایش، Nobakht (۲۰۱۳) گزارش کرد که سطوح مختلف و افزایشی پروبیوتیک تک‌سویه بیوپلاس تأثیر معنی‌داری بر گلوکز و پروتئین کل خون نداشت.

نتایج نشان داد که مقادیر لیپید و لیپوپروتئین‌های سرمی تحت تأثیر معنی‌دار منبع روغن (اسید چرب) و افزودنی‌ها قرار گرفت. از آنجایی که فعالیت آنزیم دلتا ۹ دی‌ساجوراز با ترشح VLDL-تری‌گلیسرید مرتبط است، اسید لینولئیک ممکن است ترشح آن را مهار کند (Lochsen *et al.*, 1997). همچنین (McNamara, 1997) گزارش کرد، استفاده از اسیدهای چرب چند غیراشباعی و تک غیراشباعی، با تغییر ترکیب و کاتابولیسم VLDL ممکن است لیپوپروتئین‌های غنی از تری‌گلیسرید پلاسما را کاهش دهد. نتایج حاصل از این آزمایش در مورد کاهش VLDL با استفاده از روغن تخم کدو و کاهش کلسترول کل با روغن کانولا، مؤید تحقیقات پیشین است. Sharma و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که تجویز دهانی عصاره تخم کدو گونه ماکسیما به‌طور معنی‌داری کلسترول کل، LDL، VLDL و تری‌گلیسرید سرم را کاهش و به‌طور مشخصی HDL را افزایش داد. نتایج این تحقیق به غیر از کلسترول کل، با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. همانطور که دیده شد افزایش کلسترول کل در استفاده از روغن تخم کدو ناشی از افزایش HDL بود.

تأثیر پروبیوتیک بر لیپیدهای خون در مطالعه Shokaiyan و همکاران (۲۰۱۹) مورد بررسی قرار گرفته و گزارش گردید که استفاده از پروبیوتیک در مقایسه با تیمار آنتی‌بیوتیک، منجر به غلظت سرمی پایین‌تر تری‌گلیسرید شد. در این تحقیق نیز پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری کلسترول کل، تری‌گلیسرید، HDL و VLDL را در مقایسه با شاهد کاهش داد که با نتایج تحقیق بالا مطابقت داشت. اثر متقابل منابع چربی با پروبیوتیک یا آنتی‌بیوتیک نشان داد که کمترین مقدار کلسترول کل، تری‌گلیسرید، HDL و LDL در تیمار روغن تخم کدو همراه با آنتی‌بیوتیک دیده شد. بیشترین مقدار کلسترول و HDL در خون جوجه‌هایی دیده شد که در جیره خود روغن تخم کدو را بدون هیچ افزودنی استفاده کردند که با توجه به نتایج حاصل از بررسی تأثیر روغن تخم کدو بر این شاخص‌ها طبیعی به نظر می‌رسد. اما بیشترین مقدار تری‌گلیسرید و VLDL در جوجه‌هایی دیده شد که آنتی‌بیوتیک را همراه با روغن کانولا دریافت کردند. نتایج این تحقیق به وضوح نشان داد که کارایی افزودنی‌ها بر لیپیدهای خون، به ترکیب‌های دیگر جیره به‌ویژه منبع چربی مورد استفاده بستگی دارد؛ در حالی که استفاده از آنتی‌بیوتیک همراه با روغن تخم کدو منجر به کاهش کلسترول کل، تری‌گلیسرید، HDL و VLDL شد. البته بالاترین مقدار این شاخص‌ها در استفاده همزمان آنتی‌بیوتیک با روغن کانولا دیده شد.

در این آزمایش منابع گیاهی دارای ترکیب اسید چرب مختلف، تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های ارزیابی ایمنی خونی و اندام‌های لنفوئیدی نشان ندادند. مطابق با این تحقیق، نشان داده شد که منبع چربی (پیه، کانولا و آفتابگردان) تأثیری بر پاسخ ایمنی خونی علیه SRBC نداشت. ضمن اینکه وزن طحال و بورس فابریسیوس تحت تأثیر منابع چربی مورد استفاده قرار نگرفت (Poorghasemi *et al.*, 2015). همچنین استفاده از روغن‌های گیاهی کانولا و سویا نیز بر پاسخ ثانویه ایمنی



پروبیوتیک بهره‌مند شد. ضمن اینکه مشخص شد کارایی مکمل‌های پروبیوتیکی در جیره‌های غذایی حاوی منابع روغن با توجه به نوع و ترکیب اسیدهای چرب روغن متفاوت است.

### سپاسگزاری

نویسندگان از جناب آقای دکتر لطف‌الهیان و کارکنان بخش تحقیقات طیور مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور (محل اجرای دوره پرورشی) و نیز حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس سپاسگزاری می‌نمایند.

### منابع مورد استفاده

- Abdelrahman, M.M., 2013. Effect of feeding dry fat and yeast culture on broiler chicken performance. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 37: 31-37.
- Azadbakht, M., 2007. Classification of medicinal plants. Timorzadeh Publishers, Tehran, 325p.
- Beski, S.S.M. and Al-Sardary, S.Y.T., 2015. Effects of dietary supplementation of probiotic and synbiotic on broiler chickens hematology and intestinal integrity. *International Journal of Poultry Science*, 14(1): 31-36.
- Francesco, S., Maria, C.S., Marina, P., Gabriella, F., Floriana, B. and Maria, G.V., 2016. Physico-Chemical properties and fatty acid composition of pomegranate, cherry and pumpkin seed oils. *Journal of the Science, Food and Agriculture*, 96: 1730-1735.
- Friedwald, W.T., Levy, R.I. and Fredrickson, D.S., 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18: 499-502.
- Goudarzi, P., Shawrang, P., Sadeghi, A.A. and Chamani, M., 2014. Effect of different sources of lipid on heterophil to lymphocyte ratio and serum corticosterone concentration in broiler chickens. *International Journal of Bioscience*, 5(10): 163-168.
- Gross, W.B. and Siegel, H.S., 1983. Evaluation of heterophil/lymphocyte ratio as measure of stress in chicken. *The Journal of Avian Diseases*, 27(4): 972-979.
- Havenaar, R., Ten Brink, B. and Veld, H., 1992. Selection of strains for probiotic use: 209-224. In:

تأثیر معنی‌داری نداشت (Mohiti-asli & Ghanaatparast-Rashti, 2017).

در تحقیق Kabir و همکاران (۲۰۰۴)، سطوح بالای تولید پادتن در جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده پروتکسین مشاهده شد. گزارش شد که استفاده از پروبیوتیک، تولید پادتن در مقابل SRBC و واکسن نیوکاسل ۱۰ روز بعد از تزریق را بهبود بخشید (Khaksefidi & Choorchi, 2006). افزایش تولید پادتن ناشی از مصرف پروبیوتیک به میکروارگانسیم‌های پروبیوتیکی نسبت داده می‌شود که منجر به تجمع مواد مغذی ضروری در تحریک سلول‌های ایمنی برای تولید پادتن می‌شود (Panda *et al.*, 2000). در تحقیقی گزارش شد که استفاده توأم پروبیوتیک پریمالاک و سطوح بالاتر روغن سویا به جیره جوجه‌های گوشتی منجر به بهبود عملکرد و ارتقای سیستم ایمنی گردید (Nayebpour *et al.*, 2011). همانطور که دیده شد از نظر عددی در این آزمایش نیز تیترا آنتی‌بادی در جوجه‌های دریافت‌کننده روغن کانولا و باکتوسل از سایر تیمارها بالاتر بود ( $P > 0.05$ ). همچنین در این تحقیق گرچه تفاوت نسبت هتروفیل به لنفوسیت تحت تأثیر معنی‌دار منبع چربی قرار نگرفت، اما این نسبت در جوجه‌های دریافت‌کننده روغن کدو تخم‌کاغذی و پروبیوتیک مقدار کمتری داشت. در همین راستا Goudarzi و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند در بین منابع روغن مورد استفاده، نسبت هتروفیل به لنفوسیت در روغن ذرت کمترین و در روغن آفتابگردان بیشترین مقدار را داشت. همچنین گزارش شد افزودن پروبیوتیک و سین‌بیوتیک به جیره جوجه گوشتی موجب کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد (Beski & Al-Sardary, 2015).

نتایج حاصل نشان داد با توجه به الگوی اسید چرب و وجود ترکیب‌های زیست‌فعال در روغن دانه کدو تخم‌کاغذی، می‌توان از آن به‌منظور بهبود برخی فراسنجه‌های خونی به ویژه لیپید و لیپوپروتئین‌های سرم خون به‌تنهایی یا همراه برخی افزودنی‌ها از جمله

- composition in pumpkin seed oil during three crop seasons. *Industrial Crops and Products*, 60: 15-21.
- Nobakht, A., 2013. The effect of increasing levels of single strain of probiotic (Bioplus) on performance and blood metabolites of laying hens. *Journal of Veterinary Clinical Research*, 4(4): 237-248.
  - Nobakht, A., Tabatabaei, Sh. and Khodaei, S., 2011. Effect of different sources and levels of vegetable oils on performance, carcass traits and accumulation of vitamin E in breast meat of broilers. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 3(6): 601-605.
  - Panda, A.K., Reddy, M.R., Rao, S.V.R., Raju, M.V.L.N. and Praharaj, N.K., 2000. Growth, carcass characteristics, immunocompetence and response to *Escherichia coli* of broilers fed diets with various levels of probiotic. *European Poultry Science*, 64: 152-156.
  - Penumathsa, S., Koneru, S., Thirunavukkarasu, M., Zhan, I., Prasad, K. and Maulik, N., 2007. Secoisolariciresinol diglucoside: relevance to angiogenesis and cardioprotection against ischemia-reperfusion injury. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 320: 951-959.
  - Poorghasemi, M., Seidavi, A., Qotbi, A.A.A., Chambers, J.R. Laudadio, V. and Tufarelli, V., 2015. Effect of dietary fat source on humoral immunity response of broiler chickens. *European Poultry Science*, 79: 1-8.
  - Qureshi, A. and Dinzz, A., 1983. Suppressive of avian hepatic metabolism by solvent extracts of garlic: impaction serum lipids. *Nutrition*, 113: 46-55.
  - SAS Institute., 2002. *SAS Users Guide: Statistics*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
  - Sarica, S., Ciftci, A., Demir, E., Kilinc, K. and Yildirim, Y., 2005. Use of antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives with and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. *South African Journal of Animal Science*, 35: 61-72.
  - Sharifi, S.D., Dibamehr, A., Lotfollahian, H. and Baurhoo, B., 2012. Effects of flavomycin and probiotic supplementation to diets containing different sources of fat on growth performance, intestinal morphology, apparent metabolizable energy, and fat digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, 91: 918-927.
  - Sharma, A., Sharma, A.K., Chand, T., Khardiya, M. and Chand, K.Y., 2013. Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of *Cucurbita maxima* Duchense (pumpkin) seed on streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6): 108-116.
  - Fuller, R., (Ed.). *Probiotics: The Scientific Basis*. Chapman and Hall, London, UK., 398p.
  - Jafari Ahangari, Y., Parizadian Kavan, P. and Hoseinzadeh, M., 2013. The effect of probiotic on performance and immunity parameters of broilers. *Research on Animal Production*, 4(8): 46-56.
  - Kabir, S.M.L., Rahman, M.B., Rahman, M.M. and Aluned, S.U., 2004. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *International Journal of Poultry Science*, 3: 361-364.
  - Khaksefidi, A. and Ghoorchi, T., 2006. Effect of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chickens. *Journal of Poultry Science*, 43: 296-300.
  - Lochsen, T., Ormstad, H., Braud, H., Brodal, B., Christiansen, E.N. and Osmundsen, H., 1997. Effects of fish oil and n-3 fatty acids on the regulation of  $\Delta 9$  fatty acid desaturase mRNA and activity in rat liver. *Journal of Nutrition Biochemistry*, 8: 408-413.
  - McNamara, D.J., 1995. Dietary fatty acids, lipoproteins, and cardiovascular disease. *Advances in Food and Nutrition Research*, 36: 253-351.
  - Mehrabadi, M., Shariatmadari, F. and Karimi Torshizi, M.A., 2011. Effect of medical plantantibioegen, probiotic Galipro, and antibiotic virgonamicine indiets containing barley on growth performance, SRBC immune response and cholesterol and triglyceride of blood of broiler chickens. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 27: 431-439.
  - Mohiti-Asli, M. and Ghanaatparast-Rashti, M., 2017. Feeding antioxidant vitamin and vegetable oils to broilers: vitamin E reduced negative effect of soybean oil on immune response and meat lipid oxidation. *Animal Production Science*, 58: 1829-1836.
  - Murkovic, M., Hillebrand, A., Draxl, S., Winkler, J. and Pfannhauser, W., 1999. Distribution of fatty acids and vitamin E content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.) in breeding lines. *Acta Horticulture*, 492: 47-55.
  - Nayeypour, M., Farhoomand, P. and Daneshyar, M., 2011. Evaluation of performance and humeral immune system (antibody titer against Gambaro vaccine, cerloplasmin concentration and hetrophyl to lymphocyte ratio) in broiler chickens fed different levels of probiotic and soybean oil. *Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 90: 66-75.
  - Nederal, S., Petrovic, M., Vincek, D., Pukec, D., Skevin, D., Kraljic, K. and Obranic, M., 2014. Variance of quality parameters and fatty acid

- chicks fed on diets including full sunflower seed. Abstracts of the 16<sup>th</sup> European Symposium on Poultry Nutrition, France, 26-30 August: 633-636.
- Wegmann, T. and Smithies, O., 1966. A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies. *Transfusion*, 6: 67-75.
  - Yakhkeshi, S., Rahimi, S. and Hemati matin, H.R., 2012. Effect of yarrow (*Achillea millefolium* L.), antibiotic and probiotic on performance, immune response, serum lipids and microbial population of broiler. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 14: 799-810.
  - Shokaiyan, M., Ashayerizadeh, O., Shams Shargh, M. and Dastar, B., 2019. Algal crude fucoidan alone or with bacillus subtilis DSM 17299 in broiler chickens diet: growth performance, carcass characteristics, blood metabolites, and morphology of intestine. *Poultry Science Journal*, 7(1): 87-94.
  - Tannock, G.W., Dashkevitz, M.P. and Feighner, S.D., 1989. Lactobacilli and bile salt hydrolase in the murine intestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 1848-1851.
  - Torki, M. and Alizadeh, A., 2007. Effect of dietary probiotic supplementation on performance of broiler

## Effects of probiotic and seed oil of medicinal plant pumpkin (*Cucurbita pepo* convar. *pepo* var. *styriaca*) on productive traits, blood parameters, and immune response of broiler chickens

D. Khademi Shurmasti<sup>1\*</sup>, F. Shariatmadari<sup>2</sup> and M.A. Karimi Torshizi<sup>2</sup>

1\*- Corresponding author, Department of Agriculture, Savadkooch Branch, Islamic Azad University, Savadkooch, Iran

E-mail: dkhademi@gmail.com

2- Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: September 2019

Revised: December 2019

Accepted: December 2019

### Abstract

This experiment was performed to investigate the effects of probiotic on productive traits, blood parameters, serum lipoproteins, and blood immune response of broilers fed with pumpkin seed oil. A total of 480 one-day-old Arian commercial broilers in a 2×3 factorial experiment, with two plant oil sources (canola and pumpkin) and three additives (no additive, probiotic and antibiotic) in a completely randomized design with four replicates and 20 chicks per replicate, were randomly distributed among the experimental units. The results showed that probiotic application with plant oil sources had no negative effect on productive traits including relative weight of carcass, breast, thigh, abdominal fat, survival percentage, and feed conversion ratio. The percentage of blood hematocrit in the chicks receiving the additives was lower than the control group ( $P<0.05$ ). The effect of oil source and additives on other blood parameters including total protein, glucose, and uric acid was not statistically significant. The use of pumpkin (*Cucurbita pepo* L. convar. *pepo* var. *styriaca*) seed oil significantly reduced triglyceride and very-low-density lipoprotein (VLDL), and increased total cholesterol and high-density lipoprotein (HDL) ( $P<0.05$ ). The effect of oil source on low-density lipoprotein (LDL) was not statistically significant. The lowest levels of triglyceride, total cholesterol, HDL, and VLDL were observed in chicks fed with pumpkin seed oil and virginamycin ( $P<0.05$ ). The highest amount of triglyceride was observed in chicks fed with canola oil and antibiotics ( $P<0.05$ ). The effect of oil source and additives on blood immune response and relative weight of lymphoid organs was not statistically significant. Generally, using pumpkin seed oil resulted in a partial improvement in serum lipoproteins. On the other hand, the efficiency of the additives depended on the type of oil (fatty acid profile) used in the diet.

**Keywords:** Humoral immune, probiotic, *Cucurbita pepo* L. convar. *pepo* var. *styriaca*, lipoprotein, virginamycin.