

تأثیر اشکال و سطوح مختلف سیلی مارین بر کیفیت پوسته، خصوصیات لاشه،  
برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، میزان کلسیم، فسفر استخوان و بیان ژن  
iNos در مرغ‌های تخمگذار مسن

- سمیرا فریادی<sup>۱\*</sup>، اردشیر شیخ احمدی<sup>۲</sup>، ایوب فرهادی<sup>۳</sup>، هیمین نوربخش<sup>۴</sup>  
<sup>۱</sup> گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان  
<sup>۲</sup> گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری  
<sup>۳</sup> گروه صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۱

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۳۸۱۲۲۱۰۹۵

Email: faryadi88@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ ASJ.2022.357609.2206

چکیده

در این پژوهش اثرات پودر سیلی مارین، نانو سیلی مارین و سیلی مارین لستینه شده بر کیفیت پوسته، خصوصیات لاشه، برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، میزان کلسیم و فسفر استخوان و بیان ژن iNOS در مرغ‌های تخمگذار مسن مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد ۷۰ قطعه مرغ تخم‌گذار (۸۰ هفته) از نژاد لوهمن LSL سبک به ۷ تیمار و ۱۰ تکرار اختصاص داده شدند. جیره‌های آزمایشی شامل: (۱) تغذیه بدون سیلی مارین (کنترل)، (۲) تغذیه روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر سیلی مارین، (۳) تغذیه روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر سیلی مارین، (۴) تغذیه روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر نانو سیلی مارین، (۵) تغذیه روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر نانو سیلی مارین، (۶) تغذیه روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن سیلی مارین لستینه شده، (۷) تغذیه روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن سیلی مارین لستینه شده بودند. نتایج پژوهش نشان داد که غلظت کلسترول سرم در تمام گروه‌های دریافت‌کننده سیلی مارین به جز گروه دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم سیلی مارین نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). تغذیه نانوسیلی مارین و سیلی مارین لستینه شده منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن iNos در بافت کبد در مقایسه با گروه کنترل شد ( $P < 0/05$ ). علاوه بر این، اثرات سیلی مارین هنگامی که به نانوسیلی مارین و سیلی مارین لستینه تبدیل و در بالاترین سطح ارائه شد، بارزتر بود ( $P < 0/05$ ). به‌طور کلی نتایج بیانگر این است که کاربرد مکمل غذایی نانوسیلی مارین یا سیلی مارین لستینه در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن توانست چربی خون و بیان ژن iNos را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: نانو سیلی مارین، لستین، پروفایل چربی، مرغ تخم‌گذار.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 136 pp: 71-84

**The effect of different forms and levels of silymarin on shell quality, carcass characteristics, some blood biochemical parameters, calcium content, bone phosphorus and iNos gene expression in older laying hens**

By: Samira Faryadi<sup>\*1</sup>, Ardashir Sheikhhahmadi<sup>1</sup>, Ayoub Farhadi<sup>2</sup>, Himan Nourbakhsh<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Animal Science, Faculty of Agricultural, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

<sup>2</sup> Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

<sup>3</sup> Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

**Received: February 2022**

**Accepted: April 2022**

In this research, the effects of silymarin powder, nano-silymarin and polished silymarin powder on shell quality, carcass characteristics, some blood biochemical parameters, bone calcium and phosphorus content and iNOS gene expression in older laying hens were studied. 70 laying hens (80 weeks) of light LSL of Lohmann race were allocated to 7 treatments and 10 replicates. Experimental diets included; 1) nutrition without silymarin (control), 2) daily nutrition 100 mg / kg body weight silymarin powder, 3) daily nutrition 200 mg / kg body weight silymarin powder, 4) daily nutrition 100 mg / kg body weight nano silymarin powder, 5) daily nutrition 200 mg / kg body weight nano silymarin powder, 6) daily nutrition 100 mg / kg body weight of lecithinized silymarin, 7) daily nutrition 200 mg / kg body weight of lecithinized silymarin. The results of research showed that the serum cholesterol concentration in all groups receiving silymarin except the group receiving 100 mg silymarin was significantly reduced compared to the control group ( $P < 0.05$ ). Nutrition of nanosilymarin and lecithinized silymarin resulted in a significant reduction of iNos gene expression in liver tissue compared to the control group ( $P < 0.05$ ). In addition, the effects of silymarin were more obvious when converted to nanosilymarin and lecithinized silymarin and presented at the highest level ( $P < 0.05$ ). Generally, the results indicate that the use of nanosilymarin or lecithinized dietary supplement at the level of 200 mg / kg body weight could reduce blood lipids and iNos gene expression.

**Key words:** Nano-silymarin, lecithin, lipid profile, laying hen.

**مقدمه**

همکاران، ۲۰۰۹). هدف اصلی از کاربرد این ترکیبات، محافظت حیوانات و محصول آنها در مقابل اکسیداسیون است (Wenk, ۲۰۰۳). سیلی مارین، ترکیب زیست فعال موجود در خارمریم، مخلوطی از شش فلاونولیکنان سیلی بین A، سیلی بین B، ایزوسیلی بین (A و B)، سیلی دیانین، تاکسی فولین و سیلی- کریستین است (Pradhan and Girish, ۲۰۰۶). سیلی بین بخش عمده سیلی مارین یعنی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد آنرا تشکیل می دهد (DerMarderosian, ۲۰۰۱). سیلی مارین به عنوان یک حذف کننده قوی رادیکال های آزاد عمل می کند و با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی درونزا و آنتی اکسیدان های

در سلول های طبیعی یک سیستم آنتی اکسیدانی قوی وجود دارد که باعث از بین بردن گونه های رادیکال آزاد اکسیژن و بنابراین کاهش آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو می شود. با این حال تعادل بین تولید گونه های رادیکال آزاد اکسیژن و سیستم آنتی اکسیدانی می تواند به دلیل کاهش سطح آنتی اکسیدان ها در طول فرآیند پیری به هم بخورد (Tong و همکاران، ۲۰۱۵). از این رو مرغ های مسن تر به سطوح بالاتری از آنتی اکسیدان ها برای محافظت سلول ها و افزایش توسعه بافت ها نیاز دارند. در حال حاضر تمایل به استفاده از آنتی اکسیدان ها با منشاء گیاهی که عمدتاً حاوی ترکیبات فنولی هستند در حال افزایش است (Sellami و

کل، آلبومین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، HDL- کلاسترول، گلوکاتایون پراکسیداز و کاهش در فعالیت آسپارات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، غلظت کراتینین، تری‌گلیسرید، کلاسترول، LDL- کلاسترول و مالون دی‌آلدئید می‌شود. با این حال، به نظر می‌رسد سودمندی این درمان‌ها تحت تأثیر فراهمی زیستی ترکیبات فعال آن‌ها باشد (Lorenzo و همکاران، ۲۰۱۹). بنابراین، جذب روده‌ای کم سیلی مارین (۲۰ تا ۵۰ درصد) (Rathore و همکاران، ۲۰۲۰) ممکن است کاربرد آن را در زمینه‌های فوق را محدود کند. روش‌های مختلفی برای افزایش حلالیت و فراهمی زیستی یک داروی کم محلول در آب وجود دارد. به طوری که گزارش شده است که قابلیت دسترسی سیلی بین هنگام ترکیب شدن با فسفاتیدیل کولین ۱۰ برابر افزایش می‌یابد (Morazzoni و همکاران، ۱۹۹۳). گزارش شده است که کمپلکس فسفولیپید- سیلی مارین می‌تواند جوجه‌های گوشتی را در برابر اثرات مضر آفلاتوکسین B1 محافظت می‌کند (Tedesco و همکاران، ۲۰۰۴). لستین سویا مخلوطی از فسفولیپیدهای مختلف مانند فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل اتانول آمین و فسفاتیدیل اینوزیتول است (Akit و همکاران، ۲۰۱۶) که به عنوان یک ترکیب مناسب برای افزایش جذب روده‌ای سیلی مارین گزارش شده است (Wang و همکاران، ۲۰۱۵). علاوه بر این، در طول دهه گذشته، روش‌های فناوری نانو برای بهبود فراهمی زیستی سیلی مارین در کاربردهای دارویی جدید استفاده شده است (Di Costanzo and Angelico, ۲۰۱۹). ویژگی مهم داروهای نانو کریستالی افزایش توانایی انتقال آنها از غشای سلول است و علاوه بر اینکه صد در صد متشکل از دارو هستند، دارای مزایای دیگری از قبیل افزایش حلالیت و سرعت انحلال و چسبندگی عالی به سطوح بیولوژیکی هستند (Junghanns and Muller, ۲۰۰۸). پروین و همکاران (Parveen و همکاران، ۲۰۱۱) گزارش کردند که دوز پایین نانو امولسیون سیلی مارین اثرات مشابه و یا در بیشتر موارد بیشتر از دوز بالاتر سیلی مارین ایجاد می‌کند که نشان‌دهنده بهبود فراهمی زیستی و جذب بهتر مواد با حلالیت کم در آب به شکل نانو

غیرآنژیومی (ویتامین‌های E و C) در کبد و بافت‌های ماهیچه‌ای، پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها را مهار می‌کند (Alhidary و همکاران، ۲۰۱۴). سیلی مارین عمدتاً از طریق خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی باعث بازسازی سلول‌های کبدی می‌شود (Vargas و همکاران، ۲۰۱۴). در مسمومیت‌های کبدی سیلی- مارین بیان و آزادسازی سیتوکین‌های پیش التهابی مانند فاکتور نکروز توموری آلفا و اینترلوکین-۶ را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Zaulet و همکاران، ۲۰۱۷). شروع بیماری‌های مزمن کبدی معمولاً شامل یک مرحله التهابی است که پس از قرار گرفتن مداوم در معرض تنش اکسیداتیو به فیروز تبدیل می‌شود. تحت این شرایط افزایش فعالیت اکسید نیتریک سنتاز القایی (iNOS) منجر به تولید مقادیر زیادی نیتریک اکسید (NO) می‌شود (Diesen و همکاران، ۲۰۱۱). iNOS عملاً در کبد طبیعی وجود ندارد، اما در پاسخ به التهاب و انواع تنش‌های اکسیداتیو به- طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و با تولید بیش از حد NO می- تواند منجر به آسیب سلول‌های کبدی شود (Clemens, 1999). بنابراین هر ترکیبی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته باشد می‌تواند تنش اکسیداتیو و بیان ژن iNOS را کاهش دهد (Ziamajidi و همکاران، 2018). ابوشلما و همکاران (2016) نشان دادند که استفاده از سطح ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلی مارین در ترکیب جیره غذایی باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی، عملکرد کبد و پروفایل لیپیدی مرغ‌های تخمگذار در شرایط تنش گرمایی در فصل تابستان می‌شود. استفاده از سیلی مارین در جیره موش‌ها با افزایش تراکم مواد معدنی استخوان و سطح آلکالین فسفاتاز و استئوکلسین استخوان منجر به بهبود استحکام استخوان تیبیا می‌شود (Kim و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش شده است که استفاده از ۰/۵ گرم سیلی مارین تجاری، ۱۲/۵ و ۲۵ گرم پودر قسمت‌های هوایی گیاه خارمریم در جیره خروس‌ها منجر به بهبود خوراک مصرفی، بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش وزن نسبی کبد، طحال و بورس فابریسیوس می‌گردد (Abdalla و همکاران، ۲۰۱۸). همچنین این پژوهشگران دریافتند که سیلی- مارین و پودر گیاه خارمریم منجر به افزایش در غلظت پروتئین

میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن سیلی مارین لستینه شده بودند. در طول اجرای آزمایش شرایط محیطی برای همه گروه‌های آزمایشی یکسان و برنامه نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی اجرا شد. دمای سالن در طول دوره آزمایش در ۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. تیمارهای آزمایشی به مدت ۱۲ هفته از ۸۰ تا ۹۲ هفتگی به صورت آزاد در اختیار پرنده‌ها قرار گرفتند.

پودر سیلی مارین استخراج شده از قسمت میوه گیاه خارمریم با خلوص ۸۰ درصد از شرکت زرد بند واقع در تهران خریداری شد. تهیه نانوکریستال سیلی مارین با استفاده از روش رسوب گذاری تبخیری نانوسیلی مارین مطابق با کمی تغییرات انجام شد (Faryadi و همکاران، ۲۰۲۱). در این روش از محلول سیلی- مارین ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (حلال) و نسبت ۳۰:۱ حلال به ضد حلال (هگزان) استفاده شد (Faryadi و همکاران، ۲۰۲۱). سپس با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM<sup>۱</sup>) اندازه ذرات مشخص شد.

برای آنالیز صفات کیفی تخم‌مرغ، در طول هفته آخر تیماردهی ۳ روزی را که مرغ‌ها تخم گذاشته بودند (۳ تخم‌مرغ انتهایی پرنده، ۳۰ تخم‌مرغ به ازای هر تیمار) جمع‌آوری و بررسی فراسنجه‌های کیفیت پوسته تخم‌مرغ (ضخامت پوسته، استحکام پوسته و وزن مخصوص تخم‌مرغ) انجام شد. ضخامت پوسته تخم‌مرغ‌ها با استفاده از کولیس ریزسنج در سه نقطه (یک نقطه در قسمت میانی و دو نقطه در قسمت‌های انتهایی هر تخم) اندازه گرفته شد (Faryadi و همکاران، ۲۰۲۰) و میانگین این نقاط به عنوان ضخامت پوسته بر حسب میلی‌متر گزارش شد. برای اندازه‌گیری استحکام پوسته تخم‌مرغ‌ها از دستگاه بافت سنج سنتام ساخت ایران با پروب ۸ میلی‌متر و سرعت ۲۰ متر بر ثانیه استفاده شد (کریمی راد و همکاران، ۱۳۹۲). وزن مخصوص با قرار دادن تخم‌مرغ‌ها در غلظت‌های مختلفی از محلول نمکی بر حسب غلظتی از محلول که تخم‌مرغ‌ها در آن شناور می‌مانند تعیین شد (جدول ۲).

امولسیون است. اثرات تغذیه‌ای و آنتی‌اکسیدانی نانو سیلی مارین و کمپلکس سیلی مارین فسفاتیدیل کولین در جوندگان مورد بررسی قرار گرفته است (Fatehi و همکاران، ۲۰۱۸)، با این حال، هیچ اطلاعاتی در مورد استفاده بالقوه آن‌ها در مرغ‌های تخم‌گذار یا سایر طیور تخم‌گذار به ویژه در هفته‌های آخر تخم‌گذاری منتشر نشده است. بنابراین در این مطالعه تأثیر افزودن سطوح مختلف سیلی مارین و نانوسیلی مارین و سیلی مارین لستینه شده بر کیفیت پوسته، اجزای لاشه، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و بیان ژن iNos در مرغ‌های تخمگذار مسن مورد ارزیابی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش با تعداد ۷۰ قطعه مرغ تخمگذار از نژاد لوهمن و از سویه LSL سبک در سن ۸۰ هفتگی و با وزن بدن مشابه ( $74 \pm$  ۱۶۵۰) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ گروه آزمایشی و ۱۰ تکرار در قفس‌های تحقیقاتی انفرادی انجام شد. پرنده‌ها در تمام طول دوره آزمایش جیره بر پایه ذرت- سویا را دریافت کردند. جیره‌های آزمایشی براساس احتیاجات مندرج در راهنمای پرورش مرغ‌های تخمگذار سویه ال اس ال سبک و با نرم افزار UFFDA تنظیم و در اختیار پرندگان قرار گرفت (جدول ۱). با استناد به مطالعات انجام شده در خصوص تأثیرات سیلی مارین بر مسمومیت آفلاتوکسین B1 در جوجه‌های گوشتی (Tedesco و همکاران، ۲۰۰۴) و سمیت گوسپول در جوجه خروس‌ها (Blevins و همکاران، ۲۰۱۰) در مطالعه حاضر سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر سیلی مارین و همچنین برای تهیه سیلی- مارین لستینه شده از نسبت ۱ به ۲ سیلی مارین و لستین استفاده شد. جیره‌های آزمایشی شامل: (۱) تغذیه بدون سیلی مارین، (۲) تغذیه روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر سیلی مارین، (۳) تغذیه روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر سیلی- مارین، (۴) تغذیه روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر نانو سیلی مارین، (۵) تغذیه روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر نانو سیلی مارین، (۶) تغذیه روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن سیلی مارین لستینه شده، (۷) تغذیه روزانه ۲۰۰

<sup>۱</sup> Scanning Electron Microscopy

## جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مغذی جیره‌های پایه

ماده خوراکی	مقدار (درصد)
ذرت	۶۵/۸۳۱
کنجاله سویا (پروتئین خام ۴۴ درصد)	۲۲/۳۹۸
روغن سویا	۰/۱۷۹
سنگ آهک	۹/۳۹۰
دی کلسیم فسفات	۱/۱۶۹
نمک	۰/۱۸۰
پیش مخلوط ویتامینه و مواد معدنی	۰/۵۰۰
دی‌ال متیونین	۰/۱۲۴
سدیم بی‌کربنات	۰/۲۲۹
مواد مغذی (محاسبه شده)	
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری بر کیلو گرم)	۲۷۲۵
پروتئین خام	۱۴/۶۴
کلسیم	۳/۹۱
فسفر قابل دسترس	۰/۳۳
سدیم	۰/۱۵
متیونین	۰/۳۵
متیونین + سیستین	۰/۶۹
لیزین	۰/۷۵

<sup>۱</sup> هر کیلوگرم از مکمل معدنی حاوی ۴۰۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۴۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۴۰۰ میلی‌گرم ید، ۸۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۳۳۸۸۰ میلی‌گرم روی و ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید در کیلوگرم جیره بود. هر کیلوگرم از مکمل ویتامین حاوی ۳۶۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۷۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۸۰۰ میلی‌گرم K<sub>3</sub>، ۷۲۰ میلی‌گرم B<sub>1</sub>، ۴۰۰۰ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۰۰۰ میلی‌گرم اسید نیکوتینیک، ۱۲۰۰ میلی‌گرم B<sub>6</sub>، ۴۰۰ میلی‌گرم اسید فولیک، ۶ میلی‌گرم B<sub>12</sub>، ۴۰ میلی‌گرم بیوتین و ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان بود.

## جدول ۲- وزن مخصوص تخم‌مرغ و مقادیر نمک

شماره سطل	وزن نمک به ازای هر لیتر آب (گرم)	وزن مخصوص
۱	۱	۰
۲	۱/۰۶۲	۹۵/۳
۳	۱/۰۷۰	۱۰۶/۳
۴	۱/۰۸۲	۱۲۴/۳
۵	۱/۰۹۰	۱۳۶/۳
۶	۱/۱۰۲	۱۵۴/۵

به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. بیان رونوشت ژن مورد نظر با استفاده از روش لیواک ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ ) اندازه‌گیری شد (Livak and Schmittgen, 2001). داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی توسط نرم‌افزار آماری SAS (2001) با استفاده از رویه خطی عمومی<sup>۲</sup> آنالیز شدند. در مرحله اول آزمون دانکن برای شناسایی تیمارهایی که تفاوت معنی‌داری با شاهد داشتند، استفاده شد و سپس داده‌ها بدون در نظر گرفتن شاهد به روش فاکتوریل ۲ × ۳ و با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به طوری که شکل سیلی‌مارین (پودر سیلی‌مارین، نانو سیلی‌مارین و سیلی‌مارین لستینه شده)، دو سطح سیلی‌مارین اضافه شده (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و اثرات متقابل آن‌ها در مدل آماری گنجانده شد. بعد از تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی<sup>۳</sup> در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

در انتهای دوره (۹۲ هفتگی) از ورید بال ۴ پرندۀ از هر تیمار، نمونه‌های خونی گرفته شده و در لوله‌های خونگیری عاری از ماده ضد انعقاد جهت جداسازی سرم ریخته شد. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل Hettich-EBA 21، آلمان) شدند و سپس سرم‌های به دست آمده بلافاصله پس از جداسازی به میکروتیوب منتقل و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری متابولیت‌های سرم طبق دستورالعمل کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر (مدل Jasco, V-570، ژاپن) انجام گرفت. در آخرین روز از دوره آزمایش ۴ پرندۀ از هر تیمار به صورت انفرادی وزن‌کشی و کشتار شدند و اندام‌های داخلی بدن پرندگان جدا و با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم توزین و وزن نسبی آنها براساس درصدی از وزن زنده محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری درصد خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان ابتدا بقایای گوشت و سایر بافت‌های پیوندی از استخوان‌های مورد نظر جدا شد. سپس جهت جدا کردن چربی، نمونه‌های اخذ شده به مدت سه روز در الکل خالص و پس از آن سه روز دیگر در محلول پترولیوم اتر قرار داده شدند. نمونه‌های استخوان با استفاده از کوره آزمایشگاهی به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر شدند. سپس مقدار کلسیم با روش تیتراسیون و مقدار فسفر توسط وانادیوم مولیدات اندازه‌گیری شد (Faryadi and Sheikahmadi, 2017).

جهت اندازه‌گیری بیان نسبی ژن نیتریک اکسید سینتاز (iNOS) ابتدا بافت کبد پرندگان مورد مطالعه بعد از ذبح در فالكون جمع‌آوری و در یخ خشک به آزمایشگاه منتقل و RNA آن‌ها با استفاده از کیت RNeasy mini kit شرکت کیاژن استخراج و با استفاده از کیت سنتز cDNA شرکت کیاژن به cDNA تبدیل شد. تعیین میزان بیان نسبی ژن مورد نظر با روش Real-time PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (جدول ۳) و کیت Quantifast SYBR Green PCR شرکت کیاژن (QIAGEN, 204052) در دستگاه PCR شرکت کوربت (Corbett, Rotor gene 3000) انجام و از ژن GAPDH

<sup>1</sup> GLM: General Linear Model

<sup>3</sup> Tukey's studentized range tests

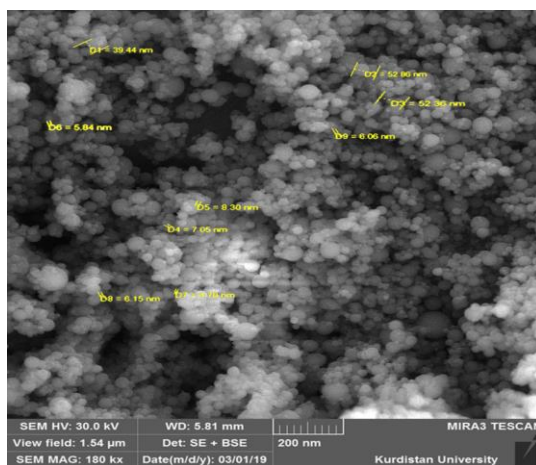
جدول ۳- آغازگرهای اختصاصی ژن iNOS

ژن	توالی (۵'...۳')	دمای اتصال (°C)	طول قطعه (جفت باز)
iNOS	F-ATTGTGGAAGGACCGAGCTG R-CCTCGCACACGGTACTCATT	۶۰	۱۴۱
GAPDH	F-CTGCCGTCTCTCTGGC R-GACAGTGCCCTTGAAGTG	۶۰	۱۱۹

## نتایج

۲ میلی گرم در میلی لیتر و نسبت حلال به ضد حلال ۱:۳۰ تهیه شدند.

نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی (شکل ۱) نشان داد که با استفاده از روش رسوب گذاری تبخیری نانو ذرات سیلی مارین با متوسط اندازه ذرات ۲۰/۳۰ نانومتر تولید شد. این ذرات با غلظت



شکل ۱: تصویر تهیه شده از نانو ذرات سیلی مارین با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (میانگین اندازه ذرات ۲۰/۳۰ نانومتر)

خلاصه شده است. همچنانکه ملاحظه می شود، اختلاف معنی داری در غلظت کلسیم، فسفر، اسید اوریک، آلومین، پروتئین کل و گلوکز موجود در سرم خون مرغ های تخمگذار تغذیه شده با گروه های آزمایشی مختلف وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). با این حال، در تمام گروه های دریافت کننده سیلی مارین به جز گروه دریافت کننده ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن پودر سیلی مارین نسبت به گروه کنترل، کاهش قابل توجهی در غلظت کلسترول مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). همچنین در مورد تری گلیسیرید نسبت به گروه کنترل نیز کاهش عددی قابل توجهی مشاهده شد ( $P = 0.05$ ). علاوه بر این، با افزایش سطح سیلی مارین و عبور جیره از شکل پودری سیلی مارین به شکل نانو سیلی مارین غلظت کلسترول و

نتایج مربوط به سطوح و اشکال مختلف سیلی مارین بر کیفیت پوسته تخم مرغ و اجزای لاشه مرغان تخمگذار در جدول ۴ خلاصه شده است. همانگونه که در این جدول ملاحظه می شود، جیره های آزمایشی بر فراسنجه های کیفی پوسته تخم مرغ شامل ضخامت پوسته، استحکام و وزن مخصوص تأثیر معنی داری نداشته ( $P > 0.05$ )، اما از نظر عددی منجر به افزایش استحکام و وزن مخصوص شدند. همچنین سطوح و اشکال مختلف سیلی مارین تأثیر معنی داری بر وزن نسبی اندام های داخلی بدن شامل: قلب، سنگدان، پیش معده، طحال، صفرا و پانکراس نداشت ( $P > 0.05$ ). نتایج مربوط به سطوح و اشکال مختلف سیلی مارین بر برخی فراسنجه های بیوشیمیایی سرم خون مرغ های تخمگذار در جدول ۵



تری گلیسیرید در سرم مرغ‌های تخمگذار کاهش یافت ( $P < 0/05$ ).

نتایج مربوط به سطوح و اشکال مختلف سیلی مارین بر معدنی شدن استخوان و بیان ژن iNos مرغ‌های تخم‌گذار در جدول ۶ ارائه شده است. براساس نتایج به دست آمده، تفاوت معنی داری در میزان خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان مرغ‌های تخمگذار در گروه‌های آزمایشی مختلف وجود ندارد ( $P > 0/05$ ). با این حال،

تغذیه ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن نانوسیلی مارین و ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن سیلی مارین لستینه شده منجر به کاهش قابل توجهی در بیان ژن iNos در مقایسه با گروه کنترل شد ( $P < 0/05$ ). علاوه بر این، با افزایش سطح سیلی مارین و عبور جیره از شکل پودری سیلی مارین به شکل نانو سیلی مارین و سیلی مارین لستینه شده بیان ژن iNos در کبد مرغ‌های تخم‌گذار کاهش یافت ( $P < 0/05$ ).

جدول ۶: تاثیر اشکال و سطوح مختلف سیلی مارین بر کیفیت پوسته تخم مرغ و اجزای لانه مرغ‌های تخمگذار

نوع (T)	سطح (L)			نوع (T)			سطح (L)			کنترل
	LSM	NSM	PSM	۲۰۰	۱۰۰	۰	۲۰۰	۱۰۰	۰	
تعداد آرایشی (بسی گرم در کیلوگرم وزن بدن، DT)	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴
ضخامت	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
استحکام	۷۸/۰	۷۸/۱	۷۸/۲	۷۸/۳	۷۸/۴	۷۸/۵	۷۸/۶	۷۸/۷	۷۸/۸	۷۸/۹
وزن	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴
مغز	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴
قلب	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴
سنگدان	۷/۱	۷/۱	۷/۱	۷/۱	۷/۱	۷/۱	۷/۱	۷/۱	۷/۱	۷/۱
پیش معده	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴
طحال	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸
صفرا	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹
پانکراس	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱

DT: تفاوت معنی دار نمی باشد ( $P > 0/05$ ); NSM: نانو سیلی مارین؛ LSM: سیلی مارین لستینه شده؛ SEM: خطای استاندارد میانگین ها؛ مقادیر میانگین های هر ردیف با حرف مشترک دارای اختلاف معنی دار نمی باشند ( $P > 0/05$ ); PSM: پودر سیلی مارین؛ NSM: نانو سیلی مارین؛ LSM: سیلی مارین لستینه شده؛ SEM: خطای استاندارد میانگین ها؛ مقادیر ضخامت بر حسب میلی متر، استحکام بر حسب نیوتن، وزن مغز بر حسب میلی گرم، میلی لیتر، لکچر و اجزای لانه بر حسب وزن نسبی بیان شده است.



جدول ۵: تأثیر اشکال و سطوح مختلف سیلی مارین بر فراسنج‌های بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخمگذار

فراسنج-ها <sup>a</sup>	نیمارهای آزمایشی (میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، DT)			نوع (T)			سطح (L)							
	PSM			NSM			LSM							
	کنترل	۱۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰					
TG	۱۷۴۹/۵	۱۶۸۴/۰	۱۶۱۵/۵	۱۵۹۴/۰	۱۴۳۳/۲	۱۶۰۷/۳	۱۵۳۱/۴	۱۶۶۹/۳	۱۵۱۳/۶ <sup>b</sup>	۱۶۳۱/۵ <sup>b</sup>	۲۷۷۸	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۲
Chol	۱۷۹/۰ <sup>a</sup>	۱۶۷/۶ <sup>ab</sup>	۱۵۵/۸ <sup>bc</sup>	۱۵۰/۵ <sup>bc</sup>	۱۳۵/۶ <sup>c</sup>	۱۵۴/۸ <sup>bc</sup>	۱۴۲/۵ <sup>c</sup>	۱۶۰/۹ <sup>a</sup>	۱۴۳/۱ <sup>b</sup>	۱۵۶/۳ <sup>b</sup>	۳۴۶	۰/۰۰۳	۰/۰۴	۰/۰۳
Gul	۱۹۱/۸	۱۹۱/۵	۱۸۱/۲	۱۹۵/۹	۱۸۹/۰	۱۹۱/۸	۱۸۸/۶	۱۸۶/۴	۱۹۲/۴	۱۹۳/۱	۳/۰۸	۰/۹	۰/۸	۰/۳
Ca	۲۰/۴	۲۳/۱	۲۵/۲	۲۷/۰	۲۸/۲	۲۵/۲	۲۵/۵	۲۴/۲	۲۷/۶	۲۵/۱	۰/۸۱	۰/۱	۰/۲	۰/۴
P	۷/۲	۷/۲	۷/۴	۸/۱	۸/۲	۷/۶	۸/۱	۷/۳	۸/۱	۷/۹	۰/۲۴	۰/۸	۰/۶	۰/۶
TP	۶/۸	۶/۸	۶/۷	۶/۴	۶/۵	۷/۶	۷/۶	۶/۷	۶/۴	۷/۰	۰/۲۲	۰/۴	۰/۸	۰/۸
UA	۴/۹	۵/۲	۵/۳	۵/۲	۵/۱	۵/۹	۵/۸	۵/۲	۵/۱	۵/۴	۰/۱۴	۰/۵	۰/۹	۰/۹
Alb	۳/۰	۲/۴	۲/۸	۳/۴	۲/۷	۲/۵	۲/۵	۲/۶	۳/۱	۲/۸	۰/۱۶	۰/۶	۰/۸	۰/۳

<sup>a-c</sup> میانگین‌های هر ردیف با حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند (P>0.05). SEM: پودر سیلی مارین؛ NSM: نانوسیلی مارین؛ LSM: سیلی مارین لستینه شده. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها. UA، اسید اوریک (میلی گرم بر دسی لیتر)؛ TG، تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر)؛ TP، پروتئین کل (میلی گرم بر دسی لیتر)؛ Ca، کلسیم (میلی گرم بر دسی لیتر)؛ P، فسفر (میلی گرم بر دسی لیتر)؛ Alb، آلبومین (میلی گرم بر دسی لیتر)؛ Chol، کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)؛ Gul، گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر).

جدول ۶: تاثیر اشکال و سطوح مختلف سیلی مارین معدنی شدن استخوان و بیان ژن iNos بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخمگذار

فراسنجه-ها <sup>a</sup>	تیمارهای آزمایشی (میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، DT)																
	سطح احتمال				سطح (L)		نوع (T)			LSM		NSM		PSM		کنترل	
	T×L	L	T	DT	SEM	۲۰۰	۱۰۰	LSM	NSM	PSM	۲۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۲۰۰		۱۰۰
خاکستر	۰/۹	۰/۲	۰/۳	۰/۴	۰/۴	۵۶/۲	۵۴/۸	۵۵/۸	۵۶/۳	۵۴/۴	۵۶/۴	۵۵/۲	۵۷/۰	۵۵/۵	۵۵/۱	۵۳/۸	۵۳/۶
کلسیم	۰/۸	۰/۳	۰/۶	۰/۶	۰/۲	۴۰/۵	۳۹/۸	۴۰/۳	۴۰/۵	۳۹/۷	۴۰/۸	۳۹/۸	۴۱/۰۴	۴۰/۱	۳۹/۸	۳۹/۶	۳۹/۱
فسفر	۰/۸	۰/۲	۰/۳	۰/۴	۰/۴	۱۷/۷	۱۶/۴	۱۷/۴	۱۸/۰	۱۵/۹	۱۸/۱	۱۶/۱	۱۹/۱	۱۷/۰۳	۱۶/۰۵	۱۵/۷	۱۵/۷
iNos	۰/۸	۰/۰۴	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۹	۰/۱	۱/۱ <sup>b</sup>	۱/۴ <sup>a</sup>	۱/۰ <sup>b</sup>	۱/۰ <sup>b</sup>	۱/۷ <sup>a</sup>	۰/۹ <sup>d</sup>	۱/۱ <sup>cd</sup>	۰/۸ <sup>d</sup>	۱/۲ <sup>bcd</sup>	۱/۵ <sup>abc</sup>	۱/۸ <sup>ab</sup>	۲/۰ <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup> میانگین‌های هر ردیف با حرف مشترک دارای اختلاف معنی دار نمی‌باشند ( $P > 0.05$ ). SEM: پودر سیلی مارین؛ NSM: نانو سیلی مارین؛ LSM: سیلی مارین لستینه شده. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها. <sup>o</sup> مقادیر خاکستر،

کلسیم و فسفر بر حسب درصد بیان شده است.

## بحث

می‌شود. براساس این گزارش‌ها، در مطالعه حاضر، پس از آزمون و خطا با چندین غلظت مختلف، ما از غلظت‌های پایین سیلی مارین (۲ میلی گرم بر میلی لیتر) و نسبت بالای حلال به ضد حلال (۱:۳۰) برای ساخت نانو ذرات سیلی مارین استفاده کردیم (Faryadi و همکاران، ۲۰۲۱).

با توجه به جدول ۴، در ارتباط با کیفیت پوسته تخم مرغ، استفاده از سیلی مارین موجب شده است تا استحکام پوسته و وزن مخصوص نسبت به شاهد افزایش یابد. یکی از شاخص‌های مهم در ارزیابی کیفیت پوسته تخم مرغ وزن مخصوص است (فرخوی و همکاران، ۱۳۷۳). اثرات مثبت سیلی مارین بر کیفیت پوسته توسط Stastnik و همکاران (۲۰۱۹) گزارش شده است این محققین دریافتند که استفاده از ۷ درصد کیک دانه گیاه خارمریم در جیره مرغ‌های تخمگذار مسن، منجر به افزایش ضخامت پوسته می‌شود. همچنین گزارش دیگری از نوبخت (۱۳۹۴) نشان داد که استفاده از گیاه خارمریم در سطح ۱ درصد به صورت معنی داری وزن مخصوص و درصد پوسته تخم مرغ را افزایش می‌دهد. براساس این گزارش‌ها به نظر می‌رسد که سیلی مارین به عنوان یک آنتی-اکسیدان قوی منجر به بهبود شرایط محیط رحم شده که در نهایت بهبود کیفیت پوسته را به دنبال خواهد داشت. این یافته‌ها توسط نتایج حاصل از افزایش غیر معنی دار در میزان خاکستر، کلسیم و

نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که نانو ذرات سیلی مارین تولید شده‌اند. در مطالعه کاکران و همکاران (Kakran و همکاران، ۲۰۱۵) کمترین میانگین اندازه ذرات به دست آمده ۳۵۰ نانومتر بود که از سیلی مارین با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر و نسبت حلال به ضد حلال ۱:۲۰ تولید شده بود. کاهش غلظت موادی که قابلیت انحلال ضعیفی در آب دارند همراه با افزایش نسبت حلال به ضد حلال منجر به کاهش اندازه ذرات تولید شده می‌شود. دلیل این امر را می‌توان با تشکیل ذرات نانو از طریق هسته همگن توضیح داد. غلظت اولیه بالا و نسبت حلال به ضد حلال بیشتر ممکن است به اشباع فوق العاده بالاتر محلول و تشکیل تعداد زیادی هسته منجر شود (Sherif and Al-Gayyar, 2013). افزایش تعداد هسته‌ها به معنای افزایش تعداد هسته‌ها با اندازه کوچکتر است. اگرچه غلظت اولیه بالا علاوه بر ایجاد محلول با حداکثر ظرفیت، منجر به تجمع ذرات نیز می‌شود. در مورد نتایج Kakran و همکاران (۲۰۱۲) این اثر جمعی غالب بود. بنابراین، آن‌ها گزارش کردند که غلظت‌های کمتر از داروها با حلالیت کم در آب منجر به ایجاد ذرات با اندازه کوچکتر می‌شود. هسته‌ها پس از تشکیل، شروع به رشد می‌کنند. با این حال، در مراحل بعدی، با افزایش نسبت حلال به ضد حلال، فاصله انتشار بین هسته‌ها افزایش می‌یابد و رشد هسته‌ها محدود

فسفر استخوان (جدول ۶) تقویت می‌شود.

در ارتباط با جدول ۴ و در مخالفت با نتایج مطالعه حاضر تسای و همکاران (Tsai و همکاران، ۲۰۰۸) گزارش کردند استفاده از سیلی مارین در جیره موش‌های مسموم شده با تتراکلرید کربن منجر به افزایش معنی‌داری در وزن نسبی طحال می‌شود. این امر را می‌توان به خاصیت تقویت‌کنندگی سیستم ایمنی سیلی مارین نسبت داد (Lang و همکاران، ۱۹۹۰). با این حال در مطالعه حاضر تغییری در وزن نسبی اندام‌های داخلی بدن مرغ‌های تخمگذار مشاهده نشد. تفاوت‌های مشاهده شده می‌تواند ناشی از مقدار، مدت استفاده از سیلی مارین و شرایط پرورش پرنده (تنش و بیماری) باشد.

موافق با نتایج مطالعه حاضر، گزارش شده است که تغذیه سطوح مختلف پودر گیاه خارمریم به مرغ‌های تخم‌گذار منجر به کاهش سطح تری‌گلیسیرید خون می‌شود (Hashemi Jabali و همکاران، ۲۰۱۸). مت‌والی و همکاران (۲۰۰۹) نیز کاهش قابل توجهی را در سطح کلسترول تام موش‌های صحرایی تیمار شده با سیلی مارین را گزارش کرده‌اند. عبدالله و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که استفاده از سطوح ۱۲/۵ و ۲۵ گرم از پودر بخش‌های هوایی گیاه خارمریم در جیره خروس‌ها پرورش یافته تحت تنش گرمایی موجب کاهش تری‌گلیسیرید و کلسترول در مقایسه با گروه‌های تغذیه شده با ویتامین E و گروه شاهد شد. همچنین پرزادیان کاوه و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف پودر گیاه خارمریم (۰/۵ و ۱/۵ درصد) در جیره مرغ‌های تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری بر گلوکز، تری‌گلیسیرید، کلسترول و HDL خون نداشت. نوبخت (۱۳۹۴) گزارش کرد که استفاده از پودر قسمت‌های هوایی گیاه خارمریم در جیره مرغ‌های تخمگذار منجر به کاهش سطح تری‌گلیسیرید، کلسترول، آلبومین و پروتئین تام خون شد. از سوی دیگر، گزارش شده است که مکمل کردن جیره مرغ‌های تخمگذار با ۷ درصد کنجاله دانه گیاه خارمریم، در دوره سنی ۶۹ تا ۸۰ هفتگی، تأثیری بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون مانند اسیداوریک، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، کلسترول و تری‌گلیسیرید ندارد (Stastnik و

همکاران، ۲۰۱۹). نتایج مطالعه حاضر مبنی بر کاهش کلسترول و تری‌گلیسیرید در پرندگان دریافت‌کننده سیلی مارین می‌تواند مؤید تأثیر آن بر مهار جذب کلسترول از روده باشد (Sobolova و همکاران، ۲۰۰۶). بسیاری از ترکیبات زیست فعال گیاهی مانند سیلی مارین از طریق کاهش فعالیت آنزیم تنظیم‌کننده سنتز لیپید، یعنی ۳- هیدروکسی ۳- متیل گلو تاریل کوآ رودکتاز، در سطح پس از رونویسی (بدون تأثیر بر سطح mRNA) اثرات خود را اعمال می‌نمایند (Elson and Qureshi, ۱۹۹۵). در این مطالعه، با افزایش سطح سیلی مارین و عبور جیره از شکل پودری سیلی- مارین به شکل نانو سیلی مارین غلظت کلسترول و تری‌گلیسیرید در سرم مرغ‌های تخمگذار بیشتر کاهش یافت. نتایج بهتر بدست آمده با نانو سیلی مارین و سیلی مارین لستینه شده را می‌توان اینگونه توضیح داد که نانو سیلی مارین و کمپلکس سیلی مارین- فسفولیپید به دلیل آزادسازی سریعتر و افزایش ظرفیت عبور از غشاهای بیولوژیکی غنی از لیپید و در نهایت رسیدن سریعتر به سیستم گردش خون نسبت به داروهای معمولی قابل دسترس تر هستند (Parveen و همکاران، ۲۰۱۱).

در بدن پرنده‌های تخمگذار تجاری به دلیل پرورش در قفس و درصد بالای تخمگذاری، مقدار زیادی رادیکال آزاد تولید می‌شود. با این حال توانایی حذف رادیکال‌های آزاد در طول زمان و با افزایش سن آنها، به تدریج کاهش می‌یابد. گونه‌های فعال اکسیژن قادر به افزایش بیان ژن‌هایی مانند نیتریک اکسید سنتاز القایی (iNOS)، فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- $\alpha$ ) و اینترلوکین-۱ (IL-1) هستند. این مسیرهای فعال شده می‌توانند منجر به التهاب و آپوپتوز در بافت‌های مختلف مانند کبد شوند. iNOS توسط سلول‌های کبدی بیان می‌شود و نقش مهمی را در شرایط پاتولوژیکی و آسیب‌های کبدی ایفا می‌کند (Madar و همکاران، ۲۰۰۵). نبی پور و همکاران (۱۳۹۷) گزارش کردند سیلینین موجب کاهش آسیب‌های کلی بافت کبد موش‌ها طی ایسکمی- رپرفیوژن کبدی می‌شود و همچنین سیلینین با کاهش بیان ژن iNOS می‌تواند از اثرات مضر آن بکاهد. از این رو مرغان مسن تر به سطوح بالاتری از آنتی‌اکسیدان‌ها برای محافظت

مسمومیت کبدی القاء شده با نانوذرات دی اکسید تیتانیوم. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان. دوره ۲۳. شماره ۴. ص ص. ۳۴۵-۳۵۱.

فرخوی، م.، سیگارودی، ت. و نیک نفس، ف. (۱۳۷۳). راهنمای کامل پرورش طیور (ترجمه). انتشارات کوثر. ص ص. ۹۲۴.

کریمی راد، م.، افضلی، ن.، قزاقی، م. و نعیمی پور یونسی، ح. (۱۳۹۲). بررسی اثرات سطوح مختلف دانه زیره سبز بر صفات

کیفی تخم و برخی فراسنجه‌های خونی بلدرچین ژاپنی. مجله تحقیقات دام و طیور. جلد ۲. شماره ۱. ص ص. ۵۷-۶۴.

نویخت، ع. (۱۳۹۴). اثرات سطوح مختلف پودر گیاه دارویی خارمریم (*Silybum marianum* L.) بر عملکرد، فراسنجه-

های بیوشیمیایی و سلول‌های خون مرغ‌های تخمگذار. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۳۱. شماره ۴. ص

ص. ۶۹۸-۷۰۸.

نبی پور، ا.، اکبری کردخیلی، و.، عزیزی، س. و خنکدار طارسی، ع. (۱۳۹۷). اثرات سیلیبینین بر بیان ژن‌های نیتریک اکساید سنتاز

طی ایسکمی-ریپرفیوژن گرم کبدی در رت‌های بالغ نر. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. دوره بیست و هشتم. شماره

۱۶۴. ص ص. ۱-۱۲.

Abdalla, A.A., Abou-Shehema, B.M., Rawia, S.H. and Elden, M.R. (2018). Effect of silymarin supplementation on the performance of developed chickens under summer conditions 1-during growth period. *Egyptian Poultry Science Journal*. 38(1): 305-329.

Abou-Shehema, B.M., Rawia, S.H., Khalifah, M.M. and Abdalla, A.A. (2016). Effect of silymarin supplementation on the performance of developed chickens under summer condition 2-during laying period. *Egyptian Poultry Science Journal*. 36(4): 1233-1249.

Akit, H., Sazili, A.Q, Ismail, N.A., Atan, N.A. and Loh, T.C. (2016). Effect of dietary soy lecithin on laying performance, egg quality and meat texture of aged layer hen. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*. 39(3): 365-372.

Alhadiy I.A., Rehman, Z., Khan, R.U. and Tahir, M. (2017). Anti-aflatoxin activities of milk thistle (*Silybum marianum*) in broiler. *World's Poultry Science Journal*. 73(3): 559-566.

سلول‌ها و افزایش توسعه بافت‌ها نیاز دارند. سیلی مارین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عالی، در نقش حذف‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و مهارکننده اکسیداسیون لیپیدها عمل کرده و بنابراین سبب محافظت کننده سلول‌ها در برابر ROS می‌شود (Kshirsagar و همکاران، ۲۰۱۳). سیلی مارین عمدتاً از طریق خواص ضد التهابی و ضد آنتی‌اکسیدانی باعث بازسازی سلول‌های کبدی می‌شود (Vargas-Mendoza و همکاران، ۲۰۱۴). علاوه بر این، به نظر می‌رسد که سیلی مارین در اشکال نانویی و لستینه شده توانایی بالاتری برای فرار از اثرات مخرب قسمت‌های بالایی دستگاه گوارش را دارد که توانایی آن برای فعالیت در سایت‌های هدف را افزایش می‌دهد (Di Costanzo and Angelico, 2019).

### نتیجه‌گیری کلی

یافته‌ها نشان داد که سیلی مارین می‌تواند منجر به کاهش پروفایل چربی خون شود. از طرف دیگر با توجه به تأثیر سیلی مارین بر کاهش فعالیت ژن iNOS می‌توان نتیجه گرفت که سیلی مارین دارای اثرات مثبتی بر فعالیت کبدی طیور است. علاوه بر این هنگامی که سیلی مارین به نانوسیلی مارین و یا سیلی مارین لستینه شده تبدیل می‌شود این اثرات قابل توجه‌تر است. بنابراین مکمل کردن جیره مرغ‌های تخمگذار با ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن سیلی مارین به شکل نانوسیلی مارین یا سیلی مارین لستینه شده توصیه می‌شود.

### منابع

پریزادیان کاوه، ب.، خسروی نیا، ح.، کریمی راد، ر. و توکلی نسب، ف. (۱۳۹۷). تأثیر افزودنی‌های گیاهی خارمریم و گزنه بر شاخص‌های ایمنی، فراسنجه‌های خون و مقدار کلسترول زرده تخم مرغ در مرغ‌های نژاد تخمگذار. مجله تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک. شماره ۱۲۳، ص ص. ۴۳-۴۹.

حاجی زاده مقدم، ا.، احمدی اوندی، ا.، صیرفی، ر. و زارع، م. (۱۳۹۵). مقایسه اثرات درمانی سیلی مارین و نانوسیلی مارین بر

- Blevins, S., Siegel, P.B., Blodgett, D.J., Ehrich, M., Saunders, G.K. and Lewis, R.M. (2010). Effects of silymarin on gossypol toxicosis in divergent lines of chickens. *Poultry Science*. 89(9): 1878-1886.
- Clemens, M.G. (1999). Nitric oxide in liver injury. *Hepatology*. 30(1): 1-5.
- DerMarderosian, A. 2001. The review of natural products. 1st ed. Facts and Comparisons: St. Louis. 405-9.
- Di Costanzo, A. and Angelico, R. (2019). Formulation strategies for enhancing the bioavailability of silymarin: the state of the art. *Molecules*. 24(11): 2155.
- Diesen, D.L. and Kuo, P.C. (2011). Nitric oxide and redox regulation in the liver: part II. Redox biology in pathologic hepatocytes and implications for intervention. *Journal of Surgical Research*. 167(1): 96-112.
- Elson, C.E. and Qureshi, A.A. (1995). Coupling the cholesterol-and tumor-suppressive actions of palm oil to the impact of its minor constituents on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 52(2-3): 205-208.
- Faryadi, S. and Sheikahmadi, A. (2017). Effect of nanosilicon dioxide on growth performance, egg quality, liver histopathology and concentration of calcium, phosphorus and silicon in egg, liver and bone in laying quails. *Applied Nanoscience*. 7(8): 765-772.
- Faryadi, S., Sheikahmadi, A., Farhadi, A. and Nourbakhsh, H. (2021). Effects of silymarin and nano-silymarin on performance, egg quality, nutrient digestibility, and intestinal morphology of laying hens during storage. *Italian Journal of Animal Science*. 20(1): 1633-1644.
- Faryadi, S., Sheikahmadi, A. and Sadeghi, A. (2020). Effect of Purslane powder and Zinc supplementation on the performance, egg quality, antioxidant system and liver histopathology of lead-exposed laying Quails. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 71(3): 2363-2374.
- Fatehi, D., Mohammadi, M., Shekarchi, B., Shabani, A., Seify, M. and Rostamzadeh, A. (2018). Radioprotective effects of Silymarin on the sperm parameters of NMRI mice irradiated with  $\gamma$ -rays. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 178: 489-495.
- Hashemi Jabali, N.S., Mahdavi, A.H., Ansari Mahyari, S., Sedghi, M. and Akbari Moghaddam Kakhki, R. (2018). Effects of milk thistle meal on performance, ileal bacterial enumeration, jejunal morphology and blood lipid peroxidation in laying hens fed diets with different levels of metabolizable energy. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 102(2): 410-420.
- Junghanns, J.U.A. and Müller, R.H. (2008). Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *International Journal of Nanomedicine*. 3(3): 295-309.
- Kakran, M., Sahoo, G.N., Li, L. (2015). Fabrication of nanoparticles of silymarin, hesperetin and glibenclamide by evaporative precipitation of nanosuspension for fast dissolution. *Pharmaceutica Analytica Acta*. 6(1): 2.
- Kim, J.L., Park, S.H., Jeong, D., Nam, J.S. and Kang, Y.H. (2012). Osteogenic activity of silymarin through enhancement of alkaline phosphatase and osteocalcin in osteoblasts and tibia-fractured mice. *Experimental Biology and Medicine*. 237(4): 417-428.
- Kshirsagar, M., Mahash, V., Srinivas, P. and Mangala, L. (2013). Evaluation of the protective effect of silymarin on doxorubicin induced chronic testicular toxicity in Rats. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 4(1): 473-484.
- Lang, I., Nekam, K., Deak, G., Müzes, G., Gonzales-Cabello, R., Gergely, P. and Feher, J. (1990). Immunomodulatory and hepatoprotective effects of in vivo treatment with free radical scavengers. *The Italian Journal of Gastroenterology*. 22(5): 283-287.
- Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 25(4): 402-408.
- Lorenzo, J.M., Mousavi Khaneghah, A., Gavahian, M., Marszalek, K., Es, I., Munekata, P.E., Ferreira, I.C., Barba, F.J. (2019). Understanding the potential benefits of thyme and its derived products for food industry and consumer health: From extraction of value-added compounds to the evaluation of bioaccessibility, bioavailability, anti-inflammatory, and antimicrobial activities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 59(8): 2879-2895.



- Madar, Z., Kalet-Litman, S. and Stark, A.H. (2005). Inducible nitric oxide synthase activity and expression in liver and hepatocytes of diabetic rats. *Pharmacology*. 73(2): 106-112.
- Metwally, M.A.A., El-Gellal, A.M. and El-Sawaisi, S.M. (2009). Effects of silymarin on lipid metabolism in rats. *World Applied Sciences Journal*. 6(12): 1634-1637.
- Morazzoni, P., Montalbetti, A., Malandrino, S. and Pifferi, G. (1993). Comparative pharmacokinetics of silipide and silymarin in rats. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 18(3): 289-297.
- Parveen, R., Baboota, S., Ali, J., Ahuja, A., Vasudev, S.S. and Ahmad S. (2011). Effects of silymarin nano-emulsion against carbon tetrachloride-induced hepatic damage. *Archives of Pharmacal Research*. 34(5): 767-774.
- Pradhan, S.C. and Girish, C. (2006). Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian Journal of Medical Research*. 124(5): 491-504.
- Radhika, M.I., Ezhilarasan, D. and Gopinath, P. (2017). Antimicrobial efficacy of silymarin and silibinin against oral microorganisms. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*. 7(03): 139-143.
- Rathore, P., Arora, I., Rastogi, S., Akhtar, M., Singh, S. and Samim, M. (2020). Collagen nanoparticle-mediated brain silymarin delivery: an approach for treating cerebral ischemia and reperfusion-induced brain injury. *Frontiers in Neuroscience*. 14: 979.
- End-of-cycle bone quality in white-and brown-egg laying hens. *Poultry Science*. 83(3): 375-383.
- SAS Institute. 2001. SAS/STAT User, Guide. Release Version 9.1. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Sellami, I.H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W.A., Khouk, M.E. and Marzouk, B. (2009). Effect of growth stago on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*origanum majoranal*). *Industrial Crops and Products*. 30: 395-4020.
- Sherif I.O. and Al-Gayyar, M.M. (2013). Antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of silymarin on hepatic dysfunction induced by sodium nitrite. *European Cytokine Network*. 24(3): 114-121.
- Sobolova, L., Skottova, N., Vecera, R. and Urbanek, K. (2006). Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. *Pharmacological Research*. 53(2): 104-112.
- Stastnik, O., Mrkvicova, E., Pavlata, L., Roztocilova, A., Umlaskova, B. and Anzenbacherova, E. (2019). Performance, biochemical profile and antioxidant activity of hens supplemented with addition of milk thistle (*Silybum marianum*) seed cakes in diet. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 67: 993-1003.
- Tedesco, D., Steidler, S., Galletti, S., Tameni, M., Sonzogni, O. and Ravarotto, L. (2004). Efficacy of silymarin-phospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. *Poultry Science*. 83(11): 1839-1843.
- Tong, L., Chuang, C.C., Wu, S. and Zuo, L. (2015). Reactive oxygen species in redox cancer therapy. *Cancer Letters*. 367(1): 18-25.
- Tsai, J.H., Liu, J.Y., Wu, T.T., Ho, P.C., Huang, C.Y., Shyu, J.C. and Liu, Y.C. (2008). Effects of silymarin on the resolution of liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Journal of Viral Hepatitis*. 15(7): 508-514.
- Vargas-Mendoza, N., Madrigal-Santillan, E., Morales-González, A., Esquivel-Soto, J., Esquivel-Chirino, C., Gonzalez-Rubio, M.G.L. and Morales-Gonzalez, J.A. (2014). Hepatoprotective effect of silymarin. *World Journal of Hepatology*. 6(3): 144-149.
- Wang, M., Xie, T., Chang, Z., Wang, L., Xie, X., Kou, Y. and Gao, X. (2015). A new type of liquid silymarin proliposome containing bile salts: its preparation and improved hepatoprotective effects. *PloS one*. 10(12): e0143625.
- Wenk, C. (2003). Herbs and botanicals as feed additives in monogastric animals. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 16: 282-289.
- Zaulet, M., Kevorkian, S.E.M., Dinescu, S., Cotoraci, C., Suci, M., Herman, H. and Hermenean, A. (2017). Protective effects of silymarin against bisphenol A-induced hepatotoxicity in mouse liver. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 13(3): 821-828.
- Ziamajidi, N., Behrouj, H., Abbasalipourkabir, R. and Lotfi, F. 2018. Ameliorative effects of *Allium sativum* extract on iNOS gene expression and NO production in liver of streptozotocin+ nicotinamide-induced diabetic rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 33(2): 147-153.