

اثر عصاره آویشن باغی و نعنای فلفلی و ویتامین E بر سیستم ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش گرمایی و میزان پراکسیداسیون در تخم‌مرغ‌های تولیدی در طی مدت ماندگاری

مجید بهرامی^۱، فرید شریعتمداری^{۲*} و محمدمیر کریمی ترشیزی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- نویسنده مسئول، استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، پست الکترونیک: shariatf@modares.ac.ir

۳- استادیار، گروه پرورش و تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: مهر ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۹

چکیده

به منظور ارزیابی اثر عصاره الکلی آویشن باغی (*Thymus vulgaris L.*)، عصاره الکلی نعنای فلفلی (*Mentha piperita L.*) و ویتامین E بر سیستم ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش گرمایی و میزان مالون دی‌آلدهید تخم‌مرغ‌های تولیدی در طی مدت ماندگاری، آزمایشی با استفاده از ۱۴۴ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه لوهمن لایت با سن ۲۶ هفته به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایشی شامل: کنترل (بدون افزودنی)، عصاره آویشن، عصاره نعنای و ویتامین E (۲۰۰ ppm) در دو دمای متفاوت سالن نگهداری مرغ‌ها (گرمای متناوب و دمای معمولی) اعمال گردید. میزان عصاره استفاده شده برای سالن خنک ۱٪ و برای سالن گرم ۰/۶٪ به صورت محلول در آب آشامیدنی بود. میزان مالون دی‌آلدهید تخم‌مرغ‌های جمع‌آوری شده در پایان دوره آزمایش به صورت تازه و نگهداری شده به مدت ۱۴ روز در دماهای متفاوت (۴ و ۲۷-۲۳ درجه سلسیوس) مورد ارزیابی قرار گرفتند. قبل و ۱۴ روز بعد از واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل (لاسوتا)، خون‌گیری و میزان پاسخ ایمنی به فاکتورهای مورد بررسی تعیین شد. برای تعیین اثر عوامل مورد بررسی بر تولید آنتی‌بادی ضد گلوبول قرمز خون گوسفند (SRBC) در روزهای ۴۲ و ۴۷ آزمایش آنتی‌ژن تزریق شد. ویتامین E باعث افزایش مقدار آنتی‌بادی علیه واکسن نیوکاسل مرغ‌های نگهداری شده در دمای خنک شد ($P < 0/05$). عیار آنتی‌بادی اولیه و ثانویه علیه SRBC تحت تأثیر دمای محیط به صورت عددی کاهش یافته بود، اما این کاهش معنی‌داری نبود. تیمارهای آزمایشی تأثیری بر عیار آنتی‌بادی علیه SRBC نداشتند ($P > 0/05$). به طوری که میزان مالون دی‌آلدهید تحت تأثیر تنش دمای محیطی بالا به طور معنی‌دار افزایش یافت. تیمارهای آزمایشی موجب کاهش مالون دی‌آلدهید تخم‌مرغ شدند ($P < 0/05$). به نحوی که مقدار مالون دی‌آلدهید در زرده تخم‌مرغ تازه و نگهداری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس به طور معنی‌داری تحت تأثیر ویتامین E، آویشن و نعنای کاهش یافته است ($P < 0/05$)، در حالی که در تیمار ویتامین E کمترین مقدار MDA مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: ویتامین E، عصاره گیاهان دارویی، سیستم ایمنی، مالون دی‌آلدهید.

مقدمه

هر ساله دمای محیطی بالا باعث ضرر اقتصادی فراوانی در صنعت طیور در هر سال می‌گردد. مشاهده شده است که میزان رشد و تولید تخم‌مرغ در طیور زمانی که در دمای محیطی بالا قرار می‌گیرند کاهش می‌یابد (Marsden et al., 1987؛ Howlider & Rose, 1987). این اثر منفی تنش گرمایی بر روی میزان رشد و تولید تخم‌مرغ و گوشت احتمالاً به دلیل کاهش مصرف خوراک پرندگان می‌باشد (Hurwitz et al., 1980). دمای محیطی بالا منجر به استرس اکسیداتیو می‌گردد و همچنین سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی را در شرایط آزمایشگاهی ضعیف می‌کند. در این شرایط سطوح پلاسمایی برخی ویتامین‌ها و مواد معدنی دخیل در سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن کاهش یافته و نیز میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن افزایش می‌یابد. گزارش شده است که اشکال واکنش‌دار اکسیژن (ROS: Reactive oxygen species) همانند پراکسید هیدروژن، اثر مخربی روی رشد سلول و متابولیسم اعمال می‌کنند. مشخص شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند ROS را غیرفعال کنند و سلول‌ها را از آسیب اکسیداتیو محافظت نماید (Iwagami, 1996). از این گذشته، استرس‌های محیطی همراه با کاهش غلظت پروتئین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌ها می‌باشند. دستکاری‌های جیره‌ای، اغلب اثر منفی استرس‌های محیطی روی سیستم آنتی‌اکسیدانی طیور را تخفیف داده‌اند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که جیره‌های غنی از ویتامین E و همچنین برخی ترکیب‌های فنولیک گیاهان دارویی می‌توانند سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی را تقویت و مانع از تولید رایکال‌های آزاد در بدن طیور شده و نیز اکسیداسیون در محصولاتشان را کاهش دهند (Sahin & Kucuk, 2003). در سال‌های اخیر توجه زیادی به خواص

آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنولیک گیاهان دارویی شده است. آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) یکی از گیاهان دارویی خانواده نعنائیان بوده، و از جهت داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی بودن بسیار با اهمیت می‌باشد. ترکیب‌های مؤثره آویشن، تیمول و کارواکرول و پارا-سیمن - ۳و۲- دی‌آل می‌باشند. Botsoglou و همکاران (۱۹۹۷) مشاهده کردند که میزان مالون دی‌آلدئید تخم‌مرغ‌های مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه شده با آویشن کاهش یافته است. همچنین مشخص شده است که این ترکیب‌ها قابل انتقال به تخم‌مرغ می‌باشند، بنابراین احتمالاً می‌توانند موجب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی مصرف‌کنندگان این محصولات نیز گردند. یکی دیگر از گیاهان مهم خانواده نعنائیان، نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) می‌باشد. عصاره و اسانس نعناع به دلیل داشتن ترکیب‌های معطر در صنایع غذایی و تولید فرآورده‌های بهداشتی بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد. در بیشتر دارونامه‌های چاپ شده به‌ویژه در اروپا و آمریکا، از میان گونه‌های نعناع فقط گونه نعناع فلفلی را به سبب ترکیب متتول و اثرهای درمانی آن دارای ارزش دارویی زیادی می‌دانند (Maffei et al., 2007). هدف از این مطالعه بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان دارویی و ویتامین E بر میزان مقابله سیستم آنتی‌اکسیدانی در برابر فساد اکسیداتیو و همچنین افزایش ماندگاری تخم‌مرغ و مقایسه پاسخ ایمنی مرغ‌های تغذیه شده با عصاره گیاهان دارویی و ویتامین E در شرایط نرمال و تنش گرمایی می‌باشد.

مواد و روشها

تعداد ۱۴۴ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه لوهمن لایت با سن ۲۶ هفته به چهار تیمار و سه تکرار (۶ پرنده در تکرار) در هر دو سالن نگهداری اختصاص داده شدند.

شامل شش قطعه مرغ بود، هر دو قفس مجاور به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد و برای جلوگیری از مصرف جیره یک تکرار توسط مرغ‌های تیمار مجاور آن دانخوری روبروی هر تکرار توسط حایلی از تکرار مجاور آن جدا گردید. سیستم آبخوری مرغ‌ها نیز از نیپل بود. آب و خوراک در طول مدت آزمایش (هشت هفته) به طور آزاد در اختیار مرغ‌ها قرار داشت. در سن ۲۸ هفتگی به منظور افزایش تیترا آنتی‌بادی بر علیه بیماری نیوکاسل، واکسن نیوکاسل سویه لاسوتا به صورت قطره چشمی به تمام پرندگان تلقیح گردید. برای بررسی میزان اکسیداسیون تخم‌مرغ‌ها، تخم‌مرغ‌های جمع‌آوری شده در هفته آخر آزمایش به سه دسته تقسیم شدند. در مورد دسته اول در همان روز جمع‌آوری زرده تخم‌مرغ‌ها جدا شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس منجمد شد. دسته دوم و سوم به ترتیب در دمای یخچال (۴ درجه سلسیوس)، اتاق (۲۷- ۲۳ درجه سلسیوس) و هر یک به مدت دو هفته نگهداری شدند. پس از طی این مدت تخم‌مرغ‌ها شکسته و زرده آنها تا زمانی که برای تعیین میزان پراکسید موجود در آن آزمایش شود، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. مالون دی‌آلدئید محصول اصلی تجزیه هیدروپراکسیدهای چربی است. در این آزمایش MDA به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون، توسط روش TBA (Thiobarbituric acid) که به وسیله Botsoglou و همکاران (۱۹۹۴) شرح داده شده و با ایجاد تغییراتی مطابق با آنچه Galobart و همکاران (۲۰۰۱) انجام دادند اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش جهت اندازه‌گیری پاسخ ایمنی، ۰/۲ میلی‌لیتر سوسپانسیون ۸٪ گلبول قرمز خون گوسفند استریل و شستشو شده به عنوان یک آنتی‌ژن غیربیماری‌زا به ورید بال یک مرغ از هر تکرار تزریق شد

تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) تیمار کنترل با جیره پایه (۲۷۰۰ کیلوکالری انرژی متابولیسمی در هر کیلوگرم و ۱۶٪ پروتئین خام) مطابق با فرمول ذکر شده در جدول ۱، تغذیه شد (جیره کنترل)، (۲) جیره کنترل به اضافه ویتامین E، (۳) جیره کنترل به اضافه عصاره الکلی آویشن (به صورت محلول در آب آشامیدنی)، (۴) جیره کنترل به اضافه عصاره الکلی نعناع (به صورت محلول در آب آشامیدنی). مقادیر ویتامین E اضافه شده به جیره آزمایشی ۲۰۰ قسمت در میلیون بود. مرغ‌های تحت شرایط تنش گرمایی مصرف آب آشامیدنی بیشتری دارند، به طوری که به منظور یکسان نمودن میزان دریافت عصاره گیاهان دارویی مقدار مصرف آب در هفته اول آزمایش به دقت در هر دو سالن اندازه‌گیری شد. مقدار عصاره افزوده شده به آب آشامیدنی در تیمارها برای شرایط خنک ۱٪ (شرکت دارویی زردبند) و مقدار عصاره الکلی تیمارها برای شرایط استرس ۰/۶ در نظر گرفته شد. جهت ایجاد شرایط تنش گرمایی مرغ‌ها در دو سالن آزمایشی که دمای یکی از آنها خنک (۲۳±۲) درجه سلسیوس و رطوبت نسبی (۱۰±۰/۵۰) و دیگری مطابق الگوی طبیعی اوج دمای روزانه در فصول گرم سال، به طور متناوب روزانه هشت ساعت توسط هیتر گرم می‌شد (۲±۳۳ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۱±۰/۵۵) قرار داده شدند. ابعاد هر یک از سالن‌های آزمایشی ۲/۹ × ۴/۳ × ۶ متر بود. برنامه نوردی سالن‌ها نیز مطابق راهنمای مدیریت تجاری مرغ تخم‌گذار "لوهمن لایت" و شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. به منظور یکنواخت نمودن ماده آزمایشی، مرغ‌ها در ابتدای آزمایش وزن‌کشی شدند. ابعاد قفس‌های تخم‌گذاری ۴۰ × ۴۷ × ۳۸ سانتی‌متر بود و در هر قفس سه قطعه مرغ قرار داده شد و از آنجایی که هر تکرار

استفاده از روش هموآگلوتینین (HA-HI) واکسن نیوکاسل اندازه‌گیری شد (Pedersen, 2008). این تحقیق به صورت یک آزمایش فاکتوریل ۲×۴ و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. فاکتورها شامل دمای سالن‌های پرورش (دارای دو سطح گرمای متناوب و خنک) و تیمار آزمایشی (عصاره آویشن باغی، عصاره نعناع فلفلی، ویتامین E) بود. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel پردازش و توسط رویه GLM نرم‌افزار SAS آنالیز آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند مشاهده‌ای دانکن انجام شد.

و ۵ روز پس از تزریق از مرغ‌ها خون‌گیری بعمل آمد و تزریق دوم SRBC انجام شد و بعد ۵ روز پس از تزریق دوم جهت بررسی پاسخ ثانویه مجدداً خون‌گیری انجام شد. تیتراژ آنتی‌بادی تولید شده علیه SRBC با استفاده از روش میکروتیتراژ اندازه‌گیری شد (Cross, 2002). روز قبل و چهارده روز بعد از واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل سه پرنده به طور تصادفی از هر تکرار انتخاب و از طریق ورید بال خون گرفته شد. پس از جدا شدن سرم از لخته خون نمونه‌ها به منظور تعیین عیار پادتن علیه ویروس با

جدول ۱- ترکیب جیره غذایی مورد استفاده

درصد در جیره	ماده خوراکی
۶۳/۱۴	ذرت
۲۷/۱۰	کنجاله سویا
۷/۶۰	پودر صدف
۱/۵۰	دی‌کلسیم فسفات
۰/۳۰	نمک
۰/۰۶	دی-ال‌متیونین
۰/۳۰	پیش مخلوط ویتامینی و مواد معدنی ^۱
	ترکیب مواد مغذی جیره
۲۷۲۱/۷۰	انرژی (کیلوکالری در کیلوگرم)
۱۶/۸۲	پروتئین خام (%)
۰/۹۵	لیزین (%)
۰/۳۶	متیونین (%)
۰/۶۴	کل اسیدهای آمینه گوگردار (%)
۳/۲۷	کلسیم (%)
۰/۴۱	فسفر قابل دسترس (%)

هر ۳ کیلوگرم پیش مخلوط ویتامینی و مواد معدنی اضافه شده به جیره دارای مواد مغذی ذیل بوده:

۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K3، ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B1، ۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B2، ۶/۴ میلی‌گرم ویتامین B3 (کلسیم پنتوتنات)، ۲۸ میلی‌گرم ویتامین B5 (نیاسین)، ۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین B6، ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B9 (فولیک اسید)، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B12، ۵۰ میلی‌گرم ویتامین H2 (بیوتین) و ۳۰۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۶۰۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۳۰۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۰۰۰ میلی‌گرم ید و ۱۰۰ میلی‌گرم سلنیوم، کوبالت ۱۰۰ میلی‌گرم.

نتایج

پاسخ ایمنی مرغ‌ها به تزریق SRBC

جدول شماره ۲ مقایسه میانگین تیترا آنتی‌بادی اندازه‌گیری شده علیه گلبول قرمز خون گوسفند را نشان می‌دهد. تیترا آنتی‌بادی ثانویه نسبت به تیترا اولیه به صورت عددی افزایش یافت، اما هیچ کدام از عوامل مورد بررسی تأثیر معنی‌داری بر تیترا آنتی‌بادی اولیه و ثانویه نشان ندادند ($P > 0.05$).

تعیین تیترا آنتی‌بادی بر علیه ویروس نیوکاسل

مقایسه میانگین تیترا آنتی‌بادی سرم علیه ویروس

بیماری نیوکاسل در جدول ۳ داده شده است. مقدار آنتی‌بادی تولید شده علیه ویروس بیماری نیوکاسل بعد از واکسیناسیون افزایش یافت. دمای سالن نگهداری تأثیر معنی‌داری بر مقدار آنتی‌بادی قبل و بعد از واکسیناسیون نداشت ($P > 0.05$). ویتامین E مقدار آنتی‌بادی را ۱۴ روز بعد از واکسیناسیون به طور معنی‌داری افزایش داد ($P < 0.05$). به طوری که اثر متقابل بین عوامل تأثیر معنی‌داری بر تیترا آنتی‌بادی نداشت ($P > 0.05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین تیترا آنتی‌بادی اندازه‌گیری شده علیه گلبول قرمز خون گوسفند

(عکس لگاریتم ۲ آخرین رقت)

تیترا (۲) آنتی‌بادی برای SRBC	تیترا (۱) آنتی‌بادی برای SRBC	فاکتور
۸/۲۵	۴/۱۶	خنک
۷/۹۱	۴/۱۰۰	گرم
۷/۵۰	۴/۱۰۰	کنترل
۸/۵۰	۴/۱۶	آویشن
۷/۵۰	۳/۸۳	نعناع
۸/۸۳	۴/۳۳	ویتامین E
۷/۳۳	۴/۱۰۰	خنک × کنترل
۹/۱۰۰	۴/۶۶	خنک × آویشن
۷/۳۳	۳/۶۶	خنک × نعناع
۹/۳۳	۴/۳۳	خنک × ویتامین E
۷/۶۶	۴/۱۰۰	گرم × کنترل
۸/۱۰۰	۳/۶۶	گرم × آویشن
۷/۶۶	۴/۱۰۰	گرم × نعناع
۸/۳۳	۴/۳۳	گرم × ویتامین E
۰/۳۰	۰/۱۷	SEM

میزان مالون دی آلدئید زرده تخم مرغ

میزان مالون دی آلدئید در زرده تخم مرغ به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون چربی های زرده تخم مرغ در جدول ۴ نشان داده شده است. میزان MDA در زرده تخم مرغ های نگهداری شده در دمای ۴ و ۲۳ درجه سلسیوس تحت تأثیر دمای محیطی بالا به طور معنی داری افزایش یافته است ($P < 0/05$). مقدار MDA در زرده تخم مرغ تازه و نگهداری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس به طور معنی داری تحت تأثیر ویتامین E، آویشن و نعناع

کاهش یافته است ($P < 0/05$). در حالی که در تیمار ویتامین E کمترین مقدار MDA مشاهده گردید. ویتامین E و آویشن به طور معنی داری مقدار MDA در زرده تخم مرغ نگهداری شده در دمای ۲۳ درجه سلسیوس را کاهش دادند ($P < 0/05$). بنابراین کمترین مقدار MDA مربوط به تیمار ویتامین E در شرایط دمای خنک بود. بدین ترتیب، اثر متقابل دما و ویتامین E بر مقدار MDA معنی دار بود ($P < 0/05$).

جدول ۳- مقایسه میانگین تیتراژ آنتی بادی سرم علیه ویروس بیماری نیوکاسل

فاکتور	قبل از	۱۴ روز بعد
	واکسیناسیون	از واکسیناسیون
دمای سالن	خنک	۶/۷۵
	گرم	۷/۴۱
تیمار	کنترل	۶/۶۶
	آویشن	۷/۱۶
	نعناع	۷/۸۳
	ویتامین E	۸/۶۶
اثرهای متقابل	خنک × کنترل	۷/۰۰ abc
	خنک × آویشن	۸/۰۰ abc
	خنک × نعناع	۸/۶۶ ab
	خنک × ویتامین E	۹/۰۰ a
	گرم × کنترل	۶/۳۳ c
	گرم × آویشن	۶/۳۳ c
	گرم × نعناع	۶/۶۶ bc
	گرم × ویتامین E	۸/۶۶ ab
SEM	۰/۲۸۸	۰/۲۸۸

میانگین های با حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی داری را نشان می دهند ($P < 0/05$).

جدول ۴- میزان مالون دی آلدئید تخم مرغ‌های تازه و نگهداری شده در دمای یخچال و اتاق
(میلی گرم در کیلوگرم)

نگهداری شده در دمای	نگهداری شده در دمای	تازه	فاکتور	
اتاق	یخچال			
۰/۰۹۳ b	۰/۰۳۸ b	۰/۰۳۵	خنک	دمای سالن
۰/۲۰۷ a	۰/۰۴۹ a	۰/۰۳۸	گرم	
۰/۲۲۶ a	۰/۰۶۱ a	۰/۰۵۳ a	کنترل	تیمار
۰/۱۰۱ b	۰/۰۴۴ b	۰/۰۳۶ b	آویشن	
۰/۱۹۰ a	۰/۰۴۲ b	۰/۰۳۷ b	نعناع	
۰/۰۸۲ b	۰/۰۲۸ c	۰/۰۲۱ c	ویتامین E	
۰/۱۵۷ b	۰/۰۵۶ ab	۰/۰۴۹ ab	خنک × کنترل	اثرهای متقابل
۰/۰۴۹ c	۰/۰۳۴ cd	۰/۰۳۰ cd	خنک × آویشن	
۰/۱۱۶ bc	۰/۰۴۲ bc	۰/۰۳۳ cd	خنک × نعناع	
۰/۰۴۶ c	۰/۰۲۲ d	۰/۰۲۰ d	خنک × ویتامین E	
۰/۲۹۵ a	۰/۰۶۷ a	۰/۰۵۸ a	گرم × کنترل	
۰/۱۵۶ b	۰/۰۴۶ bc	۰/۰۴۱ abc	گرم × آویشن	
۰/۲۶۱ a	۰/۰۵۰ bc	۰/۰۴۱ abc	گرم × نعناع	
۰/۱۱۶ bc	۰/۰۳۳ cd	۰/۰۲۲ cd	گرم × ویتامین E	
۰/۰۱۹	۰/۰۰۳۱	۰/۰۰۳۰	SEM	

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون اختلاف معنی داری را نشان می‌دهند ($P < 0.05$).

بحث

پاسخ ایمنی مرغ‌ها به تزریق آنتی ژن SRBC

تیتراژ آنتی‌بادی اولیه و ثانویه تحت تأثیر دمای محیط به صورت عددی کاهش یافته است، اما این کاهش معنی‌داری نبود ($P > 0.05$). Zulkifi و همکاران (۲۰۰۰) نیز نشان دادند که تنش گرمایی موجب کاهش ساخت آنتی‌بادی می‌شود. این کاهش ممکن است به‌طور غیرمستقیم به دلیل افزایش سیتوکین‌های التهابی در شرایط تنش باشد که تولید عامل آزادکننده کورتیکوتروپین از هیپوتالاموس را تحریک می‌کند. تولید عامل آزادکننده

کورتیکوتروپین، ترشح هورمون محرک قشر فوق‌کلیه را از هیپوفیز افزایش می‌دهد و در نهایت موجب تحریک ترشح کورتیکوسترون از غده فوق‌کلیه می‌شود. کورتیکوسترون از تولید آنتی‌بادی جلوگیری می‌کند (Gross, 1992). Erf و همکاران (۱۹۹۸) پاسخ ایمنی جوجه گوشتی تغذیه شده با α -dl-توکوفرل استات را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آزمایش نشان داد که تعداد سلول‌های T تیموس تغییر کرده بود و همچنین سلول‌های T کمک‌کننده (CD4) با افزایش مقدار ویتامین E افزایش یافته بود.

تیترا آنتی‌بادی بر علیه ویروس نیوکاسل

اثرهای زیان‌آور تنش گرمایی روی عملکرد سیستم ایمنی به خوبی به اثبات رسیده است (Siegel, 1985). هر چند گزارش‌های متفاوتی در ارتباط با اثر تنش گرمایی وجود دارد. Thaxton و Siegel (۱۹۷۲ و ۱۹۷۳) اثرهای کاهش‌ی استرس گرمایی روی تولید آنتی‌بادی را گزارش کردند. اما Regnier و همکاران (۱۹۸۰) اثر سرکوب‌کننده استرس گرمایی بر سیستم ایمنی را مشاهده نکردند. Panda و همکاران (۲۰۰۸) پاسخ ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه شده با سطوح ویتامین E (۲۵، ۱۲۵ و ۲۵۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم) و ویتامین C (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) تحت شرایط تنش گرمایی را مورد ارزیابی قرار دادند. بر طبق مشاهدات این آزمایش میزان تیترا آنتی‌بادی بر علیه ویروس نیوکاسل تحت تأثیر استرس گرمایی کاهش یافته است. استرس گرمایی آزادسازی کورتیکوسترون و کاته‌کولامین‌ها را تحریک کرده و اکسیداسیون غشای لنفوسیت‌های T و B به‌وسیله رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط این هورمون‌ها را آغاز می‌کنند. کورتیکوسترون آزاد شده در پاسخ به تنش، اثرهای نامطلوب قوی روی سیستم ایمنی دارد.

ویتامین E با حفاظت از سلول‌هایی نظیر لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های پلازما در برابر صدمات اکسیداتیو و افزایش فعالیت و تکثیر این سلول‌ها در پاسخ ایمنی نقش دارد (Franchini et al., 1991; Meydani & Blumberg, 1993). همچنین Kramer و همکاران (۱۹۹۱) نیز گزارش نمودند که افزودن ویتامین E تکثیر لنفوسیت‌ها را در حیوانات اهلی افزایش می‌دهد. Puthongsiriporn و همکاران (۲۰۰۱) اثر سطوح ویتامین E بر تکثیر لنفوسیت‌ها را بررسی کردند. این

محققان تکثیر بیشتر لنفوسیت‌ها را در پاسخ به مواد خارجی مانند کن‌کاناوالین A و لیپوپلی‌ساکاریدها بعد از مکمل نمودن جیره با ۶۵ واحد بین‌المللی در کیلوگرم مشاهده نمودند.

میزان مالون دی‌آلدئید زرده تخم‌مرغ

استرس گرمایی آزادسازی کورتیکوسترون و کاته‌کولامین‌ها را تحریک کرده و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلول را آغاز می‌کند. Mujahid و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که تنش گرمایی منجر به افزایش سطوح ترکیب‌های واکنشی اکسیژن در میتوکندری می‌شوند. سطوح بیش از اندازه ترکیب‌های واکنشی اکسیژن سبب اختلال در تعادل بین اکسیداسیون و سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن می‌گردد، درنهایت پراکسیداسیون لیپیدها منجر به آسیب پروتئین‌ها و DNA (Lin et al., 2006) و مولکول‌های بیولوژیک (Ando et al., 1997) می‌گردد. ترکیب‌های واکنشی اکسیژن، غشای دو لایه لیپیدی سلول را به راحتی تحت تأثیر قرار می‌دهند. مالون دی‌آلدئید محصول اصلی پراکسیداسیون اسیدهای چرب می‌باشد. میزان مالون دی‌آلدئید پلاسمای جوجه‌هایی که تحت تأثیر تنش گرمایی قرار گرفته‌اند افزایش یافته است و همچنین در شرایط استرس گرمایی میزان مالون دی‌آلدئید تخم‌مرغ نیز افزایش می‌یابد (Mujahid et al., 2007).

Puthongsiriporn و همکاران (۲۰۰۱) اثر سطوح مختلف ویتامین E (۲۵ و ۶۵ واحد بین‌المللی در کیلوگرم) بر میزان TBA (یک شاخص برای پراکسیداسیون لیپید) در مرغ‌های تخم‌گذار تحت شرایط استرس گرمایی را مورد بررسی قرار دادند. این مطالعه مشخص نمود که افزودن ۶۵ واحد بین‌المللی در کیلوگرم

می‌دهد که نعناع می‌تواند رادیکال‌های آزاد ناشی از استرس را از بین ببرد، اما این تأثیر از اثر ویتامین E و آویشن کمتر می‌باشد.

میزان مالون دی‌آلدهید در طی دوره ۱۴ روزه نگهداری تخم‌مرغ‌ها در دماهای ۴ و ۲۳ درجه سلسیوس افزایش یافته است. Gebert و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که افزودن ۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی‌گرم آلفاتوکوفریل استات در هر کیلوگرم از جیره مرغ‌های تخم‌گذار موجب افزایش عدد TBA در تخم‌مرغ‌هایی که به مدت ۶ ماه نگهداری شده بودند می‌شود و این طور نتیجه‌گیری نمودند که ویتامین E در این مقدار به‌عنوان پرواکسیدان عمل می‌کند. Botsoglou و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که میزان مالون دی‌آلدهید تخم‌مرغ‌های مرغ‌های تغذیه شده با ۳٪ آویشن که به مدت بیش از ۶۰ روز در یخچال نگهداری شده بود در طی نگهداری تغییری نیافته است. نتایج مشابهی در آزمایشی با استفاده از سطوح مختلف آویشن، پونه کوهی، زرچوبه، رزماری و ویتامین E روی تخم‌مرغ‌های نگهداری شده در دمای ۱۶ درجه سلسیوس مشاهده گردید (Radwan et al., 2008).

به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی می‌توان گفت که تنش گرمایی موجب کاهش بهره‌وری در صنعت طیور به دلیل اثرهای نامطلوبی که بر عملکرد فیزیولوژیکی سلول دارد می‌گردد. از سوی دیگر، امروزه در دنیا توجه خاصی به تولید محصولات عملگر (Functional Food) از جمله تخم‌مرغ‌های غنی‌شده با اسیدهای چرب ضروری نظیر اسید لینولئیک و اسید لینولنیک شده است، بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدانهای مناسب جهت افزایش سطح سیستم آنتی‌اکسیدانی در این شرایط ضروری می‌باشد. ویتامین E، عصاره آویشن و نعناع با از بین بردن رادیکال‌های آزاد و

منجر به افزایش ابقاء آلفاتوکوفریل و در نتیجه زنجیره واکنش‌های پراکسیداسیون را در زرده مرغ‌های تحت تنش گرمایی کاهش می‌دهد. این نتایج با نتایج حاضر مطابقت دارد. همچنین Cherian و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که ویتامین E میزان TBA در تخم‌مرغ و کبد را کاهش داده است.

Botsoglou و همکاران (۱۹۹۷) میزان مالون دی‌آلدهید زرده تخم‌مرغ مرغ‌های تغذیه شده با جیره حاوی آویشن (۳٪) و بدون آویشن را مورد بررسی قرار دادند. این محققان مشاهده کردند که میزان مالون دی‌آلدهید تخم‌مرغ مرغ‌های تغذیه شده با آویشن کاهش یافته است. Radwan و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده کردند که سطوح مختلف آویشن (۵/۰٪ و ۱٪) میزان مالون دی‌آلدهید را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داده است. آنها پیشنهاد کردند که آویشن می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مناسب مورد توجه قرار گیرد.

در آزمایشی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی رزماری، مریم‌گلی، پونه، آویشن، ریحان و نعناع مورد بررسی قرار گرفت (Cosio et al., 2006). مشخص شده است که نعناع دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی متوسط بوده و می‌تواند از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری کند. یکی از آنزیم‌های مهم که نقش قابل‌توجهی در حفظ تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدانی دارد، آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز کبدی است که موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید می‌شود. با تعیین مقدار آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز در کبد موش‌های تغذیه شده با عصاره متانولی نعناع مشخص گردید که مقدار این آنزیم در کبد افزایش و در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد در کبد موش‌ها کاهش یافته است (Samarth et al., 2008). نتایج آزمایش حاضر نشان

- Cherian, G., Wolfe, F.W. and Sim, J.S., 1996. Dietary oils with added tocopherols: effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids and oxidative stability. *Poultry Science*, 75(3): 423-431.
- Cosio, M.S., Buratti, S., Mannino, S. and Benedetti, S., 2006. Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family. *Food Chemistry*, 97(4): 725-731.
- Cross, G., 2002. Hemagglutination inhibition assays. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 11(1): 15-18.
- Erf, G.F., Bottje, W.G., Bersi, T.K., Headrick, M.D. and Fritts, C.A., 1998. Effects of dietary vitamin E on the immune system in broilers: Altered proportions of CD4 T cells in the thymus and spleen. *Poultry Science*, 77: 529-537.
- Franchini, A., Canti, M., Manfreda, G., Bertuzzi, S. Asdrubali, G. and Franciosi, C., 1991. Vitamin E as adjuvant in emulsified vaccine for chicks. *Poultry Science*, 70(8): 1709-1715.
- Galobart, J., Barroeta, A.C., Baucells, M.D. and Guardiola, F., 2001. Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with $\omega 3$ and $\omega 6$ polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. *Poultry Science*, 80: 327-337.
- Gross, W.B., 1992. Effect of short-term exposure of chickens to corticosterone on resistance to challenge exposure with *Escherichia coli* and antibody response to sheep erythrocytes. *American journal of veterinary research*, 53(3): 291-293.
- Gebert, S., Messikommer, R., Pfirter, H.P., Bee, G. and Wenk, C., 1998. Dietary fats and vitamin E in diets for laying hens: Effects on laying performance, storage stability and fatty acid composition of eggs. *Archive of Geflügelk*, 62: 614-622.
- Howliger, M.A.R. and Rose, S.P., 1987. Temperature and the growth of broilers. *World's Poultry Science Journal*, 43: 228-237.
- Hurwitz, S., Weiselberg, M., Eisner, U., Bartov, I., Riesenfeld, G., Sharvit, M., Niv, A. and Bornstein, S., 1980. The energy requirements and performance of growing chickens and turkeys as affected by environmental temperature. *Poultry Science*, 59(10): 2290-2299.
- Iwagami, Y., 1996. Changes in the ultrastructure of human cells related to certain biological responses under hyperthermic culture conditions. *Human Cell*, 9(4): 353-366.
- Kramer, T.R., Schoene, N., Douglass, L.W., Judd, J.T., Ballard-Barbash, R., Taylor, P.R., Bhagavan, H.N. and Nair, P.P., 1991. Increased vitamin E intake restores fish-oil induced suppressed histogenesis of mitogen-stimulated T-lymphocytes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54: 896-902.

یا با ممانعت از تولید رادیکال‌های آزاد می‌توانند افزودنی‌های مناسبی در این راستا باشند. ترکیب‌های فنولی گیاهان دارویی با افزایش کارایی آنزیم‌های دخیل در سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن همانند گلوکوتایون ردوکتاز و همچنین با توجه به قابلیت انتقال به تخم مرغ می‌توانند برای تولید طیور و همچنین سلامتی مصرف‌کننده محصولات آنها مناسب باشند. تولید رادیکال‌های آزاد موجب تضعیف سیستم دفاعی بدن طیور شده و از لحاظ حفظ و افزایش سلامتی طیور از اهمیت شایان توجهی برخوردار می‌باشد. به طوری که دیواره سلولی بسیاری از سلول‌های ایمنی بدن همانند لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها در برابر صدمات اکسیداتیو بسیار حساس بوده و در نتیجه آنها را در مقابل شرایط تنش نظیر تنش گرمایی بسیار آسیب‌پذیر می‌کند. استفاده از یک آنتی‌اکسیدان همانند ویتامین E و همین‌طور دوزهای بالاتر عصاره گیاهان دارویی (استفاده شده در این تحقیق) می‌تواند موجب افزایش کارایی آنزیم‌های سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و همچنین تقویت سلول‌های ایمنی بدن مرغ گردد.

منابع مورد استفاده

- Ando, M., Katagiri, K., Yamamoto, S., Wakamatsu, K., Kawahara, I., Asanuma, S., Usuda, M. and Sasaki, K., 1997. Age-related effects of heat stress on protective enzymes for peroxides and microsomal monooxygenase in rat liver. *Environmental Health Perspectives*, 105(7): 726-733.
- Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassilopoulos, V.N., Mantis, A.J. and Trakatellis, A.G., 1994. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(9): 1931-1937.
- Botsoglou, N.A., Yannakopoulos, A.L., Fletouris, D.J., Tserveni-Goussi, A.S. and Fortomaris, P.D., 1997. Effect of dietary thyme on the oxidative stability of egg yolk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(10): 3711-3716.

- Puthongsiriporn, U., Scheideler, S.E., Sell, J.L. and Beck, M.M., 2001. Effect of vitamin E and C supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. *Poultry Science*, 80(8): 1190-1200.
- Radwan N.L., Hassan, R.A., Qota, E.M. and Fayek, H.M., 2008. Effect of Natural Antioxidant on Oxidative Stability of Eggs and Productive and Reproductive Performance of Laying Hens. *International Journal of Poultry Science*, 7(2): 134-150.
- Regnier, J.A., Kelley, K.W. and Gaskins, C.T., 1980. Acute thermal stressors and synthesis of antibodies in chickens. *Poultry Science*, 59(5): 985-990.
- Sahin, K. and Kucuk, O., 2003. Heat stress and dietary vitamin supplementation of poultry diets. *Nutrition Abstracts and Reviews Series B: Livestock Feeds and Feeding*, 73(7): 41-50.
- Samarth, R.M., Panwar, M., Kumar, M., Soni, A., Kumar, M. and Kumar, A., 2008. Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extracts. *Food Chemistry*, 106(2): 868-873.
- Siegel, H.S., 1985. Immunological responses as indicators of stress. *World's Poultry Science Journal*, 41: 36-44.
- Thaxton, J.P. and Siegel, H.S., 1972. Depression of secondary immunity by high environmental temperature. *Poultry Science*, 51(5): 1519-1526.
- Thaxton, J.P. and Siegel, H.S., 1973. Modification of high temperature and ACTH induced immunodepression by metyrapone. *Poultry Science*, 52(2): 618-624.
- Zulkifli, I., Che Norma, M.T., Israf, D.A. and Omar, A.R., 2000. The effect of early age feed restriction on subsequent response to high environmental temperatures in female broiler chickens. *Poultry Science*, 79(10): 1401-1407.
- Lin, H., Decuyper, E. and Buyse, J., 2006. Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A*, 144(1): 11-17.
- Maffei, M., Berteà, C.M. and Mucciarelli, M., 2007. Anatomy, Physiology, Biosynthesis, Molecular Biology, Tissue Culture, and Biotechnology of Mint Essential Oil Production: 41-87. In: Lawrence, B.M., (Ed.). *Mint: the Genus Mentha*. Taylor and Francis Publishers, London, 576p.
- Marsden, A., Morris, T.R. and Cromarty, A.S., 1987. Effects of constant environmental temperatures on the performance of laying pullets. *British Poultry Science*, 28(3): 361-380.
- Meydani, S.N. and Blumberg, J.B., 1993. Vitamin E and the Immune Response: 223-238. In: Cunningham-Rundles, S., (Ed.). *Nutrient Modulation of the Immune Response*. Marcel Dekker, New York, 556p.
- Mujahid, A., Akiba, Y. and Toyomizu, M., 2007. Acute heat stress induces oxidative stress and decreases adaptation in young white leghorn cockerels by down-regulation. *Poultry Science*, 86(2): 364-371.
- Mujahid, A., Sato, K., Akiba, Y. and Toyomizu, M., 2006. Acute heat stress stimulates mitochondrial superoxide production in broiler skeletal muscle, possibly via downregulation of uncoupling protein content. *Poultry Science*, 85(7): 1259-1265.
- Panda, A.K., Ramarao, S.V., Raju, M.V. and Chatterjee, R.N., 2008. Effect of dietary supplementation with vitamins E and C on production performance, immune responses and antioxidant status of White Leghorn layers under tropical summer conditions. *British Poultry Science*, 49(5): 592-599.
- Pedersen, J.C., 2008. Hemagglutination-inhibition test for avian influenza virus subtype identification and the detection and quantization of serum antibodies to the avian influenza virus. *Avian influenza virus*, 436: 53-66.

Effect of dietary extract of Thyme and Peppermint and vitamin E supplementation on immune responses of laying hen in heat stress and content of peroxidation egg during storage

M. Bahrami¹, F. Shariatmadari^{2*} and M.A. Karimi Torshizi³

1- Msc Student, Department of Animal Science, Agricultural Collage, Tarbiat Modares University, Iran

2*- Corresponding author, Department of Animal Science, Agricultural Collage, Tarbiat Modares University, Iran

E-mail: shariatf@modares.ac.ir

3- Department of Poultry Science, Agricultural Collage, Tarbiat Modares University, Iran

Received: May 2010

Revised: September 2010

Accepted: October 2010

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of dietary extract of thyme and peppermint and vitamin E on layer immune system and performance in heat stress condition and content of peroxidation egg during storage. One hundred forty-four Lohmann strain light hens (26 weeks) allocated to four treatments with 3 replications and 6 birds in each replication. Experiment treatments applied included control, thyme, peppermint and vitamin E (200 PPM) that were hold in two different house temperature (normal and cyclic temperature). Plant extract administrated via drinking water were 1% for normal and 0.6% for warm house. Malondialdehyde (MDA) was determined in fresh and stored eggs for 14 days at different holding temperature (4^{*c} and 23-27^{*c}). Prior to and 14 days after vaccination against Newcastle disease (Lasota) blood samples were collected to evaluate the birds immune responses. To determinate of effects of factors against sheep red blood cell (SRBC) at 42nd and 47th days of experiment antigen were injected. Vitamin E induced antibody against Newcastle vaccination in layers kept at normal temperature (P<0.05). Antibody titration against NV prior vaccination was not affected by any factors. First and second antibody titration against SRBC were numerically decreased under environment temperature effect, but this was not significant (P>0.05). Produced antibody amount was increased against NV after vaccination (P>0.05). Antibody titration was not affected by house temperature. Experiment treatment depressed egg MDA (P<0.05). MDA level in fresh egg yolk and those hold at 4^{*c} were reduced by vitamin E, mint and thyme to the extend that in vitamine E group was lowest of all

Key words: Vitamin E, medicinal plant extract, immune system, MDA.