دوره شانزدهم ـ شماره ۱ ـ بهار ۱۳۹۹
Archive of SID
DOI: 10.22055/ivj.2019.133139.2043

تأثیر پودر دانه‌ی گشنیز و آلفا- توکوفریل استات بر پاسخ ایمنی هومورال، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی

احمدعلی ثابتان‌شیرازی[۱*]، احمد حسن‌آبادی[۲]، محمدجواد آگاه[۳] و حسن نصیری‌مقدم[۲]

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۹

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثرات پودر دانه‌ی گشنیز و آلفا-توکوفریل استات بر پاسخ سیستم ایمنی، شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی یک روزه سویه‌ی کاب ۵۰۰ در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، سه تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار توزیع و تا سن ۴۲ روزگی نگهداری شدند. تیمارها شامل، تغذیه شده با جیره‌ی پایه بدون افزودنی (کنترل منفی)، جیره‌ی پایه حاوی ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آلفا-توکوفریل استات (کنترل مثبت) و جیره‌های پایه حاوی ۰/۳ و ۰/۶ درصد پودر دانه‌ی گشنیز بودند. در سنین ۳۵ و ۴۲ روزگی، دو پرنده از هر تیمار انتخاب شدند و از نظر پاسخ سیستم ایمنی هومورال مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسما، تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL، LDL و VLDL در ۴۲ روزگی اندازه‌گیری شدند. عیار آنتی‌بادی تام و ایمنوگلوبولین M در پاسخ اولیه به تزریق SRBC در تیمارهایی که دانه‌ی گشنیز و آلفا-توکوفریل‌استات مصرف کرده بودند نسبت به گروه کنترل منفی بالاتر بود اما در پاسخ ثانویه تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها مشاهده نشد. استفاده از پودر دانه‌ی گشنیز منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاهش مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای خون جوجه‌های گوشتی شد. مقدار تری‌گلیسرید و کلسترول سرم خون در گروه‌های تغذیه شده با پودر دانه‌ی گشنیز و آلفا- توکوفریل‌استات به طور معنی‌داری کم‌تر از گروه کنترل منفی بود. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از سطوح ۰/۳ و ۰/۶ درصد دانه‌ی گشنیز در جیره‌ی جوجه‌ی گوشتی سبب تقویت سیستم ایمنی، کاهش اکسیداسیون و تعادل فراسنجه‌های خونی می‌شود.

کلمات کلیدی: دانه گشنیز، آلفا-توکوفریل استات، فراسنجه‌های خونی، شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، جوجه گوشتی

مقدمه

گشنیز با نام علمی .Coriandrum sativum L یکی از گیاهان خانواده‌ی جعفری (*Umbellferae*) است. این گیاه بومی شرق مدیترانه و جنوب اروپا است و در بسیاری ار نقاط دنیا کشت می‌شود (Guler et al. 2005) و برای این گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی گزارش شده است (Wangensteen et al. 2004). در طب سنتی، گشنیز با اثرات هضم کننده غذا، ضد نفخ، ضد تهوع و استفراغ، ضد تشنج و ضد صرع شناخته شده است. در تحقیقات وابسته به داروشناسی اثرات کاهش دهنده‌ی قند و کلسترول خون برای این گیاه گزارش شده است (Dhanapakiam et al. 2008). گشنیز از طریق اثر بر متابولیسم چربی‌ها، افزایش بیش‌تر اسیدهای صفراوی و افزایش تبدیل کلسترول به اسیدهای صفراوی سبب کاهش کلسترول سرم گردیده است (Al-Jaff 2011). خاصیت آنتی‌اکسیدانی دانه‌ی گشنیز مربوط به مقادیر بالای توکوفرول‌ها، کارتنوئیدها و فسفولیپیدهای آن می‌باشد (Ramadan and Morsel 2004). در پژوهشی که از اسانس گشنیز به میزان ۰/۵ و ۱ درصد در خوراک جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی

[۱*] استادیار گروه کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا sedarat2003@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

[۳] استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده شده بود، به طور معنی‌داری غلظت کلسترول و گلوکز پلاسما کاهش یافت (Al-Mashhadani et al. 2011). در پژوهش Mirzavand و همکاران در سال ۲۰۱۴، کاربرد گیاه گشنیز به میزان ۱/۵ درصد در ترکیب جیره‌ی جوجه‌ی گوشتی منجر به افزایش وزن نسبی طحال جوجه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد شد. همچنین عیار پادتن در پاسخ ثانویه به گلبول قرمز خون گوسفندی، وضعیت بهتری نسبت به گروه شاهد نشان داد. آلفا-توکوفریل استات (ویتامین E) یکی از سیستم‌های دفاعی بدن است که باعث خنثی کردن استرس اکسیداتیو در مقابل رادیکال‌های آزاد می‌شود و به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی محسوب می‌شود (Lee and chung 2010) و در حالی که محصولات پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می‌دهد به طور قابل توجهی باعث افزایش محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و نیز افزایش آنزیم کاتالاز می‌شود (Ayinde et al. 2012) با توجه به خواص مختلف و متنوع گشنیز به ویژه اثرات آنتی‌اکسیدانی و تأثیراتی که بر متابولیت‌های خون دارد، این تحقیق به منظور ارزیابی اثرات استفاده از پودر دانه‌ی گشنیز در مقایسه با آلفا-توکوفریل استات به عنوان یک آنتی‌اکسیدان استاندارد بر پاسخ ایمنی، فراسنجه‌های خونی و آنتی‌اکسیدانی سرم خون در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش کار

دانه‌ی گشنیز از فروشگاه گیاهان دارویی رایج در بازار خریداری و در آزمایشگاه تخصصی تأیید و اندازه‌گیری شیمیایی بر روی نمونه‌ها انجام شد. دانه‌ها با آسیاب مکانیکی به قطر نیم میلی‌متر آسیاب شده و ترکیبات شیمیایی آن به روش AOAC (۲۰۰۵) تعیین گردید (Table 1).

در این پژوهش تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی یک روزه سویه‌ی کاب ۵۰۰ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار، سه تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار در ۱۲ واحد آزمایشی و با میانگین وزن مشابه بر روی بستر پرورش یافتند. طول دوره‌ی آزمایش به مدت ۴۲ روز بود. در این مدت جوجه‌ها با یک جیره‌ی پایه که بر اساس حداقل مقادیر مواد مغذی پیشنهاد شده در جداول احتیاجات سویه‌ی کاب ۵۰۰ سال ۲۰۱۳ فرموله شد، تغذیه شدند (Table 2). جیره‌های آزمایشی از نظر انرژی و پروتئین مشابه بوده و با افزودن آلفا-توکوفریل استات و یا سطوح مختلف پودر دانه‌ی گشنیز به صورت سرک به جیره‌ی پایه در قالب چهار تیمار زیر تهیه شدند: جیره‌ی پایه فاقد ماده‌ی افزودنی (کنترل منفی)؛ جیره‌ی پایه با افزودن ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آلفا-توکوفریل استات (کنترل مثبت) و جیره‌های پایه با افزودن سطوح ۰/۳ و ۰/۶ درصد پودر دانه‌ی گشنیز.

برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال پرندگان در برابر آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفندی (Sheep Red Blood Cell (SRBC از دو رأس گوسفند ۲۰ سی‌سی خون گرفته و در شیشه‌ی حاوی EDTA ریخته شد. گلبول‌های قرمز سه بار با بافرفسفات سالین (PBS) شسته شده و در نهایت یک مخلوط ۷ درصد از گلبول قرمز در بافر فسفات سالین تهیه گردید. لازم به ذکر است تمام مراحل فوق در شرایط استریل انجام شد. ابتدا در سن ۲۸ روزگی از ورید بال چپ دو پرنده (که به میانگین وزن تیمار نزدیک بودند) در هر واحد آزمایشی ۳ میلی‌لیتر خون گرفته شد. این شیوه به منظور بررسی حضور آنتی‌بادی‌ها قبل از تزریق SRBC انجام گردید. سپس به همین پرندگان ۰/۵ میلی‌لیتر SRBC ۷ درصد در ورید زیر بال راست تزریق شد. هفت روز پس از تزریق (در سن ۳۵ روزگی)، از ورید بال چپ این دو پرنده مجدداً ۳ میلی‌لیتر خون جهت تعیین پاسخ آنتی‌بادی اولیه اخذ شد. سپس تزریق دوم SRBC ۷ درصد به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر در ورید بال سمت راست انجام شد. هفت روز بعد یعنی در سن ۴۲ روزگی نمونه‌های خون جهت تعیین پاسخ‌های آنتی‌بادی ثانویه اخذ گردید (Niu et al. 2009). پس از خون‌گیری و لخته شدن نمونه‌ی خون، آن را سانتریفیوژ کرده و سرم جدا گردید. سرم جمع‌آوری شده برای نیم ساعت در دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد (جهت غیرفعال کردن کمپلمان) برای اندازه‌گیری

www.SID.ir

Archive of SID

تیتر آنتی SRBC کل، ایمونوگلوبولین M و ایمونوگلوبولین Y قرار داده شد. ۵۰ ماکرولیتر سرم و ۵۰ ماکرولیتر بافرفسفات سالین به داخل اولین چاهک پلیت ۹۶ حفره‌ای V شکل (۱۲×۸) اضافه و پلیت در داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد برای مدت نیم ساعت قرار داده شد. پس از نیم ساعت به بقیه چاهک‌ها ۵۰ ماکرولیتر بافرفسفات سالین اضافه و سپس رقت‌های ۱ به ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ تهیه گردید. پس از تهیه این رقت‌ها ۵۰ ماکرولیتر محلول SRBC دو درصد به هر چاهک اضافه شد (Cheema et al. 2003). سپس پلیت به مدت نیم ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوباسیون و پس از آن شماره‌ی اولین خانه‌ی لیز شده یادداشت گردید. تیترها بر اساس لگاریتم ۲، به عنوان بیش‌ترین رقتی که آگلوتیناسیون کامل را نشان می‌دهد بیان می‌شود. از آن جایی که ایمنوگلوبولین M به ۲ مرکاپتواتانول حساس است و در حضور آن تخریب می‌شود، با افزودن این ماده به چاهک اول می‌توان آن را حذف کرد که تیتر مشاهده شده نشان دهنده میزان ایمونوگلوبولین Y است. از تفاضل تیتر ایمونوگلوبولین Y از تیتر آنتی SRBC کل، تیتر ایمونوگلوبولین M به دست می‌آید. برای اندازه‌گیری آنتی-بادی حساس به ۲- مرکاپتواتانول (ایمونوگلوبولین M) ۵۰ ماکرولیتر از مرکاپتواتانول ۰/۰۱ مولار در بافرفسفات سالین به جای بافرفسفات سالین به تنهایی استفاده شد (Cheema et al. 2003).

Table 1: Average chemical composition of coriander powder

Chemical Compounds	Dry matter	Crude protein	Crude fat	Crude ash
Percentage of dry matter	94.33	16.87	2.49	8.89

Table 2: Percentage of Basic Dietary Compounds and Nutrients Based on Cob 500 Strain Catalog

Feed Ingredients(%)	Starter period (1-10 day)	Growing period (11-21 day)	Finishing period (22-42 day)
Corn	56.61	62.33	65.15
Soybean Meal (44%)	36.00	30.15	27.20
Sunflower oil	3.00	3.22	3.51
Dicalcium phosphate	1.89	1.85	1.74
Oysters shell	1.20	1.16	1.11
Salt	0.39	0.33	0.30
Dl-methionine	0.22	0.23	0.24
l-lysine hydrochloride	0.08	0.13	0.15
Mineral and Vitamin Supplement*	0.50	0.50	0.50
Baking soda	0.11	0.10	0.10
Total	100	100	100
Compounds(Calculated)			
ME (Kcal/kg)	2973.99	3056.67	3111.95
Crude protein (%)	20.92	18.89	17.86
Calcium (%)	0.99	0.95	0.90
Available Phosphorus (%)	0.50	0.48	0.45
Methionine (%)	0.50	0.48	0.48
Methionine + Cystine (%)	0.84	0.80	0.77
Lysine (%)	1.20	1.10	1.05
Sodium (%)	0.20	0.17	0.16

*Each kg of diet containing: Vitamin A, 11,000 international units, Cholecalciferol, 2,300 International Units; Vitamin E, 121 International Units; Vitamin K3, 2 mg vitamin B12, 0.02 mg thiamine, 4 mg riboflavin, 4 mg folic acid, 1mg Biotin, 0.03 mg; pyrodoxin, 4 mg; choline chloride, 840 mg; ethoxyquin, 0.125 mg; manganese sulfate, 100 mg; selenium (sodium selenate), 0.2 mg iodine, 1 mg copper sulfate, 100 mg iron, 50 mg.

در روز ۴۲ از هر تکرار دو قطعه جوجه (که به میانگین وزن تیمار نزدیک بودند) از ورید بال خون‌گیری انجام شد، نمونه‌های خون با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شدند. پس از تهیه‌ی سرم جهت آنالیزهای مربوط به فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل گردید. فراسنجه‌های مورد نظر شامل تری‌گلیسرید،

www.SID.ir

Archive of SID

کلسترول، لیپوپرتئین با چگالی بالا (HDL) و لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) و لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین (VLDL) با دستگاه اتوآنالایزر (HITACHI 917) ساخت کشور ژاپن و کیت‌های شرکت زیست شیمی (Ziest Chem Diagnostic, Tehran, Iran) اندازه‌گیری شد.

ابتدا ۲ تا ۳ سی‌سی نمونه‌های خون (از ورید بال جوجه-ها) در سن ۴۲ روزگی از یک پرنده (که به میانگین وزن تیمار نزدیک بودند) در هر واحد آزمایشی در سرنگ‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد هپارین (۰/۳ میلی‌لیتر بر لیتر هپارین) گرفته شد و بلافاصله نمونه‌ها بر روی یخ به آزمایشگاه منتقل شده و در سانتریفوژ یخچال دار به مدت ۱۰ دقیقه با ۲۵۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفت. در این مرحله خون در سه لایه جداگانه قرار می‌گیرد. لایه‌ی رویی یا سرم خون و لایه‌ی میانی حاوی گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها که به لایه‌ی بافی کوت معروف است را به کمک پیپت از لوله‌ی آزمایش خارج کرده و در نهایت لایه‌ی زیرین که همان گلبول‌های قرمز است را در ته لوله‌ی آزمایش جدا می‌کنیم. حال به منظور خالص‌سازی گلبول‌های قرمز دو تا سه بار با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد شسته شد. به این ترتیب که مقدار پنج سی‌سی سرم فیزولوژی را به هر لوله‌ی آزمایش حاوی گلبول‌های قرمز اضافه کرده و به آرامی چند بار به هم زده تا گلبول‌های قرمز ته لوله با سرم فیزیولوژی اضافه شده مخلوط شود (Cheema et al. 2003). دوباره لوله‌ها داخل دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور بر دقیقه قرار داده شد. این بار هم به کمک پیپت مایع رویی جدا شد. بعد از سه بار که این کار تکرار شد و اطمینان از خلوص گلبول‌های قرمز جدا شده، در این مرحله به وسیله‌ی پیپت از ته هر لوله آزمایش به آرامی ۰/۵ سی‌سی گلبول قرمز را برداشته و به داخل یک لوله آزمایش دیگر ریخته و به آن ۲ سی‌سی آب مقطر سرد ۴ درجه‌ی سانتی-گراد اضافه می‌کنیم. در این مرحله گلبول‌های قرمز به دلیل اختلاف فشار اسمزی ایجاد شده در دو طرف غشای خود ترکیده و محتویات داخل سلول از جمله آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی را آزاد می‌کنند. به این محلول همولیزات گفته می‌شود (Cheema et al. 2003). از این محلول ۳ نمونه ۰/۵ سی‌سی داخل لوله‌های اپندرف ریخته و فعالیت آنزیم آنتی-اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز به کمک کیت‌های (SD125 و GOT1003) شرکت رندوکس (RANDOX)، مطابق کاتالوگ پیشنهادی و توسط دستگاه اتوآنالیزر ساخت کشور ژاپن (HITACHI 917) تعیین شد.

غلظت مالوندی‌آلدئید سرم با روش توصیف شده Draper و Hadley در سال ۱۹۹۰ براساس واکنش مواد با تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد. مالوندی‌آلدئید در شرایط اسیدی و دمای بالا با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و مجموعه‌ای به رنگ ارغوانی تولید می‌نماید که شدت رنگ را در طول موج ۵۳۲ نانومتر می‌توان اندازه‌گیری نمود. سه میلی‌لیتر از محلول تهیه شده (۷/۵ گرم تری‌کلرواستیک، ۱۸۷ میلی‌گرم ۲-تیوباربیتوریک اسید و ۶/۲۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲ نانومول بر لیتر) را با ۳۰۰ مایکرولیتر از سرم داخل لوله‌ی آزمایش درب‌دار ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس بلافاصله لوله‌ها را با آب سرد خنک کرده و به هر لوله آزمایش دو میلی‌لیتر ایزو بوتانول اضافه نموده و به مدت ۲۰ ثانیه با شیکر مخلوط کردیم. در نهایت پس از سانتریفیوژ کردن به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه، چگالی نوری مایع رویی با دستگاه اسپکتوفتومتر (یونیکو آمریکا مدل S1200) در طول موج ۵۳۲ نانومتر برای اندازه‌گیری غلظت مالوندی‌آلدئید به عنوان شاخص اکسیداسیون چربی خوانده شد (Draper and Hadley 1990).

تمامی داده‌ها با نرم‌افزار JMP تست نرمالیته شدند و تمامی داده‌ها نرمال بودند. محاسبات آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۸) رویه‌ی مدل خطی عمومی (GLM) انجام شد و مقایسه‌ی میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون آماری دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید. مدل آماری استفاده شده به شرح زیر بود:

$$Yij= \mu+ Ti + eij$$

www.SID.ir

Archive of SID

در فرمول، Yij مقدار هر مشاهده، μ میانگین جامعه، Ti اثر تیمار آزمایشی و e_{ij} اثر خطای آزمایش بود.

نتایج

اثر استفاده از آلفا–توکوفریل استات و پودر دانه‌ی گشنیز در جیره بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در Table 3 گزارش شده است. غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول تام سرم خون در کلیه‌ی گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل منفی به طور معنی‌داری کاهش نشان دادند (P≤۰/۰۵). میزان HDL، LDL و VLDL در تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشتند.

Table 3. Mean±SEM of alpha-tocopheryl acetate and coriander seed powder on blood parameters in broiler chickens at 42 days of age

Parameter (mg / dL)	Dietary treatments				Statistical components
	Basic diet (negative control)	250 mg / kg alpha-tocopheryl acetate (positive control)	0.3% of coriander seed powder	0.6% of coriander seed powder	P-value
Triglyceride	55.66^{a} ±0.64	50.33^{b}±0.64	51.43^{b}±0.64	50.82^{b}±0.64	0.05
Cholesterol	130.33^{a}±0.60	126.67^{ab}±0.60	129.33^{b}±0.60	128.33^{b}±0.60	0.05
LDL	23.33±0.47	20.67±0.47	23.00±0.47	21.00±0.47	0.18
HDL	85.33±0.67	85.00±0.67	85.00±0.67	85.67±0.67	0.98
VLDL	16.01±0.18	15.11±0.18	16.03±0.18	15.33±0.18	0.74

$^{a-b-c}$ The mean of each row that does not have the same letter has a significant difference (P<0.05)

تأثیر افزودن پودر دانه‌ی گشنیز و آلفا توکوفریل استات به جیره‌ی پایه بر فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی خون جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در Table 4 نشان داده شده است. استفاده از پودر دانه‌ی گشنیز و آلفا–توکوفریل‌استات در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاهش مالون‌دی‌آلدئید (MDA) پلاسمای خون جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه کنترل منفی شد (P<۰/۰۵).

Table 4. Mean± SEM of Adding Coriander Powder and Alfatocopheryl Acetate to Basal Diet on Antioxidant Parameters and Blood Malondialdehyde Index at 42 Days

Parameter examined (unit)	Dietary treatments				Statistical components
	Basic diet (negative control)	mg / kg alpha- 250 tocopheryl acetate (positive control)	of 0.3% coriander seed powder	of 0.6% coriander seed powder	P-value
Malondialdehyde (μmol/l)	2.36^{a}±0.03	2.10^{b}±0.03	2.22^{ab}±0.03	2.21^{ab}± 0.03	0.15
Superoxide dismutase (μmol/l)	315^{c}±0.03	322.67^{a}±0.60	317.00^{b}±0.60	320.67^{ab}±0.60	0.008
Glutathione Peroxidase (U/ml)	723.67^{b}±4.97	760.67^{a}±4.97	765.67^{a}±4.97	767.00^{a}±4.97	0.04

$^{a-b-c}$ The mean of each row that does not have the same letter has a significant difference (P<0.05)

تأثیر افزودن پودر دانه‌ی گشنیز و آلفا–توکوفریل‌استات به جیره‌ی پایه بر پاسخ‌های ایمونولوژیک جوجه‌های گوشتی در واکنش به تزریق SRBC در جدول Table 5 نشان داده شده است. عیار آنتی‌بادی تام و ایمنوگلوبولین M در پاسخ اولیه در تیمارهایی که دانه‌ی گشنیز و آلفا–توکوفریل‌استات مصرف کرده بودند نسبت به گروه شاهد

www.SID.ir

Archive of SID

منفی بالاتر بود. اما ایمنوگلوبولین Y در تیمارها تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. عیار آنتی‌بادی تام، ایمنوگلوبولین M و ایمنوگلوبولین Y در پاسخ ثانویه به تزریق SRBC تفاوت معنی‌داری در تیمارها نشان ندادند.

Table 5. Mean± SEM of Coriander Seed Powder and Alpha-Tocopheryl Acetate on Secondary and Secondary Antibody Production in Response to SRBC Injection (Log 2)

	Dietary treatments				Statistical components
Parameter examined	Basic diet (negative control)	250 mg / kg alpha-tocopheryl acetate (positive control)	0.3% of coriander seed powder	0.6% of coriander seed powder	P-value
Initial Response to Log 2 (35 days)					
Total antibody	6.25^{b}±0.01	6.32^{ab}±0.01	6.33^{ab}±0.01	6.39^{a}±0.01	0.04
IgY	5.12±0.01	5.16±0.01	5.14±0.01	5.21±0.01	0.25
IgM	1.13^{b}±0.002	1.16^{a}±0.002	1.18^{a}±0.002	1.19^{a}±0.002	0.002
Secondary response to Log 2 (42 days)					
Total antibody	6.21±0.01	6.27±0.01	6.29±0.01	6.24±0.01	0.21
IgY	4.98±0.02	5.04±0.02	5.05±0.02	5.00±0.02	0.41
IgM	1.23±0.006	1.22±0.006	1.23±0.006	1.23±0.006	0.85

$^{a\text{-}b\text{-}c}$ The mean of each row that does not have the same letter has a significant difference (P<0.05)

بحث

غلظت کلسترول سرم با افزایش درصد پودر دانه‌ی گشنیز در جیره روند کاهشی داشت. نتیجه‌ی این تحقیق در ارتباط با کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول با پژوهش Saeid و AL-Nasry در سال ۲۰۱۰ که دانه‌ی گشنیز در سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد به کار رفت، هم‌خوانی داشت. به طوری که کاربرد ۰/۳ درصد دانه‌ی گشنیز در جیره باعث کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) مقدار تری-گلیسرید و کلسترول سرم خون شد. در پژوهش Chithra و Leelamma در سال ۱۹۹۹ گزارش شد که گشنیز جذب لیپید را کاهش و تجزیه‌ی آن را افزایش می‌دهد و گزارش کردند که دانه‌ی گشنیز کنترل پیشرفته‌ای بر مکانیزم حذف چربی از بدن دارد. در پژوهشی از اسانس گشنیز به میزان ۰/۵ و ۱ درصد در خوراک جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی استفاده کردند و مشاهده نمودند که به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) غلظت کلسترول پلاسما کاهش یافت (Al-Mashhadani et al. 2011). گشنیز از طریق تأثیر بر متابولیسم چربی‌ها و افزایش تبدیل کلسترول به اسیدهای صفراوی سبب کاهش کلسترول سرم در بیماران مبتلا به هایپوکلسترولیما می‌شود همچنین اسیدهای چرب گشنیز مانند اسیدلینولئیک، اسیداولئیک و اسید اسکوربیک یا ویتامین c در کاهش مقدار کلسترول خون بسیار تأثیر گذارند (Karimi et al. 2015). اثرات کاهندگی غلظت کلسترول سرم در جوجه‌های گوشتی به مهار فعالیت آنزیم ۳-هیدروکسی ۳-متیل گلوتاریل کو آنزیمآ ردوکتاز کبد که نقش کلیدی در سنتز کلسترول دارد نسبت داده شده است (Al-Jaff 2011). میزان HDL، LDL و VLDL در این مطالعه تحت تأثیر تیمار پودر گشنیز قرار نگرفت که با نتایج Ghazanfari و همکاران در سال ۲۰۱۵ هم‌خوانی دارد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد مثل سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز نقش حیاتی در مهار رادیکال‌های اکسیداتیو ایفا کرده و به عنوان شاخص-هایی برای وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن مورد ارزیابی قرار می‌گیرند (Spurlock and Savage 1993). بررسی‌های فیتوشیمیایی نشان داده است که اسانس گشنیز حاوی تانن-ها، آلکالوئیدها، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، اسیدهای چرب، استرول‌ها و گلوکوزیدها است (Al-Snafi 2016). فعالیت ضداکسیدانی پودر دانه‌ی گشنیز در پژوهش حاضر احتمالاً نشان دهنده‌ی فعالیت ضداکسیدانی ترکیبات فنلی

www.SID.ir

Archive of SID

موجود در دانه‌ی گشنیز است. مطالعات زیادی نشان دادند که مواد پلی‌فنلی بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز را در سطح رونویسی افزایش می‌دهند (Guinda 2006). این ترکیبات پلی‌فنلی می‌توانند رادیکال‌های آزاد در حال گردش را غیرفعال کرده که باعث دفع نیتریک اکسید قبل از رسیدن به سلول‌های بتای پانکراس و ایجاد صدمات و مرگ سلولی آن‌ها می‌شوند. بخش‌های پلی فنولی دانه‌ی گشنیز Karimi و همکاران در سال ۲۰۱۴، تأثیر عصاره‌ی دانه‌ی گیاه گشنیز بر لیپیدها و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بررسی کردند و بیان کردند که درمان موش‌های دیابتی شده با عصاره‌ی تخم گشنیز، تمام فراسنجه‌های اکسیداتیو را در مقایسه با موش‌های دیابتی شده که تحت درمان قرار نگرفته بودند، بهبود یافته است و میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در موش‌های دریافت کننده‌ی عصاره‌ی دانه‌ی گشنیز به صورت معنی‌داری بالاتر بود. عصاره‌ی گشنیز با اثر زدایشی قوی بر رادیکال‌های آزاد، باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتایتون پراکسیداز و مهار پراکسیداسیون لیپیدها در کبد و کاهش قند و لیپیدهای خون می‌شود. گزارش‌ها نشان می‌دهد وجود مواد آنتی‌اکسیدان فلاونوئیدی مانند کوئرستین (Querctin) و پلی فنولیک مانند گالیک اسید در عصاره‌ی دانه‌ی گشنیز موجب کاهش مقدار MDA و افزایش فعالیت کاتالاز، SOD، GPX و بهبود این شاخص‌ها در جهت کنترل دیابت در موش می‌شود (Deepa and Anuradha 2001). در تحقیقی دیگر گزارش گردید که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در موش‌های تیمار شده با گشنیز افزایش یافته و پراکسیداسیون چربی کاهش نشان داده است (Chithra and Leelamma 1999). خصوصیت آنتی‌اکسیدانی دانه‌ی گشنیز مربوط به مقادیر قابل توجه توکوفرول‌ها، کاروتنویدها و فسفولیپیدهای آن می‌باشد که با مکانیزم‌های مختلف عمل می‌نماید. کاروتنوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های اولیه با مهار کردن رادیکال‌های آزاد و به عنوان آنتی‌اکسیدان ثانویه با غیر فعال کردن اکسیژن رادیکال، عمل می‌کنند (Rathore et al. 2013).

Abou-Elkhai و همکاران در سال ۲۰۱۴ با به کار بردن پودر فلفل سیاه، زردچوبه و گشنیز در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی افزایش عیار آنتی‌بادی در ۳۵ روزگی در پاسخ به تزریق SRBC را گزارش کردند که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. Mirzavand و همکاران در سال ۲۰۱۴ در تحقیقی از گیاه گشنیز به میزان ۱/۵ درصد از جیره‌ی جوجه‌ی گوشتی استفاده کردند و گزارش گردید این سطح گشنیز بالاترین وزن نسبی طحال را نسبت به دیگر تیمارها ایجاد نموده است و عیار پادتن در پاسخ ثانویه به گلبول قرمز خون گوسفند دارای وضعیت بهتری نسبت گروه شاهد بود. Hosseinzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۴ با استفاده از عصاره‌ی آبی گشنیز در جوجه‌های گوشتی افزایش در تیتر آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل، آنفلوانزای پرندگان و گامبورو را مشاهده کردند. همچنین در پاسخ به تزریق SRBC افزایش عیار ایمنوگلوبولین Y (IgY) و ایمنوگلوبولین G (IgG) را در ۴۲ روزگی (پاسخ ثانویه) مشاهده نمودند و بیان کردند این نتایج از تیمارهای حاوی عصاره‌ی گشنیز قابل انتظار بود، به دلیل این که گشنیز با تأثیر ترکیبات فعال موجود در آن یک محرک قوی سیستم ایمنی است. این اثرات به ترتیب با شکستن دیواره‌ی سلولی به وسیله‌ی ترپنوئیدها و فنولیک‌ها، کیلات فلزی به وسیله‌ی فنول‌ها و فلاونوئیدها و تأثیر بر ژن‌ها به وسیله‌ی کومارین و آلکالوئیدها ایجاد می‌شوند که در نهایت مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را موجب خواهند شد. نتایج تحقیقات دیگر از جمله، ElSayed و Ahmed در سال ۲۰۱۷ حاکی از تأثیر مثبت گشنیز و یا اسانس آن بر سیستم ایمنی است که گزارش کردند استفاده از سطوح ۳ و ۵ درصد پودر دانه‌ی گشنیز در جیره‌ی موش‌های صحرایی باعث افزایش معنی‌دار سطح غلظت اینترلوکین-۶ (به عنوان نشان‌گر ایمنی) سرم خون شد و این تأثیر را به ترکیبات

www.SID.ir

Archive of SID

فعال موجود در دانه‌ی گشنیز مانند لینالول، آلفاپینن، گاماترپینن، کامفور، گرانیل استات و گرانیول نسبت دادند. عدم مطابقت نتایج تیتر آنتی‌بادی‌ها در سن ۴۲ روزگی این پژوهش با پژوهش‌های ذکر شده احتمالاً به دلیل مقدار متفاوت استفاده از گشنیز و زمان اندازه‌گیری این فاکتورها باشد. به طور کلی نتایج پژوهش حاضر بیان‌گر اثرات مثبتی است که کاربرد سطوح پودر دانه‌ی گشنیز بر کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول سرم خون و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون-پراکسیداز، کاهش MDA و تقویت سیستم ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی در مقایسه با تیمار کنترل منفی داشته است. بنابراین استفاده از پودر دانه‌ی گشنیز در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی، به دلیل بهبود شاخص‌های یاد شده در سطوح ۰/۳ و ۰/۶ درصد قابل توصیه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از کارمندان بخش علوم دامی مرکز آموزش کشاورزی علی آباد کمین متعلق به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس جهت همکاری ارزنده شان کمال تشکر را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند، در تهیه‌ی مقاله فوق‌الذکر به طور کامل اخلاق نشر رعایت گردیده است و منابع تجاری در این رابطه وجود ندارد و نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

نویسندگان اعلام می‌دارند، پژوهشی که مقاله فوق‌الذکر از آن استخراج گردیده، با هزینه‌ی شخصی انجام گرفته است و سازمان یا نهادی در تأمین منابع مالی آن نقشی نداشته است.

منابع

AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. 18th ed. Association of Analytical Chemists, AOAC International, Arlington VA.

Ayinde, O.C.; Ogunnowo, S. and Ogedegbe, R.A. (2012). Influence of Vitamin C and Vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats. BMC Pharmacology & Toxicology, 10: 13-17.

Chithra, V. and Leelamma, S. (1999). *Coriandrum sativum* changes the levels of lipid peroxides and activity of antioxidant enzymes in experimental animals. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, 36(1): 59-61.

Cheema, M.A.; Quresh, M.A. and Havenstein, G.B. (2003). A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 random bred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science, 82: 1519-1529.

Abou-Elkhai, R.; Ahmed, H.A. and Selim, S. (2014). Effects of Black Pepper (*PiPer Nigrum*), Turmeric Powder (*Curcuma Longa*) and Coriander Seeds (*Coriandrum Sativum*) and Their Combinations as Feed Additives on Growth Performance, Carcass Traits, Some Blood Parameters and Humoral Immune Response of Broiler Chickens. Asian Australasian Journal of Animal Science 27: 847-854.

Al-Jaff, F.K. (2011). Effect of coriander seeds as diet ingredient on blood Parameters of broiler chicks raised under high ambient temperature. International Journal of Poultry Science 10: 82-86.

Al-Mashhadani, E.H.; Al-Jaff, F.K.; Hamodi, S.J. and Al-Mashhadani, H.E. (2011). Effect of coriander oil on broiler Performance and some Physiological traits under high ambient temperature. Pakistan Journal of Nutrition 10: 10-14.

Al-Snafi (2016). A review on chemical constituents and pharmacological activities of Coriandrum sativum. IOSR Journal of Pharmacy. 6 (7):17-42.

www.SID.ir

Archive of SID

Deepa, B. and Anuradha, C.V. (2001). Antioxidant potential of *Coriandrum sativum L.* Seed extract. Indian Journal of Experimental Biology, 49(1): 30-8.

Dhanapakiam, P.; Joseph, J.M.; Ramaswam, V.K.; Moorthi, M. and Kumar, A.S. (2008). The cholesterol lowering property of coriander seeds (*Coriandrum sativum*): mechanism of action. Journal of Environmental Biology, 29: 53-6.

Draper, H.H. and Hadley, M. (1990). MDA determination as index of lipid peroxidation. Methods in Enzymology 186: 421-430.

ElSayed, S. and Ahmed, S. (2017). Effects of coriander seeds powder (*Coriandrum sativum*) as feed supplements on growth performance parameters and immune response in albino rats. International Journal of Livestock Research, 7(2): 191-200.

Ghazanfari, S.h.; Mohammadi, Z. and Adibmoradi, M. (2015). Effects of Coriander Essential Oil on the Performance, Blood Characteristics, Intestinal Microbiota and Histological of Broilers. Brazilian Journal of Poultry Science, 4: 419-426.

Guinda, A. (2006). Use of solid residue from the olive industry. Grasas Y Aceites, 57: 107-115.

Guler, T.; Ertas, O.N.; Ciftci, M. and Dalki, C.B. (2005). The effect of coriander seed (Coriandrum sativum L.) as diet ingredient on the Performance of JaPanese quail. South African Journal of Animal Science, 35: 261-267.

Hosseinzadeh, H.; Alaw Qotbi, A.A.; Seidavi, A.; Norris, D. and Brown, D. (2014). Effects of Different Levels of Coriander (*Coriandrum sativum*) Seed Powder and Extract on Serum Biochemical Parameters, Microbiota, and Immunity in Broiler Chicks. The Scientific World Journal, 35: 55-65.

Karimi, E.; Gholami, J.; Rezaei, P. and Mazidi, M. (2015). The effect of oral coriander seed extract on lipids, blood glucose, and oxidative stress indicators in streptozotcin-induced diabetic rats. Qom University of Medical Sciences journal, 8(5):85- 92. (in Persian)

Lee, S.W. and Chung, S.S. (2010). A review of the effects of vitamins and other dietary supplements on seizure activity. Epilepsy Behavior. 18(3): 139-50

Mirzavand, M.; Rahimian, Sh. and Sahari, M.A. (2014). Evaluation the effects of mint, parsley, dill, coriander, garlic and basil on broiler performance, blood factors, immune system, intestinal morphology and taste of meat. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 13 (3): 446-459. (in Persian)

Niu, Z.Y.; Liu, F.Z.; Yan, Q.L. and Li, W.C. (2009). Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. Poultry Science. 88: 2101-2107.

Ramadan, M.F. and Morsel, J.T. (2004). Oxidative stability of black cumin (*Nigella sativa L.*) Coriander (*Coriandrum sativum L.*) and niger (*Guizotia abyssinica Cass*.) crude seed oils upon stripping. European Journal of Lipid Science and Technology, 106: 35-43.

Rathore S.S.; Saxena, S.N. and Balraj, S. (2013). Potential health benefits of major seed spices. International Journal of Seed Spices, 3(2): 1-12.

Reische, D.W.; Lillard, D.A. and Eitenmiller, R.R. (2002). common natural ingredients Drugs and Cosmetics, 2th ed. Wiley. New York.

Saeid, J.M. and AL-Nasry, A.S. (2010). Effect of Dietary Coriander Seeds Supplementation on Growth Performance Carcass Traits and Some Blood Parameters of Broiler Chickens. International Journal of Poultry Science, 9(9): 867-870.

Spurlock, M.E. and Savage, J.E. (1993). Effects of dietary protein and selected antioxidants on fatty hemorrhagic syndrome induced in Japanese quails. Poultry Science, 72: 2095-2105.

Wangensteen, H.; Samuelsen, A.B. and Malterud, K.E. (2004). Antioxidant activity in extracts from coriander. Food Chemistry, 88: 293-297.

Received: 23.05.2018
Accepted: 18.02.2019

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

www.SID.ir

Vol. 16, No. 1, Spring, 2020
Arc DOI: 10.22055/ivj.2019.133139.2043

Effect of coriander seed powder and α-tocopheryl acetate on humoral immune response, antioxidant status and some blood parameters in broiler chickens

Sabetan Shirazee, A.A.[1]; Hassanabadi, A.[2] and Agah, M.J.[3]; Nasiri-Moghaddam, H.[2]

Received: 23.05.2018 Accepted: 18.02.2019

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of dietary inclusion of coriander seed and α-tocopheryl acetate on the immunological response, blood, and antioxidant parameters of broiler chickens. Two hundred forty-one-day old chicks (Cobb 500) were randomly assigned to four treatments arranged in a completely randomized design with three replicates and 20 chicks per each group and kept for 42 days. Dietary treatments included a basal diet without additive (negative control), basal diet containing 250 mg/kg alpha-tocopheryl acetate (positive control), and basal diets containing 0.3 and 0.6% coriander powder. In the days of 35 and 42 days old, two birds were selected from each treatment and evaluated for humoral Immune Response. The levels of malondialdehyde (MDA), plasma antioxidants, triglycerides, cholesterol, HDL, LDL, and VLDL were measured at 42 days of age. Serum levels of triglyceride and cholesterol were significantly lower in coriander and α-tocopheryl acetate treatments than the negative control. The use of coriander seed increased the activity of antioxidant enzymes, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase, as well as reduced the serum concentration of malondialdehyde in broiler chickens. Both the total antibody and immunoglobulin M titers were higher in the primary immune response to SRBC injection in coriander seeds and α-tocopheryl acetate treatments compared to the negative control group. However, no significant difference in secondary immune response was observed among all study groups. The results of this study showed that the use of 0.3 and 0.6% coriander seeds in broiler chicken diet improves the immune system, reduces oxidation and balances of blood parameters.

Key words: Coriander seeds, α-tocopheryl acetate, Blood parameters, Antioxidation indexes, Broiler chickens

1- Assistant professor, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Academic staff in Islamic Azad University of Fasa
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Assistant professor, Department of Animal Science Research, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran
Corresponding Author: Sabetan Shirazee, A.A., E-mail: sedarat2003@yahoo.com

www.SID.ir