

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

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

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۵

^۱ استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

^۲ دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم زراعی و دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

^۳ دانشیار گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

^۴ استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی

*مسئول مکاتبه: Email: fsamadian@yu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: این مطالعه به منظور بررسی اثرات اسانس گیاه دارویی زنیان و زیلیپاترول هیدروکلراید روی عملکرد رشد و برخی فراسنجه‌های خونی مرتبط با تنش سرمایی در جوجه‌های نر متعلق به خط پدري لاین آرین صورت گرفت. روش کار: در این تحقیق ۱۹۲ قطعه جوجه گوشتی در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۴ با هشت تیمار و شش تکرار که هر تکرار شامل ۴ جوجه بود، استفاده شد. تیمارهای خوراکی شامل اسانس زنیان در دو سطح ۱۵۰ و ۴۵۰ ppm و زیلیپاترول و برنامه دمایی شامل دمای طبیعی و تنش سرمایی بود. خون‌گیری در روزهای ۱۳، ۲۹ و ۳۶ صورت گرفت. نتایج: افزودن خوراکی ۱۵۰ ppm اسانس زنیان، در دوره رشد افزایش وزن روزانه را نسبت به گروه شاهد کاهش داد ($P \leq 0/05$)، ولی اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها نداشت ($P > 0/05$). افزودن اسانس زنیان در هر دو سطح مکمل‌سازی موجب کاهش سطوح فعالیت آنزیمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در خون‌گیری روز ۳۶ و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در خون‌گیری روز ۲۹ شد. تنش سرمایی موجب بالا بردن سطوح هماتوکریت، نسبت H:L و آسپاراتات آمینوترانسفراز در خون‌گیری دوم شد ($P < 0/05$). در بین گروه‌های تیماری پرورش یافته در تنش سرمایی، دوز بالای اسانس زنیان توانست به طور معنی‌داری موجب تخفیف افزایش مشاهده شده در مقادیر مالون‌دی‌آلدئید پلاسمایی (MDA) و سطوح فعالیت ALT تحریک شده توسط سرما در مقایسه با گروه شاهد سرمایی شود ($P < 0/05$). در بین گروه‌های تیماری پرورش یافته در محیط طبیعی، زیلیپاترول، موجب افزایش سطوح کراتین فسفوکیناز، نسبت T3 به T4 و مقادیر MDA پلاسمایی در مقایسه با گروه «شاهد-برنامه دمایی طبیعی» گردید. نتیجه‌گیری نهایی: اسانس زنیان، به علت اثرات نشان داده شده آنتی‌اکسیدانی و ضد تنشی خود ممکن است در تخفیف اثرات تنش سرمایی مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: جوجه لاین آرین، اسانس زنیان، زیلیپاترول هیدروکلراید، تنش سرمایی، شاخص‌های هماتولوژیکی و

بیوشیمی بالینی

مقدمه

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

مطالعات نشان می‌دهند که تنش‌های اکسیداتیو از طریق تولید رادیکال‌های فعال اکسیژنی (ROS) ممکن است باعث توسعه‌ی سندرم آسیبیت شوند. افزایش پراکسیدهای لیپیدی پلاسما و کاهش آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند گلوتاتیون، آلفاتوکوفرول و اسید اسکوربیک در کبد و شش جوجه‌های گوشتی مبتلا به آسیبیت، دلالت بر استفاده از این آنتی‌اکسیدان‌ها علیه رادیکال‌های اکسیژنی تولید شده در بافت‌ها می‌نماید. احتمال می‌رود که آنتی‌اکسیدان‌ها در خون و در سطح غشای سلول‌های تنفسی، آسیب سلولی را کمتر نموده و از القای هایپوکسی جلوگیری کنند و در نتیجه ممکن است بتوانند احتمال بروز آسیبیت را کاهش دهند (بوتج و همکاران ۱۹۹۵). اثرات مثبتی از آنتی‌اکسیدان‌های غیر گیاهی بر روی بهبود وضعیت سندروم آسیبیت در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است. ایمپلنت ۱۵ میلی‌گرم ویتامین E در جوجه‌های گوشتی از صفر تا سه هفته‌گی (بوتج و

همکاران ۱۹۹۵) و افزودن ۵۰۰ ppm ویتامین C به جیره جوجه‌ها، موجب کاهش معنی‌داری در وقوع آسیبیت و تلفات ناشی از آن شده است (حسن زاده و همکاران ۱۹۹۷). بنابراین، محتمل است که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی نیز بتواند از طریق افزایش ساز و کارهای دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش تنش اکسیداتیو، در کاهش سندرم آسیبیت مفید باشند. در این مطالعه از بین آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی، اسانس گیاه زنیان استفاده شده است که دارای خواص منحصر به فردی است. زنیان گیاه یک ساله‌ای است که در شرق هند، ایران و مصر با گل‌های سفید و دانه‌های کوچک مایل به قهوه‌ای رشد می‌کند. دانه‌های این گیاه دارای بویی شبیه تیمول است و محتویات اسانس‌های گیاهی آن، از تیمول^۲ (۵۴/۵ درصد)، گاماترپین^۳ (۲۲/۹۶ درصد)، آلفاپین^۴ (۰/۱ درصد)، پی‌سایمن^۵ (۱۹/۳۸ درصد) و بتاپین^۶ و سایر مواد از قبیل کارواکرول (۰/۴۶ درصد) تشکیل شده است (محقق زاده و همکاران ۲۰۰۷). دانه‌های این گیاه دارای خصوصیات آنتی‌اسپاسمی، ضد آسم و ضد تنگی نفس است. همچنین اثرات گشادکنندگی برونشی، اثرات آنتی‌کولینرژیک، اثر ممانعت‌کننده بر گیرنده‌های هیستامینی، اثر تحریک‌کنندگی بر گیرنده‌های بتا‌آدرینرژیک و خواص قوی آنتی‌اکسیدانی توسط این گیاه نشان داده شده است (زاهین و همکاران ۲۰۱۰ و بوسکابادی و همکاران ۲۰۰۳).

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

افزودنی‌های خوراکی عبارت بودند از افزودن ۱۵۰ ppm اسانس زنیان (گروه زنیان-۱)، ۴۵۰ ppm اسانس زنیان (گروه زنیان-۲) و افزودن ۱/۶ میلی‌گرم ماده مؤثره از زیلیپاترول هیدروکلراید (ساخت شرکت اینتروت) در کیلوگرم جیره یا ۰/۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده پرنده (گروه زیلیپاترول) که همگی به جیره پایه مکمل‌سازی می‌شدند. بنابراین تیمارها عبارت بودند از: ۱- شاهد، محیط طبیعی ۲- شاهد، محیط سرمایی ۳- زنیان-۱۵۰، محیط طبیعی ۴- زنیان-۱۵۰، محیط سرمایی ۵- زنیان-۴۵۰، محیط طبیعی ۶- زنیان-۴۵۰، محیط سرمایی ۷- زیلیپاترول، محیط طبیعی ۸- زیلیپاترول، محیط سرمایی.

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

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

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

مواد و روش‌ها

پرنده‌ها، جیره غذایی و طرح آزمایشی: در این آزمایش از ۱۹۲ قطعه جوجه نر خط پدری لاین آرین استفاده شد (لاین پدری به علت درشت‌جثه بودن از حساسیت بیشتری نسبت به آسیت برخوردار است). در این تحقیق ۱۹۲ قطعه جوجه گوشتی در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۴ با هشت تیمار و شش تکرار که هر تکرار شامل ۴ جوجه بود، استفاده شد.

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

اندازه‌گیری عملکرد رشد: وزن‌کشی پرنده‌های هر قفس به صورت انفرادی ۳-۴ ساعت پس از قطع دان در روزهای ۳، ۱۲، ۲۹ و ۳۵ دوره پرورش صورت گرفت. برای پرنده‌گان تلف شده نیز مقدار افزایش وزن به ازای روزهای زنده بودن پرنده در آن دوره محاسبه شد. مقدار خوراک مصرفی روزانه هر تکرار برای هر دوره پرورشی محاسبه شد و سپس حداقل مربعات میانگین در مقایسات آماری مورد استفاده قرار گرفت. ضریب تبدیل غذایی نیز از تقسیم متوسط خوراک مصرفی روزانه بر افزایش وزن محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی: نمونه‌های خون از پرنده‌ها (چهار نمونه خون از هر تیمار) در روزهای ۱۳ (قبل از اعمال تنش سرمایی)، ۲۹ (خاتمه دوره تنش سرمایی) و ۳۶ (روز کشتار) از ورید بال گرفته شد. برای اندازه‌گیری غلظت آنزیم کراتین فسفوکیناز (CPK) از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون استفاده شد. اساس اندازه‌گیری بر اساس روش DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) و IFCC (فدراسیون بین‌المللی شیمی بالینی و طب آزمایشگاهی) بود. برای اندازه‌گیری آلکالین فسفاتاز (ALP) از کیت‌های زیست شیمی و بر اساس روش DGKC/DEA/Kinetic, Endpoint استفاده شد. برای سنجش آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) از کیت‌های زیست شیمی و بر اساس روش Optimized Reitman-Frankel استفاده شد. فعالیت آنزیم‌ها بر حسب واحد در لیتر محاسبه و گزارش شدند.

تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسیت: جهت تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسیت، از نمونه‌های خون‌گیری شده در روز بیست و نهم، گسترش‌های خونی روی لام تهیه شد و بعد از خشک شدن در مجاورت هوا در جایگاه رنگ‌آمیزی به صورت افقی قرار داده شدند و سپس

سطح لام با رنگ رایت به طور کامل برای ۱ الی ۳ دقیقه پوشانده شد. بدون تخلیه رنگ، هم حجم آن آب مقطر به رنگ افزوده شد و با دمیدن توسط پیپت، رنگ و آب مخلوط شدند تا رنگ‌های قلیایی و اسیدی از تجزیه رنگ حاصل شوند. بعد از ۳ تا ۵ دقیقه سطح لام با آب مقطر شستشو داده شد، پشت لام تمیز شده و لام به صورت مایل قرار گرفت تا خشک شود. بررسی لام‌ها با میکروسکوپ نوری و در بزرگنمایی $\times 100$ و مطابق دستورالعمل استاندارد طیور (کمبل ۱۹۸۸) صورت گرفت. در هر میدان میکروسکوپی فقط هتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها مورد شمارش قرار گرفتند، تا جایی که جمع هتروفیل و لنفوسیت شمرده شده به صد عدد برسد. تمام شمارش‌های سلولی توسط یک فرد صورت گرفت. **تعیین درصد هماتوکریت:** هماتوکریت در نمونه‌های مربوط به خونگیری روز ۲۹ و ۳۶ تعیین شد. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از هر قفس در همان روز به آزمایشگاه منتقل شد. مقداری از هر نمونه خون، جهت تعیین هماتوکریت در لوله‌های موئین مخصوص قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت و سپس با استفاده از خطکش مخصوص هماتوکریت، درصد هماتوکریت هر نمونه مشخص گردید.

اندازه‌گیری هورمون‌های تیروئیدی: سنجش هورمون‌های تیروئیدی از نمونه‌های پلاسمایی روز بیست و نهم و با استفاده از کیت‌های سنجش شرکت پیش‌تاز طب و به روش الیزا صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید از نمونه‌های پلاسمای حاصل از خونگیری روز کشتار استفاده شد. بدین طریق که ابتدا یک میلی‌لیتر از نمونه را با دو میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۱۰ درصد مخلوط نموده تا پروتئین پلاسما رسوب کند. بعد از ته‌نشینی و رسوب پروتئین مجدداً مایع رویی سانتریفوژ گردید تا رسوبات دیگر آن ته‌نشین شود. مایع رویی با تیوباریتوریک اسید (TBA) ۰/۷٪ درصد با حجمی برابر و به مدت ۱۰

تلفات به ترتیب مربوط به گروه زنیان-۴۵۰ و گروه شاهد بود. از این رو شاید بتوان ادعا نمود که اسانس گیاهی به کار رفته موجب کاهش میزان مرگ و میر ناشی از تنش سرمایی شده است.

اثر متقابل جیره \times محیط بر روی افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی پرنده‌ها در دوره رشد و پایانی معنی‌دار نبود. بنابراین تنها به ارائه اثرات اصلی اکتفا شده است. اثر اصلی افزودنی خوراکی و محیط پرورشی بر عملکرد به ترتیب در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است. میانگین افزایش وزن بدن در دوره رشد در تیمار زنیان-۱۵۰ در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). جدول ۴ نشان می‌دهد که اثر سطوح اسانس خوراکی بر مصرف خوراک روزانه پرنده‌ها معنی‌دار نبود و زیلیپاترول در دوره رشد در پرندگان محیط طبیعی و نه در پرندگان تنش سرمایی موجب کاهش مصرف خوراک شده است. تأثیر تیمارهای خوراکی بر فعالیت آنزیم‌ها و برخی از فراسنجه‌های خونی در جدول ۵ ارائه شده است. در خون‌گیری‌های دوم و سوم افزودن خوراکی ۴۵۰ ppm اسانس زنیان موجب کاهش سطوح ALT پلاسمایی در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.05$). افزودنی‌های خوراکی تأثیر معنی‌داری بر سطوح AST پلاسمایی در هیچ یک از مراحل خون‌گیری نداشته است ($P > 0.05$). مکمل‌سازی خوراکی دوز بالای اسانس زنیان موجب کاهش معنی‌دار سطوح فعالیت آنزیمی CPK پلاسمایی نسبت به گروه شاهد در خون‌گیری نهایی گردید ($P < 0.05$).

هر چند زیلیپاترول در مرحله دوم و سوم خون‌گیری سطوح فعالیت ALT پلاسمایی را کاهش داد ($P < 0.05$) ولی این بتا آگونیسست موجب افزایش سطوح ALP و CPK پلاسمایی در خون‌گیری دوم در مقایسه با گروه شاهد گردید ($P < 0.05$).

دقیقه در آب جوش قرار گرفت. پس از خنک شدن، غلظت مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد (کنان کوبان و اینانس ۲۰۰۴).

تعیین نسبت وزن بطن راست نسبت به وزن مجموع دو بطن: به منظور تعیین نسبت وزن بطن راست نسبت به وزن مجموع دو بطن (RV/TV)، جوجه‌ها در ۳۶ روزگی کشتار شدند و پس از کالبد گشایی، قلب هر یک از لاشه‌ها جدا شده و عروق بزرگ، سینوس‌ها، دهلیزها و چربی‌های اطراف قلب به دقت حذف گردید به طوری که فقط بطن‌ها باقی ماندند. سپس بطن راست از دیواره بین دو بطن بریده شد و خون داخل بطن‌ها تخلیه گردید و وزن بطن راست و مجموع دو بطن با ترازوی حساس اندازه گیری شد.

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

نتایج

تلفات از ابتدای دوره رشد تا روز کشتار در گروه‌های مختلف تیماری در محیط تنش سرمایی به صورت زیر بود: شاهد: ۲۹ درصد؛ زنیان-۱۵۰: ۲۰/۸ درصد؛ زیلیپاترول: ۱۶/۶۶ درصد؛ زنیان-۴۵۰: ۴/۱ درصد. در محیط طبیعی درصد تلفات ناچیز بوده و در این محیط فقط یک پرنده از گروه زیلیپاترول و یک پرنده از گروه زنیان-۴۵۰ تلف شد (۴/۱ درصد). کمترین و بیشترین

تأثیر محیط پرورشی و تنش سرمایی بر فعالیت آنزیم‌ها و فراسنجه‌های خونی در دفعات مختلف خون‌گیری در جدول ۶ ارائه شده است. همان طور که در این جدول مشاهده می‌شود، سطوح پلاسمایی آنزیم AST در خون‌گیری دوم ($P < 0/05$) و سطوح پلاسمایی آنزیم ALT و CPK در خون‌گیری سوم ($P < 0/01$) در محیط تنش سرمایی به طور معنی‌داری بالاتر از محیط طبیعی بود. تنش سرمایی از نظر آماری سطوح ALP پلاسمایی را تحت تأثیر قرار نداد ($P > 0/05$).

همان طور که در جدول ۵ نشان داده شده است، مکمل نمودن جیره با افزودنی‌های خوراکی تأثیر معنی‌داری بر مقادیر هورمون‌های تیروئیدی نداشته است ($P < 0/05$). اثر اصلی افزودنی‌های خوراکی در مورد فراسنجه‌های MDA و نسبت هتروفیل به لنفوسیت معنی‌دار بود ($P < 0/05$)، به طوری که مکمل‌سازی خوراکی ۴۵۰ اسانس زنیان موجب کاهش این فراسنجه‌ها در مقایسه با گروه شاهد گردید ($P < 0/05$). نسبت وزن بطن راست به مجموع دو بطن تحت تأثیر تیمارهای خوراکی و محیط پرورش قرار نگرفت ($P > 0/05$).

شرایط محیط پرورشی تأثیر معنی‌داری بر مقادیر هورمون‌های تیروئیدی و غلظت MDA نشان نداد ($P > 0/05$). اثر اصلی محیط پرورشی بر فراسنجه «نسبت هتروفیل به لنفوسیت» معنی‌دار بود ($P < 0/05$)، به طوری که تنش سرمایی موجب افزایش این نسبت در جوجه‌ها گردید (به ترتیب ۰/۳۶ و ۰/۵۳ در محیط پرورشی طبیعی و تنش سرمایی؛ جدول ۶). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که درصد هماتوکریت در خون‌گیری دوم در پرندگانی که تحت تنش سرمایی قرار گرفتند از نظر آماری در سطح ۰/۰۵ افزایش یافت (جدول ۶).

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

Table 1- Ingredients and composition of the basal diet

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

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

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

اثرات اصلی Main effect	میانگین افزایش وزن بدن DBWG (gr)		ضریب تبدیل غذایی FCR	
			13-29 days	30-35 days
	13-29 days	30-35 days	13-29 days	30-35 days
شاهد Control	41.27 ^a	65.31	2.31	2.52
زنیان-۱۵۰ Ajwain-150	37.66 ^b	66.31	2.40	2.52
زنیان-۴۵۰ Ajwain-450	40.40 ^{ab}	60.80	2.28	2.69
زیلیپاترول Zilmax	40.39 ^{ab}	62.54	2.28	2.58
SEM	0.80	2.52	0.05	0.08

میانگین‌های هر ستون با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$).

Means within same column with different superscripts differ ($P \leq 0.05$).

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

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

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

میانگین‌های هر ستون با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$).

Means within same column with different superscripts differ ($P \leq 0.05$).

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

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

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

میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$).

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

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

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

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

میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$).

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

سرمایی بر افزایش درصد هماتوکریت را تخفیف دهند (جدول ۷). در خون‌گیری دوم، میانگین مقادیر CPK در گروه زیلیپاترول-طبیعی در مقایسه با گروه شاهد طبیعی بالاتر بود ($P < 0.05$). همچنین در گروه زیلیپاترول-سرما فعالیت آنزیمی ALP افزایش قابل توجهی نسبت به سایر گروه‌های تیماری نشان داد ($P < 0.05$).

در مورد فراسنجه‌های که اثر متقابل جیره در محیط در مورد آنها معنی‌دار شده بود، از ذکر اثرات اصلی صرف‌نظر شده و اثرات متقابل در جدول ۷ ارائه شده است. «نسبت هتروفیل به لنفوسیت» و مقادیر مالون‌دی‌آلدئید پلاسمایی در گروه زنیان-۴۵۰-سرما در مقایسه با گروه شاهد-سرما کاهش نشان داد ($P < 0.05$). هیچ کدام از افزودنی‌های خوراکی نتوانستند اثر تنش

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

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

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

میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند ($P < 0.05$).

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

بحث

در حالی که در مطالعات قبلی نشان داده شده است که مکمل نمودن زیلیپاترول به جیره پایانی بلدرچین (محمدی و همکاران ۲۰۱۲) و جوجه گوشتی (خیرخواه و همکاران ۲۰۱۲) باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی پرندگان می‌شود. اختلاف در نتایج عملکردی در مطالعات مختلف را می‌توان به شرایط پرورشی، ترکیب جیره پایه و حضور مقادیر کافی از اسیدهای آمینه ضروری، نوع بتا آگونیسست، سطح و مدت مکمل سازی زیلیپاترول به جیره نسبت داد (مرسمن ۲۰۰۲). همچنین در بالاتر بودن واریانس پاسخ در بین بتا آگونیسست‌ها، ممکن است عواملی چون تأثیر پذیرفتن این ترکیبات از سن، گونه، جنس، جیره و نوع پرورش و دیگر شرایط مؤثر باشد. در این آزمایش تنش سرمایی در کل تأثیر سویی بر عملکرد

در مورد اثر زنیان بر عملکرد جوجه‌های گوشتی گزارشی وجود ندارد، ولی یافته حاضر در سازگاری با مطالعات دیگری است که گزارش کردند مکمل‌سازی خوراکی اسانس‌های مختلف گیاهی تأثیر مثبتی بر عملکرد پرندگان نداشته است (کیرکپینار و همکاران ۲۰۱۱). کاهش وزن پرندگان و عدم مشاهده تأثیر معنی‌دار اسانس زنیان بر ضریب تبدیل غذایی، ممکن است به ترکیب جیره پایه، شرایط محیط پرورشی، دوره مکمل‌سازی و سن پرندگان در یافت‌کننده اسانس نسبت داده شود (کیرکپینار و همکاران ۲۰۱۱). مکمل‌سازی زیلیپاترول (در دوره ۱۳ تا ۳۲ روزگی) تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن پرندگان نداشت،

متقابل جیره در محیط برای فراسنجه CPK نیز مشاهده می‌شود که اختلاف بین فعالیت آنزیمی CPK بین گروه «زیلپاترول-طبیعی» و «شاهد-طبیعی» معنی‌دار بود. گزارش شده است که تنش اکسیداتیو با تحریک فعالیت دستگاه عصبی خودمختار و افزایش احتمال تولید رادیکال‌های آزاد، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های ALP و CPK شود (اوها ۲۰۰۹). در جوجه‌های گوشتی در پاسخ به قرار گرفتن در معرض تنش‌های محیطی و پاتولوژی‌های مختلف (از جمله آسیب عضلانی، بیماری‌های ریوی و فعالیت شدید ماهیچه‌های تنفسی در نتیجه هایپوکسی)، آنزیم CPK به جریان خون آزاد می‌شود (بوگین و همکاران ۱۹۹۷). همچنین ALP نیز یکی از شاخص‌های اختلالات کبدی و استخوانی است و فعالیت آنزیمی آن در بسیاری از بیماری‌های کبدی، استخوانی، صفراوی و سوء تغذیه افزایش می‌یابد (نایت ۲۰۰۵). همچنین در مطالعه‌ای که در آن مقایسه‌ای بین فراسنجه‌های هماتولوژیکی لاین‌های مقاوم و حساس به آسیب صورت گرفت، مشاهده شد که فعالیت ALP سرمی در پرندگان حساس به آسیب بالاتر بود (بالوگ و همکاران ۲۰۰۳). با توجه به اثرات متقابل جیره در محیط برای این فراسنجه‌ها مشاهده می‌شود که تنش سرمایی نتوانست موجب بالاتر رفتن سطوح فعالیت آنزیمی ALP و CPK گردد. هر چند از مقایسه سطوح فعالیت آنزیمی CPK در بین گروه‌های قرار گرفته‌ی قبلی در معرض تنش سرمایی و گروه‌های تحت برنامۀ دمایی طبیعی در خون‌گیری پایانی، مشاهده می‌شود که در پرندگان مصرف‌کننده دوز پایین اسانس زنیان تنش سرمایی تأثیر معنی‌داری بر این فراسنجه داشته باشد ($P < 0.05$).

پرنده‌ها داشته است (جدول ۳) و موجب افزایش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی و کاهش وزن روزانه پرنده‌ها گردید ($P < 0.05$).

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

چنین به نظر می‌رسد که تنش سرمایی موجب آسیب در کبد پرنده شده است. این یافته با نتایج خضرای نیا و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت دارد که نشان دادند تنش سرمایی سطوح آنزیم را در پلاسما قبل از مشاهده علائم بالینی آسیب، بالا می‌برد؛ ولی با نتایج دانشیار و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت ندارد که گزارش کردند فعالیت آنزیم‌های AST و ALT بین پرندگان محیط طبیعی و محیط تنش سرمایی مشابه بود. در مطالعه‌ای دیگر تیمار سرمایی علی‌رغم تفاوت‌های اندک، اثر معنی‌داری بر فعالیت این آنزیم‌ها نداشت (خزعلی و همکاران ۲۰۰۵). فعالیت AST و ALT سرم (آنزیم‌های کبدی) برای ارزیابی عملکرد کبد به کار رفته‌اند و صرف نظر از منشأ آن، افزایش در فعالیت این آنزیم‌ها با تخریب هپاتوسیت‌ها یا آسیب کبدی مرتبط شده است (میر ۲۰۰۴). در آسیب‌های حاد کبدی به طور معمول فعالیت AST سرمی یک روز بعد از آسیب به حداکثر میزان خود می‌رسد و حدود پنج روز بعد از ایجاد ضایعه حاد به میزان پایه برمی‌گردد (میر ۲۰۰۴).

زیلپاترول هیدروکلراید بعد از خاتمه دوره تنش سرمایی موجب افزایش سطوح آنزیم‌ها ALP شد. از مقایسه اثر

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

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

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

میانگین‌های هر ردیف با حروف لاتین غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (P<0/05).

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

سازد. نسبت T3 به T4 در گروه «زنیان-۴۵۰-سرما» در مقایسه با گروه «زیلیپاترول-سرما» به طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) بیشتر بود (جدول ۴). نقش هورمون‌های تیروئیدی در کنترل نرخ متابولیکی به ویژه در شرایط تنش سرمایی امری شناخته شده است (یا هو ۲۰۰۰). در پرندگان آسیتی یک ناتوانی در تبدیل T4 به T3 شکل می‌گیرد (کاهش نسبت T3 به T4) که احتمالاً به دلیل پاسخ به تنش هیپوکسی و ارتباط آنتاگونیستی بین هورمون‌های تیروئیدی و کورتیکوسترون است (گریس و هم‌گاران ۱۹۹۹). افزایش نرخ متابولیکی در اثر تنش سرمایی با افزایش در ترشح هورمون T4 همراه می‌باشد که در اندام‌های پریفرال و به طور عمده در کبد جوجه‌ها به T3 دی‌آی‌ودینه می‌شود. هورمون T3 شکل فعال هورمون است و موجب تنظیم و کنترل دمایی بدن شده و یک محرک رشد در جوجه‌هاست (یا هو ۲۰۰۰). محققین استدلال نمودند که کاهش شکل فعال هورمون تیروئیدی می‌تواند منجر به عدم مطابقت بین نیاز و عرضه اکسیژن در سطح بافت‌ها شود و نقش مهمی در ناتوانی در اکسیژن‌رسانی کافی در جوجه‌های گوستی ایفا می‌نماید که در نهایت منجر به آنوکسی، ناتوانی قلبی و آسیت می‌شود (حسن زاده ۲۰۰۹).

اسانس زنیان در هر دو سطح مکمل‌سازی، موجب کاهش معنی‌دار نسبت هتروفیل به لنفوسیت نسبت به گروه شاهد شد (جدول ۲). همچنین اثر اصلی محیط پرورشی بر این فراسنجه معنی‌دار بود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۳). هر گونه تنش می‌تواند تحریک غده آدرنال را افزایش داده تا هورمون‌هایی از قبیل کورتیکوسترون تولید شوند. این هورمون‌ها اثر مستقیمی در تجزیه یک سلول لنفاوی داشته که موجب افزایش در نسبت هتروفیل به لنفوسیت می‌شوند. نسبت هتروفیل به لنفوسیت یک معیار شناخته شده از تنش در پرندگان می‌باشد که به عنوان ابزار ارزشمندی در تحقیقات بر روی تنش استفاده می‌شود. این شاخص، همچنین به عنوان معیار انتخاب برای مقاومت به تنش در جوجه‌های گوستی پیشنهاد

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

در خون‌گیری مرحله دوم، اسانس زنیان در هر دو سطح مکمل‌سازی توانست در طی پرورش در محیط سرمایی موجب کاهش سطوح فعالیت ALT پلاسمايي در مقایسه با گروه «شاهد-سرمایی» شود ($P < 0/05$ ؛ جدول ۴). همچنین در خون‌گیری پایانی مشاهده گردید که سطوح فعالیت ALT در هر دو سطح اسانس زنیان پایین‌تر از جیره شاهد بود (جدول ۳). در مطالعه‌ای مکمل نمودن خوراکی برگ رزماری مقدار ALP و ALT پلاسمايي را متأثر نساخت در حالی که سطوح AST در گروه شاهد کمتر از گروه‌هایی بوده است که در سطح ۱ و ۲ در صد مکمل برگ رزماری دریافت می‌کردند (غزاله و علی ۲۰۰۸). برای نتیجه‌گیری در مورد اثر زنیان بر سطوح فعالیت آنزیم‌های مرتبط با سلامت قلب و کبد پرند، به مطالعات بیشتری نیاز است.

در پژوهش حاضر مقادیر هورمون‌های تیروئیدی پلاسمايي فقط در خاتمه دوره تنش سرمایی (روز ۲۹) مورد سنجش قرار گرفت و مشاهده شد که افزودنی‌های خوراکی تأثیر معنی‌داری بر مقادیر هورمون‌های T3 و T4 پلاسمايي نداشته است. علت این امر احتمالاً چنین باشد که شدت و طول دوره تنش سرمایی به حدی نبوده تا مقادیر هورمون‌های تیروئیدی پلاسمايي را متأثر

است توجیهی برای افزایش هماتوکریت در این پرندگان باشد. ویسکوزیته خون در نتیجه بالا رفتن هماتوکریت افزایش می‌یابد و ممکن است به توسعه سندرم آسیت کمک نماید (ساتو و همکاران ۲۰۰۲).

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

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

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

در مطالعه حاضر تنش سرمایی موجب افزایش درصد هماتوکریت پلاسمایی شد ($P \leq 0.05$)، ولی بعد از بر طرف شدن تنش سرمایی و خون‌گیری در هفته بعدی (روز ۳۶)، تفاوت معنی‌داری بین دو محیط پرورشی از نظر این فراسنجه مشاهده نشد. گزارش شده است که مقادیر هماتوکریت و ویسکوزیته خون توسط القای سرمایی آسیت افزایش می‌یابد و هنگامی که پرندگان آسیتی به مدت ۱۴ روز در دمای کنترل شده محیطی ($20 \pm 0.5^\circ\text{C}$) نگهداری شدند علایم آسیت در اکثر پرندگان از بین رفت و هماتوکریت به حدود طبیعی خود کاهش یافت (ساتو و همکاران ۲۰۰۲). افزایش هماتوکریت خون یک افزایش فیزیولوژیکی جبرانی است که در پی هیپوکسی رخ می‌دهد. بالا رفتن سطوح کورتیکوسترون و نقش تحریک‌کنندگی این هورمون در تکثیر اریتروسیت‌ها ممکن

منابع مورد استفاده

- Al-Murrani WK, Kassab A, Al-Sam HZ and Al- Athari AM, 1997. Heterophil/lymphocyte ratio as a selection criterion for heat resistance in domestic fowls. *British Poultry Science* 38: 159-163.
- Balog JM, Kidd BD, Huff WE, Huff GR, Rath NC and Anthony NB, 2003. Effect of cold on broilers selected for resistance or susceptibility to ascites syndrome. *Poultry Science* 82: 1383-1387.
- Bogin E, Peh CH, Avidar B and Cahaner A, 1997. Sex and genotype dependence on the effects of long term high environmental temperatures on cellular enzyme activities from chicken organs. *Avian Pathology* 26: 511-524.
- Boskabady MH, Ramazani M and Tabei T, 2003. Relaxant effects of different fractions of essential oil from *Carum copticum* on guinea pig tracheal chains. *Phytotherapy Research* 17(10): 1145-1149.
- Bottje WG, Enkvetchakul B and Moore R, 1995. Effect of α -tocopherol on antioxidants, lipid peroxidation, and the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers. *Poultry Science* 74: 1356-1369.

- Bottje WG and Wideman RF, 1995. Potential role of free radicals in the pathogenesis of pulmonary hypertension syndrome. *Poultry Avian Biology Review* 6: 221–231.
- Campbell TW, 1988. *Avian hematology and cytology*. Iowa State Univ. Press, Ames, IA.
- Currie RJW, 1999. Ascites in poultry: recent investigations. *Avian Pathology* 28: 313-326.
- Dawson YL, Gores GL and Nieminen AL, 1993. Mitochondria as a source of reactive oxygen species during reductive stress in rats hepatocytes. *American Journal of Physical Anthropology* 264: 961-967.
- Enkyetchakul B, Bottje W, Anthony N, Moore R and Huff W, 1993. Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers. *Poultry Science* 72: 2272–2280.
- Geris KL, Berghman LR, Kuhn ER and Darras VM, 1999. The drop in plasma thyrotropin concentrations in fasted chickens is caused by an action at the level of the hypothalamus: role of corticosterone. *Domestic Animal Endocrinology* 16: 231–237.
- Ghazalah AA and Ali AM, 2008. Rosemary Leaves as a Dietary Supplement for Growth in Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science* 7 (3): 234–239.
- Gupta AR, 2011. Ascites syndrome in poultry: a review. *World Poultry Science Journal* 67: 457-468.
- Hassanzadeh M, Buyse N, Dewil E, Rahimi G and Decuypere E, 1997b. The prophylactic effect of vitamin C supplementation on broiler ascites incidence and plasma thyroid hormone concentration. *Avian Pathology* 26: 33–44.
- Hassanzadeh M, Buyse J and Decuypere E, 2002. Further evidence for the involvement of cardiac b-adrenergic receptors in right ventricle hypertrophy and ascites in broiler chickens. *Avian Pathology* 31: 177–181
- Hassanzadeh M, 2009. New approach for the incidence of ascites syndrome in broiler chickens and management control the metabolic disorders. *International Journal Poultry Science* 8(1): 90–98.
- Kaneko J, 1989. *Clinical biochemistry of domestic animal*. 4th Ed. Acad. Press, IWC.
- Kenan Coban Y and Inanc F, 2004. Low-volume tumescent liposuction does not change plasma malondialdehyde levels: A preliminary study. *Aesthetic Plastic Surgery* 28: 321–323.
- Khajali F and Qujeq D, 2005. Relationship between growth and serum lactate dehydrogenase activity and the development of ascites in broilers subjected to skip-a-day feed restriction. *International Journal Poultry Science* 4: 317–319.
- Khalafalla FA, Ali FMH, Zahran DA and Mosa AMA, 2011. Influence of Feed Additives in Quality of Broiler Carcasses. *Journal of World's Poultry Research* 2(3): 40–47.
- Khazraeinia P, Arab H, Zaeemi M and Jamshidi R, 2009. *Journal of Veterinary Research (Research and Development)* 82: 74-79 (In Persian).
- Kheyrkhah H, Towhidi A, Moravej H and Mohammadi Arkhelu M, 2011. Effects of different levels of zilpaterol hydrochloride on performance, carcass quality and some blood parameters of broilers. *Iranian Journal of Animal Science* 43(1): 51–60. (In Persian)
- Kirkpınar F, Bora Ünlü H and Özdemir G, 2011. Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcass, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. *Livestock Science* 137: 219–225
- Knight JA, 2005. Liver function tests: their role in the diagnosis of hepatobiliary diseases. *Journal of Infusion Nursing* 28:108-117.
- Malucelli A, Ellendorff F and Meyer HHD, 1994. Tissue distribution and residues of clenbuterol, salbutamol, and terbutaline in tissues of treated broiler chickens. *Journal of Animal Science* 72: 1555–1560
- Mersmann HJ, 2002. Beta-adrenergic receptor modulation of adipocyte metabolism and growth. *Journal of Animal Science* 80: 24–29.
- Meyer JD, 2004. *Veterinary laboratory medicine, Interpretation & Diagnosis*. Third edition. USA. 161p.
- Mohagheghzadeh A, Faridi P and Ghasemi Y, 2007. *Carum copticum* Benth. & Hook., essential oil chemotypes. *Food Chemistry* 100: 1217–1219.

- Mohammadi-Arehlo M, Towhidi A, Moravej H and Zare Shahaneh A, 2012. Effect of different levels of zilpaterol hydrochloride in two days on-two days off feeding program on performance, carcass quality and blood metabolites in Japanese quails. *Animal Production Research* 1(3): 1–8.
- Nemati MH, Shahir MH, Harakinezhad MT and Lotfalian H, 2017. Cold-Induced Ascites in Broilers: Effects of Vitamin C and Coenzyme Q10. *Brazilian Journal of Poultry Science* 19(3): 537-544.
- Ocampo L, Cortez U, Sumano H and Avila E, 1998. Use of low dose of clenbuterol to reduce incidence of ascites syndrome in broilers. *Poultry Science* 77: 1297–1299.
- Ohta, Y, Kaida S, Chiba S, Tada M, Teruya A and Imai Y, 2009. Involvement of oxidative stress in increases in the serum levels of various enzymes and components in rats with water-immersion restraint stress. *Journal of Clinical Biochemistry* 45: 347–54.
- Ruiz-Feria CA, 2009. Concurrent supplementation of arginine, vitamin E, and vitamin C improve cardiopulmonary performance in broilers chickens. *Poultry Science* 88: 526–535.
- Sato T, Tezuk K, Shibuya H, Watanabe T, Kamata H and Shirai W, 2002. Cold-induced ascites in Broiler chickens and its improvement by temperature-controlled rearing. *Avian Diseases* 46: 989–996.
- Satterlee DG, Aguilera-Qintana I, Munn BJ and Krautmann BA, 1989. Vitamin C amelioration of the adrenal stress response in broilers being prepared for slaughter. *Comparative Biochemistry and Physiology* 99: 569–574.
- Torki M, Akbari M and Kaviani K. 2015. Single and combined effects of zinc and cinnamon essential oil in diet on productive performance, egg quality traits, and blood parameters of laying hens reared under cold stress condition, *International Journal of Biometeorology*, 59: 1169-1177.
- Yahav S, 2000. Relative humidity at moderate ambient temperatures: its effect on male broiler chickens and turkeys. *British Poultry Science* 41: 94–100.
- Zahin M, Ahmad I and Aqil F, 2010. Antioxidant and Antimutagenic activity of *Carum copticum* fruit extracts. *Toxicology in Vitro* 24(4): 1243–1249.

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

F Samadian¹, A Towhidi², MA Karimi Torshizi³ and V Vahedi⁴

Received: July 11, 2016

Accepted: March 15, 2017

¹Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

²Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

³Associate Professor, Poultry Science Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

⁴Assistant Professor, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

*Corresponding author; Email: fsamadian@yu.ac.ir

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

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

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

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

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

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

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

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