نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۳۹، تابستان ۱۴۰۲
ص‌ص: ۳~۱۶

اثرات افزودن پودر خرفه(*Portulace oleracea L.*) با ویتامین E و ال -کارنیتین در جیره کم پروتئین بر ایمنی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی

• آزاده رستمیان*[1]، امیرعلی صادقی[2] و احمد کریمی[2]

۱- دانشجوی دکتری تغذیه طیور، گروه علوم دامی، دانشگاه کردستان

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشگاه کردستان

تاریخ دریافت : خرداد ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش : مرداد ۱۴۰۱

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۰۴۶۱۴۰۵۸

Email: azadeh.rostamyan@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ ASJ.2022.359102.2235

چکیده

آزمایش حاضر برای بررسی اثرات افزودن پودر خرفه، ویتامین E و ال-کارنیتین در جیره‌های کم پروتئین بر سیستم ایمنی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در شرایط استرس سرمایی انجام شد. ۵۷۶ جوجه گوشتی نر یک روزه (راس ۳۰۸) به طور تصادفی به ۶ گروه آزمایشی تقسیم شد که هر گروه آزمایشی دارای ۶ تکرار و ۱۶ پرنده در هر تکرار بود. گروه‌های آزمایشی شامل: (۱) جیره با پروتئین معمول (شاهد منفی)، (۲) جیره کم پروتئین (۲ درصد کمتر نسبت به شاهد منفی) به عنوان شاهد، (۳) جیره شاهد + ۲ گرم بر کیلوگرم پودر خرفه، (٤) جیره شاهد حاوی پودر خرفه + ۲۵۰ میلی گرم برکیلوگرم ویتامین E ، (۵) جیره شاهد حاوی پودر خرفه + ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم ال-کارنیتین و (٦) جیره شاهد حاوی پودر خرفه + مخلوط ویتامین E و ال-کارنیتین بودند. نتایج نشان داد که افزودن پودر خرفه + ویتامین E و پودر خرفه + ال-کارنیتین به جیره شاهد شمار گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین، هماتوکریت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت را در ٤۲ روزگی کاهش دادند (P <۰/۰۵). تیتر آنتی بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی و ویروس بیماری نیوکاسل به ترتیب در روزهای ٤۱ و ۲۷ توسط ویتامین E و ال-کارنیتین افزایش یافت(P <۰/۰۵)، در حالی که میزان تری‌گلیسرید و کلسترول نیز توسط آن‌ها کاهش پیدا کرد(P <۰/۰۵). افزودن ویتامین E و ال-کارنیتین به تنهایی در ترکیب با خرفه در جیره کم پروتئین با ایجاد اثرات سینرژیک می‌تواند موجب بهبود سیستم ایمنی و سلامت در جوجه‌های گوشتی تحت استرس سرمایی شود.

واژه‌های کلیدی: تنش سرمایی، تیترآنتی‌بادی، جیره‌های کم پروتئین، هموگلوبین.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 139 pp: 3-16

The effects of adding purslane powder (*Portulace oleracea L.*) with vitamin E and L-carnitine in low protein diet on immunity and blood parameters in broilers under cold stress

By: Azadeh Rostamian[*1], Amirali Sadeghi[2] and Ahmad karimi[2]
[1] Department of Animal Science, Faculty of Agricultural, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
[2] Department of Animal Science, Faculty of Agricultural, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
[*] Azadeh.rostamyan@yahoo.com

Received: June 2022 **Accepted: August 2022**

The present experiment was conducted to investigate the effects of adding purslane powder, vitamin E and L-carnitine in low protein diets on the immune system and blood biochemical parameters in broilers raised under cold stress conditions. 576 one-day-old male broiler chicks (Ross 308) were randomly divided into six experimental groups, each experimental group having 6 replications and 16 birds per replicate. The experimental groups include: 1) normal-protein diet (negative control), 2) low protein diet (2% less than the negative control) as a control, 3) control diet + 2 g/kg purslane powder, 4) control diet containing purslane powder + 250 mg/kg vitamin E, 5) control diet containing purslane powder + 150 mg/kg L-carnitine and, 6) control diet containing purslane powder + vitamin E and L-carnitine mixture. The results showed that the addition of purslane powder + vitamin E and purslane powder + L-carnitine to the control diet decreased the number of red blood cells, hemoglobin, hematocrit and heterophil to lymphocyte ratio in 42 days ($P<0.05$). Antibody titer against Sheep erythrocytes and Newcastle disease virus was increased by vitamin E and L-carnitine on days 41 and 27, respectively ($P<0.05$) while the amount of triglyceride and cholesterol was also decreased by them ($P<0.05$). Adding vitamin E and L-carnitine alone in combination with purslane in a low protein dite can improve the immune system and health in broilers under cold stress by creating synergistic effects.

Key words: Cold stress, antibody titer, low protein diets, hemoglobin

مقدمه

طی دهه‌های گذشته سرعت رشد جوجه‌های گوشتی به دلیل انتخاب ژنتیکی تقریبا ۴ برابر افزایش یافته است در حالی که رشد اندام‌های تامین کننده اکسیژن (قلب و ریه‌ها) به موازات رشد ماهیچه‌ها توسعه پیدا نکرده است (Wideman و همکاران، ۲۰۱۳). این مسئله باعث شده که جوجه‌ها توان تامین اکسیژن در مناطق مرتفع و سرد را برای رشد سریع و ضریب تبدیل بهتر نداشته باشند (Lorenzoni و Ruiz-Feria، ۲۰۰۶). این عدم تطابق بین بافت‌ها می‌تواند موجب بیماری‌های متابولیکی از جمله سندرم آسیت شود (Sharifi و همکاران، ۲۰۱۶). مطالعات متابولیک نشان داده است که جوجه‌های گوشتی دامنه دمایی خنثی بسیار محدودی دارند و به سرعت با افزایش متابولیسم و نیاز به اکسیژن به تنش سرمایی پاسخ می‌دهند. سرما به عنوان یک عامل استرس‌زای محیطی در جوجه‌هایی که در مناطق مرتفع و سرد پرورش می‌یابند باعث تضعیف سیستم ایمنی شده و علاوه بر افزایش تلفات و کاهش وزن جوجه‌ها در طول دوره پرورش، تعداد لاشه‌های حذف شده در کشتارگاه را نیز بالا می‌برد (Olson و همکاران، ۱۹۷۲). کمبود اکسیژن موجب افزایش هماتوکریت و ویسکوزیته خون شده که به نوبه خود موجب افزایش مقاومت در برابر عبور خون در رگ‌های ریوی می‌شود (Baghbanzadeh و Decuypere، ۲۰۰۸). همچنین، سنتز

اریتروپویتین در پاسخ به اکسیژن ناکافی افزایش می‌یابد. افزایش سنتز این هورمون موجب تحریک ساخت گلبول‌های قرمز و هموگلوبین می‌شود که تلاشی جهت افزایش ظرفیت انتقال اکسیژن محسوب می‌گردد و این افزایش تعداد گلبول‌های قرمز موجب بالا رفتن همزمان هماتوکریت و ویسکوزیته خون می‌شود(Yersin و همکاران، ۱۹۹۲)،که باعث افزایش فشارخون ریوی و بیماری‌هایی از جمله آسیت شده که این بیماری هم به نوبه خود منجر به بروز پاسخ‌های التهابی نیز می‌شود. شرایط تنش‌زا، مثل استرس سرمایی باعث تولید کورتیکوسترون‌ها شده که تولید آنتی بادی را مهار می‌کند (Gross,۱۹۹۲) و باعث تضعیف سیستم ایمنی می‌شود. بنابراین باید شرایط محیطی مساعد و استراتژی‌های تغذیه‌ای مناسب مورد استفاده قرار گیرد(Behrooj و همکاران، ۲۰۱۲). از جمله روش‌های تغذیه‌ای که اخیرا مورد بررسی قرار گرفته استفاده از جیره‌های کم پروتئین است (Sharifi و همکاران، ۲۰۱۵b). اما در استفاده از جیره‌های کم پروتئین گزارشات متناقضی وجود دارد. Leeson و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که استفاده از جیره کم پروتئین، به دلیل کم شدن متابولیسم پروتئین، تقاضا برای اکسیژن را کاهش می‌دهد. در مقابل نشان داده شد که کاهش در پروتئین جیره میزان مرگ و میر را افزایش می‌دهد (Behrooj و همکاران، ۲۰۱۲). از جمله دلایل ناکارآمد بودن کاهش جیره: کاهش در تولید اسیداوریک (اسیداوریک یک ضداکسیدان اندوژنوس است)، کاهش در سطح آرژنین جیره (آرژنین پیش‌ساز نیتریک اکسید است که یک گشاد کننده‌ی قوی عروق می‌باشد) و تشدید لیپوژنز در پرندگان است که تقاضا برای اکسیژن را افزایش می‌دهد(Sharifi و همکاران، ۲۰۱۵a). در پرندگان سطوح بالای اسیداوریک در گردش خون به حفاظت از بافت‌ها علیه گونه‌های فعال اکسیژن کمک می‌کند و چون سرما یک شرایط استرس‌زا می‌باشد بنابراین تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد. در نتیجه کاهش تولید اسیداوریک منجر به مرگ ومیر بالا در جیره‌های با پروتئین کم به ویژه هنگام پرورش در ارتفاعات بالا می‌شود (Sharifi و همکاران، ۲۰۱۶). در دو دهه اخیر علاقه به استفاده از گیاهان دارویی و مشتقات آنها در جیره طیور به طور چشم‌گیری افزایش یافته و تحقیقات زیادی به عنوان ضد اکسیدان‌ها و تقویت کننده‌های سیستم ایمنی در این زمینه انجام شده است(Pourmorad و همکاران، ۲۰۰۶). گیاه خرفه (*Portulace oleracea*) عضوی از خانواده Portulacaceae با بیش از ۱۲۰ گونه مختلف است، از این گیاه به عنوان سبزی، ادویه و دارو از دوران باستان استفاده می‌کردند(Okafor و همکاران، ۲۰۱۴). ترکیبات مختلفی از گیاه خرفه جدا شده است که از آن جمله می‌توان به فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، پلی ساکاریدها، اسیدهای چرب، ترپنوئیدها، استرول‌ها، ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و مواد معدنی اشاره کرد و همچنین غنی از اسیدهای چرب غیراشباع شامل امگا -۳ (لینولنیک اسید) و امگا-۶ (لینولئیک اسید) است (Saffaryazdi و همکاران، ۲۰۲۰).که همه این ترکیبات در کنار هم خواص ضداکسیدانی و پاکسازی رادیکال آزاد را دارند و تقویت کننده سیستم ایمنی هستند (Habibian و همکاران، ۲۰۱۷). اگر چه استفاده از پودر گیاه خرفه و عصاره آبی و متانولی آن توانسته است باعث تقویت سیستم ایمنی شود و سلامت و مرگ ومیر پرنده را در اثر بیماری‌های متابولیکی از جمله آسیت تا حدودی بهبود بخشد (Habibian و همکاران، ۲۰۱۷ و ۲۰۱۸)، اما به تنهایی نتوانسته اثرات خود را بر سلامت پرنده اعمال نماید. بنابراین، استفاده از سایر افزودنی‌های جیره‌ای به همراه پودر خرفه، ممکن است در بهبود سلامت جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی در جیره کم پروتئین موثر باشد. به دلیل عملکردهای متابولیکی که در سال‌های اخیر برای ال-کارنیتین در نظر گرفته شده است به عنوان یک ماده افزودنی خوراکی برای بهبود تولید حیوانات اهلی مورد توجه قرار گرفته است (Arslan. 2006). ال-کارنیتین نقش مهمی را در انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیر به داخل ماتریکس میتوکندری برای اکسیداسیون به منظور فراهم کردن انرژی سلولی بر عهده دارد، همچنین در پاکسازی گونه‌های اکسیژن فعال و تنظیم سیستم ایمنی نقش دارد (Farhan و همکاران، ۲۰۱۹). ویتامین E یک ویتامین محلول در چربی

می‌باشد که برای یکپارچگی و عملکرد مطلوب سیستم‌های تولیدمثلی، عضلانی، گردش خون و سیستم ایمنی ضروری می‌باشد، همچنین این ویتامین به عنوان یک ضداکسیدان قوی شناخته شده که توانایی پاکسازی رادیکال‌های آزاد را در بدن دارد (Lorenzoni و Ruiz-Feria، ۲۰۰۶). پس با توجه به این که استفاده از جیره‌های کم پروتئین می‌تواند به عنوان یک راهکار نسبتا موثر در کاهش مصرف اکسیژن در تنش سرمایی باشد، اما به دلیل کاهش تولید اسیداوریک به عنوان یک ضداکسیدان درون زادی هنگام استفاده از جیره کم پروتئین موجب ایجاد تنش اکسیداتیو در پرنده شده، که باعث کاهش کارایی سیستم ایمنی و سلامت در پرنده می‌شود. استفاده از پودر گیاه خرفه همراه ویتامین E و ال-کارنیتین در جیره‌های کم پروتئین می‌تواند در این زمینه مفید واقع شود. بنابراین در مطالعه حاضر اثر استفاده از پودرگیاه خرفه به همراه سایر افزودنی‌های جیره‌ای نظیر ویتامین E و ال-کارنیتین در جیره های کم پروتئین به منظور بهبود شاخص‌های مرتبط با سلامت در پرندگان تحت استرس سرمایی در یک منطقه مرتفع بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی گیاه خرفه

گیاه خرفه در مرحله بذردهی از مزارع سبزی‌کاری اطراف سنندج جمع‌آوری شد. گیاه کامل (شامل بذر، برگ، ساقه و ریشه) از خاک و دیگر آلودگی‌های خارجی جدا و در محیطی به دور از آفتاب خشک شد. نمونه‌های خشک شده به صورت ریز آسیاب (اندازه ذرات ۲ میلی‌متر) گردید و پودر به دست آمده تا زمان استفاده در محلی به دور از نور آفتاب و در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. نمونه‌هایی از پودر گیاه خرفه با استفاده از روش‌های استاندارد (۱۹۹۴) AOAC آنالیز گردید. این نتایج نشان دادکه پودر خرفه شامل ۹۲/۲۲ ٪ ماده خشک، ۲۳/۵۷ ٪ پروتئین خام، ۱/۸ ٪ عصاره اتری، ۱۶/۳ ٪ فیبر خام و ۲۴/۱۱٪ خاکستر بود.

پرندگان، مدیریت، جیره‌های آزمایشی و نمونه‌برداری

این آزمایش در واحد تحقیقاتی پرورش جوجه گوشتی دانشگاه کردستان انجام شد. مزرعه تحقیقاتی ۱۸۵۶ متر بالاتر از سطح دریا قرار داشت. تعداد ۵۷۶ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه نر (راس ۳۰۸) از یک واحد جوجه‌کشی تجاری خریداری شد. جوجه‌ها در ابتدای ورود توزین و به طور مساوی بین ۳۶ واحد آزمایشی (۱۶ پرنده در هر واحد آزمایشی) تقسیم شدند. هر واحد آزمایشی دارای ابعاد ۱/۲۵×۱/۲۵ متر و مجهز به دو آبخوری پستانکی و یک دانخوری آویز سطلی بود. القا تنش سرمایی به این صورت انجام گرفت که دما در شروع پرورش ۱ ± ۳۲ درجه سانتی‌گراد بود که به ۱ ± ۲۵ درجه سانتی گراد در روز ۷، ۱ ± ۲۰ درجه سانتی‌گراد در روز ۱۴ و ۱ ± ۱۵ درجه سانتی گراد در روز ۲۱ کاهش یافت و تا پایان دوره پرورش در همین دما باقی ماند (Nemati و همکاران، ۲۰۱۷). در طول هفته اول برنامه نوری ۲۴ ساعت روشنایی و پس از آن برنامه ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی اعمال شد. گروه‌های آزمایشی به طور تصادفی به ۶ گروه تخصیص داده شدند که هر گروه شامل ۶ تکرار و ۱۶ پرنده در هر تکرار بود. همچنین در طول دوره آزمایش جوجه‌ها در حد اشتها به آب و خوراک دسترسی داشتند. گروه‌های آزمایشی شامل: ۱) جیره با پروتئین معمولی طبق توصیه سویه راس ۳۰۸ به عنوان شاهد منفی، ۲) جیره با پروتئین کم (۲ ٪ پایین تر نسبت به مقدار توصیه شده) به عنوان شاهد، ۳) جیره شاهد حاوی ۲ گرم بر کیلوگرم پودر خرفه، ۴) جیره شاهد حاوی پودر خرفه همراه با ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم ال-کارنیتین، ۵) جیره شاهد حاوی پودر خرفه همراه با ۲۵۰ میلی گرم برکیلوگرم ویتامین E ، ۶) جیره شاهد حاوی پودر خرفه به علاوه مخلوط ویتامین E (۲۵۰ میلی گرم برکیلوگرم) و ال-کارنیتین (۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم). جیره‌ها بر اساس توصیه‌های سویه راس ۳۰۸ (Aviagen®، ۲۰۱۴) تنظیم شدند (جدول ۱).

در طی روزهای ۲۸ و ۴۲ دو قطعه پرنده از هر قفس به طور تصادفی انتخاب شد و خونگیری از طریق ورید بال صورت گرفت. نمونه‌های خون به لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد

(EDTA) انتقال داده شد. نمونه‌های خون حاوی EDTA برای اندازه‌گیری شمار هماتوکریت، هموگلوبین و شمار گلبول‌های قرمز و همچنین شمار لنفوسیت و هتروفیل مورد استفاده قرار گرفت. همچنین قسمتی از نمونه‌های خونی که در روز ۴۲ گرفته شد به لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد برای تهیه سرم انتقال داده شد. نمونه‌ها در ۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق برای جمع‌آوری سرم سانتریفیوژ شدند که برای اندازه‌گیری میزان گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) و لیپوپروتئین با چگالی بالای (HDL) به کار برده شد. برای بررسی وضعیت سیستم ایمنی پرندگان، در روزهای ۲۷ و ۳۴ از آزمایش، ۰/۵ میلی لیتر گلبول قرمز خون گوسفندی (۷٪) به عنوان یک آنتی ژن غیربیماری‌زا به طور تصادفی به دو پرنده از هر قفس تزریق شد. ۷ روز بعد از تزریق(روزهای ۳۴ و ۴۱)، نمونه‌های خون برای تهیه سرم گرفته شد. همچنین برای بررسی پاسخ تیترآنتی بادی علیه واکسن بیماری نیوکاسل، ۷ روز بعد از تجویز واکسن (در ۱۶ و ۲۷ روزگی) نمونه‌های خون جمع آوری و سرم آن جدا شد.

آنالیز آزمایشگاهی

شمار هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول‌های قرمز خون با استفاده از روش‌های معمول اندازه‌گیری شد (Baker, ۱۹۸۵ وSilverton ؛Jain,۱۹۸۶). برای شمارش تفریقی سلول‌های خونی که شامل لنفوسیت‌ها و هتروفیل‌ها بود گسترش‌های خونی به صورت دستی تهیه و رنگ آمیزی شدند. سپس براساس هتروفیل‌ها و لنفوسیت‌هایی که شمارش شده بودند نسبت هتروفیل به لنفوسیت به دست آمد (Lucas,۱۹۶۱ وJamro). میزان گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) و لیپوپروتئین با چگالی بالای (HDL) موجود در سرم توسط کیت‌های تشخیص شرکت پارس آزمون و روش‌های اسپکتروفتومتری مندرج در راهنمای هر کیت مورد سنجش قرار گرفت. از روش هموگلوتیناسیون مستقیم برای اندازه‌گیری پاسخ آنتی بادی به SRBC استفاده شد. تیتر آنتی بادی علیه واکسن نیوکاسل با روش HI (Hemmaglutinin-Inhibition test) تعیین شد (Allan ,۱۹۷۴ وGough).

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز داده‌های مربوط به این آزمایش که در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفته بود، با استفاده از رویه GLM نسخه ۹/۱ نرم افزار SAS (SAS,۲۰۰۳) تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

شاخص‌های خونی

اثرات گروه‌های آزمایشی روی پارامترهای خونی در جدول ۲ نشان داده شده است. در سن ۲۸ روزگی، جیره‌های آزمایشی تاثیری بر شمار گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتوکریت و همچنین درصد هتروفیل و لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت خون جوجه‌های گوشتی نداشتند. در سن ۴۲ روزگی اثرات گروه‌های آزمایشی بر شاخص های خونی معنی دار شد به گونه ای که درصد گلبول‌های قرمز خون(RBC)، هماتوکریت(Hb)، هموگلوبین(HCT) و نسبت هتروفیل به لنفوسیت (H/L) خون جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با خرفه همراه با ال-کارنیتین و ویتامین E در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با جیره شاهد منفی کاهش پیدا کردند. پرندگان تغذیه شده با جیره‌های شاهد منفی و شاهد کمترین درصد لنفوسیت ($P <$ ۰/۰۵) و بیشترین درصد هتروفیل خون را در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با جیره های حاوی خرفه همراه با ال-کارنیتین و ویتامین E داشتند ($P <$ ۰/۰۵).

پاسخ ایمنی

اثر گروه‌های آزمایشی بر تیتر آنتی بادی گلبول‌های قرمز خون گوسفندی(SRBC) و واکسن بیماری نیوکاسل(NDV) در جدول ۳ ارائه شده است. هیچ اختلاف معنی‌داری بین پرندگان تغذیه شده با جیره های آزمایشی در تیتر آنتی بادی علیه SRBC

در ۳۴ روزگی و تیتر آنتی بادی علیه NDV در ۱۶ روزگی وجود نداشت (P> ۰/۰۵). در سن ۴۱ روزگی ، تیتر آنتی بادی علیه SRBC در پرندگان تغذیه شده با جیره کم پروتئین حاوی پودر خرفه به همراه ویتامین E و یا پودر خرفه به همراه ال-کارنیتین نسبت به گروه شاهد منفی و شاهد افزایش یافت (P <۰/۰۵). در مورد تیتر آنتی بادی بر علیه NDV در روز ۲۷ از آزمایش، فقط جیره کم پروتئین حاوی پودر خرفه به همراه ویتامین E توانست تیتر آنتی بادی خون پرندگان را در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با جیره های شاهد منفی و شاهد افزایش دهد (P <۰/۰۵).

فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون

در جدول ۴ اثرات گروه‌های آزمایشی بر مقادیر گلوکز(GLU)، تری‌گلیسیرید(TG)، کلسترول کل(CHOL)، لیپوپروتئین با چگالی کم(LDL) و لیپوپروتئین با چگالی بالا(HDL) سرم نشان داده شده است. در سن ۴۲ روزگی غلظت GLU و LDL پرندگان تغذیه شده با جیره های آزمایشی تحت تاثیر قرار نگرفتند(P> ۰/۰۵). غلظت TG و CHOL خون پرندگان تغذیه شده با جیره شاهد با پودر خرفه + ویتامین E، پودر خرفه + ال-کارنیتین و پودر خرفه + ویتامین E و ال-کارنیتین در مقایسه با پرندگان دریافت کننده جیره شاهد منفی و شاهد کاهش پیدا کردند، در حالی که، این افزودنی‌ها باعث افزایش HDL خون در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با جیره شاهد منفی شدند (P <۰/۰۵).

بحث

جوجه‌های گوشتی امروزی به دلیل رشد سریعی که دارند، هنگام پرورش در مناطق مرتفع و یا مکان‌های سرد به اکسیژن بیشتری نیاز دارند. به خوبی ثابت شده است که سرما و درجه حرارت پایین یکی از عوامل اصلی در ایجاد بیماری‌هایی از جمله آسیت در مرغ‌های گوشتی تجاری می‌باشد، دمای محیطی سرد نرخ متابولیسم را بالا می‌برد و بنابراین نیاز به اکسیژن را افزایش داده و به دنبال آن برون‌ده قلب و جریان خون افزایش می‌یابد (Wideman, ۲۰۰۰).

در جیره با پروتئین معمولی (شاهد منفی) و جیره با ۲ درصد پروتئین کمتر (شاهد) بدون افزودنی‌های خرفه، ال-کارنیتین، و ویتامین E تحت پرورش در دمای سرد، تعداد گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین و هماتوکریت افزایش پیدا کردند. مقادیر هماتوکریت هنگامی که جوجه‌های گوشتی در معرض استرس سرمایی قرار می‌گیرند افزایش می‌یابد که این افزایش یک پاسخ فیزیولوژیکی در دمای پایین است، که به نوبه خود ناشی از افزایش فعالیت‌های متابولیکی برای اکسیژن می‌باشد (Ozkan و همکاران، ۲۰۰۷). نشان داده شده که یکی از علت های اصلی ایجاد بیماری‌های متابولیکی مانند آسیت، سطوح بالای هماتوکریت می‌باشد که باعث افزایش ویسکوزیته خون می‌شود (Habibian و همکاران، ۲۰۱۷). مکمل کردن جیره کم پروتئین (شاهد) با پودر خرفه و همچنین افزودنی‌های ال-کارنیتین و ویتامین E اثر استرس سرمایی بر مقادیر شمار گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت را در دوره سنی ۴۲ روزگی کاهش داد. این اثرات احتمالا به دلیل اثرات ضداکسیدانی خرفه، ال-کارنیتین، و ویتامین E می‌باشد که می‌تواند مانع افزایش تولید گلبول‌های قرمز شود که در پاسخ به کمبود اکسیژن در بافت‌ها رخ می‌دهد (Sharifi و همکاران ۲۰۱۶؛ Habibian و همکاران، ۲۰۱۷). از طرفی، مقادیر بالای اسیدهای چرب امگا-۳ در خرفه (Okafor و همکاران، ۲۰۱۴)، می‌تواند دلیل دیگری برای اثرات آن بر شاخص‌های خونی باشد. اسیدهای چرب امگا-۳ احتمالا سیالیت غشای گلبول‌های قرمز را افزایش و عملکرد غشا را تغییر می‌دهند تا تغییر شکل پذیری و توانایی حمل و نقل گلبول‌های قرمز را افزایش دهند. از این رو، تعداد گلبول‌های قرمز خون و متعاقب آن مقدار هماتوکریت و هموگلوبین کاهش می‌یابد (Habibian و همکاران، ۲۰۱۷). مطابق با یافته‌های آزمایش حاضر، Habibian و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کرد که پودر خرفه مقادیر گلبول‌های قرمز خون، هموگلوبین و هماتوکریت را در پرندگانی که آسیت به وسیله هورمون T_3 (تری‌یدوتیرونین) القا شده بود را کاهش داد. Sharifi و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که افزودن ترکیبات ضد اکسیدانی از قبیل Q_{10} و ویتامین E

به جیره‌های کم پروتئین باعث کاهش مقدار هماتوکریت شد. در مطالعاتی که روی ال-کارنیتین صورت گرفته بود، استفاده از این ماده باعث بهبود شاخص‌های خونی شده بود. جیره‌های مکمل شده با ال-کارنیتین در جوجه‌های گوشتی تحت پرورش در دمای پایین شمار گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت را کاهش دادند (Wang و همکاران، ۲۰۱۳). Geng و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که کاهش هماتوکریت توسط ال-کارنیتین و Q_{10} ممکن است مربوط به اثرات مفید آن‌ها در حفظ یکپارچگی غشای زیستی باشد. نسبت هتروفیل به لنفوسیت یک شاخص از میزان استرس در جوجه‌های گوشتی می‌باشد. هر چه این نسبت بالاتر باشد به این معنی است که استرس بیشتر است (۲۰۱۸ ,Khajali و Sharifi). در مطالعه حاضر، نتایج نشان دهنده افزایش تعداد هتروفیل، کاهش تعداد لنفوسیت و افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسبت در پرندگان تغذیه شده با جیره های شاهد منفی و شاهد است که نشان دهنده قرار گرفتن این پرندگان در معرض تنش سرمایی می‌باشد. مکمل کردن جیره با ۲ درصد پروتئین کمتر (شاهد) با خرفه، ال-کارنیتین و ویتامین E باعث کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد که نشان می‌دهد این مکمل‌ها می‌توانند اثرات مضر استرس سرمایی در جوجه‌های گوشتی را کاهش دهند.

تحت شرایط تنش‌زا، سیتوکین‌های التهابی بیشتری تولید می‌شوند که تولید فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین را از هیپوتالاموس تحریک می‌کنند و کورتیکوسترون را از غده فوق کلیه آزاد و در نهایت تولید آنتی بادی را مهار می‌کنند (Gross,۱۹۹۲). در مطالعه ی حاضر، در شرایط استرس سرمایی تولید تیتر آنتی بادی علیه SRBC و ویروس نیوکاسل در پرندگان تغذیه شده با جیره‌های شاهد منفی و شاهد کاهش پیدا کرد. ترکیب خرفه با ال-کارنیتین و ویتامین E در جیره شاهد (جیره با ۲ درصد پروتئین کمتر) در شرایط استرس سرمایی باعث بهبود تیتر آنتی بادی علیه SRBC و بیماری نیوکاسل شد. در تحقیق انجام شده به وسیله Ghorbani و همکاران (۲۰۱۴) عصاره خرفه هیچ اثری روی تیتر آنتی بادی نداشت؛ اما در مطالعه دیگری، عصاره هیدروالکلی خرفه باعث بهبود تیتر آنتی بادی علیه SRBC و واکسن نیوکاسل شد (Kazemi و همکاران، ۲۰۱۸). اثرات مفید ویتامین E بر تولید تیتر آنتی بادی نیز در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است (Rehman و همکاران، ۲۰۱۷a)که با یافته‌های ما مطابقت دارد. Moriguchi و همکاران (۱۹۹۳)گزارش کردند که ویتامین E از طریق افزایش عملکرد ماکروفاژهای فاگوسیتی، کاهش تولید پروستاگلاندین E_2، افزایش ترشح اینترلوکین-۱ به وسیله ماکروفاژها، افزایش تولید اینترلوکین-۲ (IL-2) و تکثیر سلول‌های T پاسخ ایمنی را بهبود می‌بخشد. مطالعات انجام گرفته روی ال-کارنیتین، اثرات مفید آن بر تیتر آنتی بادی را نشان داده است (Asadi و همکاران، ۲۰۱۶؛ Rehman و همکاران، ۲۰۱۷a). ال-کارنیتین باعث افزایش سطح ایمینوگلوبولین G و فعالیت لیزوزیم می‌شود. پیشنهاد شده است که سطوح بالای فعالیت لیزوزیم روی فعال سازی فاگوسیت‌ها اثر دارد (Geng و همکاران، ۲۰۰۷). از طرف دیگر، به دلیل غلظت بالای ال-کارنیتین در لنفوسیت‌ها، این آمین از آپوپتوزیس لنفوسیت‌ها جلوگیری می‌کند (Asadi و همکاران، ۲۰۱۶) و در نتیجه سیستم ایمنی پرنده را بهبود می‌بخشد.

در پرندگان، اجزای خون شاخص مهمی برای وضعیت رفاه و سلامتی پرندگان می‌باشد، زیرا این شاخص‌ها نشان دهنده پاسخ‌های فیزیولوژیکی به عوامل برون‌زا است. در مطالعه حاضر، تحت شرایط استرس سرمایی در تیمارهای شاهد منفی و شاهد غلظت‌های تری‌گلیسیرید و کلسترول افزایش پیدا کرد و در مقابل میزان HDL-کلسترول کاهش یافته بود. از طرفی افزودن مکمل‌های ضد اکسیدانی به جیره شاهد باعث کاهش تری‌گلیسیرید و کلسترول و افزایش HDL-کلسترول شده بود. در جوجه‌های گوشتی تحت استرس، فعالیت آنزیم‌های ضد اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در خون و کبد کاهش پیدا می‌کند و بنابراین پراکسیداسیون لیپیدها افزایش می‌یابد. در نتیجه سطح بالای کلسترول می‌تواند مربوط به سطح تولید بالای مالون‌دی‌آلدئید در پلاسما و کبد باشد (Wang و همکاران، ۲۰۱۲). یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که مکمل

کردن جیره شاهد با پودر خرفه، ویتامین E و ال-کارنیتین سطوح تری‌گلیسیرید و کلسترول را کاهش داد. نشان داده شده که افزودن خرفه به جیره جوجه‌های گوشتی باعث کاهش سطح تری‌گلیسیرید، کلسترول و LDL و افزایش سطح HDL گردید (Habibian و همکاران، ۲۰۱۸). خرفه دارای مقادیر زیادی اسیدهای چرب امگا-۳ است. اسیدهای چرب امگا-۳ بالا رفتن غلظت چربی خون را از طریق اثرات مهار کنندگی که روی آنزیم‌های کمپلکس اسید چرب سنتاز و آسیل ترانسفراز دارند را بهبود می‌بخشد (El-Sayed, ۲۰۱۱). همچنین، بتا-سیتوسترول یافت شده در خرفه میزان کلسترول و LDL را کاهش می‌دهد (Abumweis و همکاران، ۲۰۰۸). در مطالعاتی که قبلا انجام گرفته است، افزودن ال-کارنیتین (Wang و همکاران، ۲۰۱۳) و ویتامین E (Sigolo و همکاران، ۲۰۱۹) به جیره پروفایل لیپیدها را بهبود بخشیده است. ال-کارنیتین احتمالا با افزایش انتقال اسیدهای چرب به داخل میتوکندری برای اکسیداسیون، میزان تری‌گلیسیرید را کاهش می‌دهد (Rehman و همکاران، ۲۰۱۷b). همچنین ال-کارنیتین با افزایش فعالیت لیپاز و کاهش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز، تری‌گلیسیرید را به اسیدهای چرب و گلیسرول تبدیل می‌کند (Zhang و همکاران، ۲۰۱۰). از طرف دیگر، ال-کارنیتین به دلیل کاهش فعالیت بتا-هیدروکسی بتا-متیل گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز (آنزیم محدود کننده سنتز کلسترول) در کبد، میزان LDL را کاهش می‌دهد (Hassan و همکاران، ۲۰۱۱). در پرندگان، تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها منجر به بیماری‌های مختلف می‌شود. ویتامین E اولین ضد اکسیدان زنجیر شکن در فاز لیپیدی است که با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد در غشاهای بیولوژیکی از آسیب رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند (Kanchana,۲۰۱۰ و Jeyanthi). بنابراین از پراکسیداسیون لیپیدها و تولید مالون دی‌آلدئید جلوگیری کرده و باعث کاهش کلسترول می‌شود.

جدول ۱- ترکیب اجزای خوراکی و مواد مغذی جیره‌های پایه در دوره‌های سنی مختلف

مورد (درصد؛ مگر آن که متفاوت ذکر شده باشد)	۱تا ۱۰ روزگی			۱۱تا ۲۴ روزگی			۲۵ تا ۳۹ روزگی			۴۰ تا ۴۹ روزگی		
	شاهد منفی	شاهد	شاهد +۰/۲٪ خرفه	شاهد منفی	شاهد	شاهد +۰/۲٪ خرفه	شاهد منفی	شاهد	شاهد +۰/۲٪ خرفه	شاهد منفی	شاهد	شاهد +۰/۲٪ خرفه
اجزا خوراک (٪)												
ذرت	۵۰/۶۹	۵۷/۷۰	۵۷/۶۵	۵۵/۱۵	۶۲/۳۲	۶۲/۲۳	۶۱/۳۷	۶۸/۴۹	۶۸/۴۱	۶۳/۹۳	۷۱/۱۳	۷۱/۰۰
کنجاله سویا (۴۴٪)	۴۱/۰۸	۳۴/۸۸	۳۴/۷۵	۳۷/۱۸	۳۰/۹۲	۳۰/۸۰	۳۱/۶۳	۲۵/۴۱	۲۵/۳۰	۲۸/۹۸	۲۲/۷۵	۲۲/۶۶
روغن سویا	۳/۵۰	۲/۳۰	۲/۲۶	۳/۴۱	۲/۱۰	۲/۱۰	۳/۰۸	۱/۸۳	۱/۸۱	۳/۳۲	۲/۰۰	۲/۰۰
دی‌ال-متیونین	۰/۴۸	۰/۵۲	۰/۵۳	۰/۴۱	۰/۴۶	۰/۴۶	۰/۳۷	۰/۴۱	۰/۴۲	۰/۳۴	۰/۳۸	۰/۳۹
ال-لیزین-هیدروکلرید	۰/۳۷	۰/۵۶	۰/۵۷	۰/۲۸	۰/۴۸	۰/۴۹	۰/۲۸	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۲۷	۰/۴۶	۰/۴۶
ال-ترئونین	۰/۱۹	۰/۲۷	۰/۲۷	۰/۱۵	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۱۲	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۰	۰/۱۸	۰/۱۸
دی کلسیم فسفات	۱/۸۱	۱/۸۶	۱/۸۶	۱/۶۲	۱/۶۹	۱/۶۹	۱/۴۱	۱/۴۵	۱/۴۵	۱/۳۲	۱/۳۳	۱/۳۴
کلسیم کربنات	۱/۰۸	۱/۱۰	۱/۱۰	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۲	۰/۹۳	۰/۹۳	۰/۹۲	۰/۹۵	۰/۹۵
نمک طعام	۰/۳۰	۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲
پیش مخلوط ویتامینه و مواد معدنی*	۰/۵۰	/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
خرفه	۰	۰	۰/۲۰	۰	۰	۰/۲۰	۰	۰	۰/۲۰	۰	۰	۰/۲۰
مواد مغذی (محاسبه شده)												
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۵۰	۳۰۵۰	۳۰۵۰	۳۱۰۰	۳۱۰۰	۳۱۰۰
پروتئین خام (٪)	۲۲/۵	۲۰/۵	۲۰/۵	۲۱	۱۹	۱۹	۱۹	۱۷	۱۷	۱۸	۱۶	۱۶
متیونین + سیستئین (٪)	۱/۰۸	۱/۰۸	۱/۰۸	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵
لیزین (٪)	۱/۴۴	۱/۴۴	۱/۴۴	۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۰۸	۱/۰۸	۱/۰۸
ترئونین (٪)	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۷۳
آرژنین (٪)	۱/۵۲	۱/۵۲	۱/۵۲	۱/۳۷	۱/۳۷	۱/۳۷	۱/۲۱	۱/۲۱	۱/۲۱	۱/۱۰	۱/۱۰	۱/۱۰
والین (٪)	۱/۰۹	۱/۰۹	۱/۰۹	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۷۹
کلسیم (٪)	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵
فسفر قابل دسترس (٪)	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۷
سدیم (٪)	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴

پیش مخلوط ویتامینه و مواد معدنی مقادیر زیر را به ازای هر کیلوگرم خوراک فراهم کرد: ویتامین A، ۹۰۰۰ واحدبین‌المللی؛ ویتامین D3، ۲۰۰۰ واحدبین المللی؛ ویتامین E، ۱۸ واحدبین‌المللی؛ ویتامین K_3، ۲ میلی گرم؛ ریبوفلاوین، ۱۸ میلی گرم؛ نیاسین، ۳۰ میلی گرم؛ دی-کلسیم پانتوتنیک اسید، ۱۰ میلی گرم؛ کولین کلرید، ۵۰۰ میلی گرم؛ ویتامین B_{12}، ۰/۰۲ میلی گرم؛ فولیک اسید، ۱/۰ میلی گرم؛ منگنز، ۱۰۰ میلی گرم؛ روی، ۹۰ میلی گرم؛ آهن، ۵۰ میلی گرم؛ مس، ۱۰ میلی گرم؛ ید، ۱ میلی گرم؛ سلنیوم، ۰/۲ میلی گرم

جدول۲- اثرات جیره‌های آزمایشی* برشمار گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و هماتوکریت و همچنین درصد هتروفیل و لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در خون جوجه‌های گوشتی

تیمار	شاهد منفی	شاهد	شاهد+خرفه	شاهد+خرفه+ویتامین E	شاهد+خرفه+ ال-کارنیتین	شاهد+خرفه+ویتامین E +ال-کارنیتین	SEM**	P value
روز ۲۸								
شمار گلبول‌های قرمز (۱۰^۶×/میکرولیتر)	/۹	/۹	/۷	/۷	۳/۹	۳/۶	۰/۰۵۶	۰/۶۲۳
هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	۱۴/۳	/۸	/۴	۱۳/۷	۱۳/۶	۱۳/۲	۰/۱۶۳	۰/۵۱۹
هماتوکریت (درصد)	۴۲/۲	۴۰/۸	/۰	/۴	۳۹/۷	۳۹/۱	۰/۵۶۲	۰/۷۴۸
لنفوسیت (درصد)	۶۰/۵	۶۱/۶	/۶	/۴	۶۳/۲	۶۳/۵	۰/۷۶۹	۰/۹۲۵
هتروفیل (درصد)	۳۷/۷	/۴	۳۵/۴	۳۵/۲	۳۴/۸	۳۴/۵	۰/۷۷۵	۰/۸۹۶
نسبت هتروفیل به لنفوسیت	۰/۶۲	۰/۶۰	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۶	۰/۵۴	۰/۰۲۰	۰/۹۱۴
روز ۴۲								
شمار گلبول‌های قرمز (۱۰^۶×/میکرولیتر)	۴/۸^{a}	۴/۷^{ab}	۳/۷^{bc}	۳/۸^{abc}	۳/۶^{c}	۳/۹^{abc}	۰/۱۲۲	۰/۰۰۳
هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)	۱۵/۸^{a}	۱۵/۳^{ab}	۱۳/۹^{ab}	۱۳/۸^{b}	۱۳/۸^{b}	۱۴/۰^{ab}	۰/۲۳۲	۰/۰۰۶
هماتوکریت (درصد)	۴۷/۸^{a}	۴۴/۳	۳۹/۳^{bc}	۳۹/۴^{bc}	۳۶/۷^{c}	۴۰/۵^{bc}	۰/۹۱۳	۰/۰۰۰۲
لنفوسیت (درصد)	۵۹/۷^{b}	۶۱/۰^{b}	۶۹/۸^{ab}	۶۷/۲^{ab}	۷۳/۵^{a}	۶۷/۵^{ab}	۱/۲۶۷	۰/۰۰۳
هتروفیل (درصد)	۳۲/۲^{a}	۳۱/۰^{ab}	۲۲/۲^{bc}	۲۱/۲^{c}	۱۸/۵^{c}	۲۴/۵^{abc}	۱/۲۶۵	۰/۰۰۱
نسبت هتروفیل به لنفوسیت	۰/۵۴^{a}	۰/۵۱^{ab}	۰/۳۲^{bc}	۰/۳۰^{c}	۰/۲۵^{c}	۰/۳۶^{abc}	۰/۰۲۶	۰/۰۰۱

^{a,c} وجود حروف یکسان در بین میانگین‌ها در هر ردیف بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار آنها است ($P>0/05$)؛ آزمون توکی برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. * شاهد منفی،جیره با پروتئین نرمال؛ شاهد، جیره با پروتئین پایین(۲۰ گرم بر کیلوگرم کمتر نسبت به گروه شاهد منفی)؛ پودر خرفه،۲ گرم بر کیلوگرم؛ ویتامین E، ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم؛ ال-کارنیتین، ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم. ** خطای استاندارد میانگین‌ها

جدول۳ - اثرات جیره‌های آزمایشی* بر روی تیتر آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی و واکسن نیوکاسل در دوره‌های مختلف آزمایشی

تیمار	شاهد منفی	شاهد	شاهد+ خرفه	شاهد+خرفه+ویتامین E	شاهد+خرفه+ ال-کارنیتین	شاهد+خرفه+ویتامین E +ال-کارنیتین	SEM**	P value
تیتر آنتی بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (log^2)								
روز ۳۴	۲/۰	۱/۸	۲/۰	۲/۳	۲/۵	۲/۳	۰/۰۹	۰/۳۲
روز ۴۱	۲/۲^{c}	۲/۶^{bc}	۳/۱^{abc}	۴/۱^{a}	۴/۰^{a}	۳/۵^{ab}	۰/۱۴	<۰/۰۰۰۱
تیتر آنتی بادی علیه واکسن بیماری نیوکسل (log^2)								
روز ۱۶	۱/۶	۱/۶	۱/۶	۱/۸	۲/۰	۱/۶	۰/۰۷	۰/۶۸
روز ۲۷	۲/۶^{b}	۲/۶^{b}	۳/۴^{ab}	۳/۸^{a}	۳/۶^{ab}	۳/۶^{ab}	۰/۱۳	۰/۰۱

^{a,c} وجود حروف یکسان در بین میانگین‌ها در هر ردیف بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار آنها است ($P>$۰/۰۵)؛ آزمون توکی برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. * شاهد منفی،جیره با پروتئین نرمال؛ شاهد، جیره با پروتئین پایین(۲۰ گرم بر کیلوگرم کمتر نسبت به گروه شاهد منفی)؛ پودر خرفه،۲ گرم بر کیلوگرم؛ ویتامین E، ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم؛ ال-کارنیتین، ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم. ** خطای استاندارد میانگین‌ها

جدول ٤- اثرات جیره‌های آزمایشی* برغلظت گلوکزو لیپیدهای پلاسمای جوجه‌های گوشتی در سن ٤٢ روزگی

تیمار	شاهد منفی	شاهد	شاهد+ خرفه	شاهد+خرفه+ویتامین E	شاهد+خرفه+ ال-کارنیتین	شاهد+خرفه+ویتامین E + ال-کارنیتین	SEM**	P value
گلوکز (میلی گرم/دسی‌لیتر)	۲۸۴/۶	/۵	۲۶۱/۲	۲۶۳/۳	۲۷۱/۴	۲۷۸/۲	۳/۱۵	۰/۲۲
تری گلیسیرید (میلی گرم/دسی‌لیتر)	۷۷/۶^{a}	۷۵/۷^{a}	۷۳/۷^{ab}	۷۰/۰^{ab}	۶۴/۰^{b}	۶۳/۲^{b}	۱/۴۴	۰/۰۰۱
کلسترول (میلی گرم/دسی‌لیتر)	۱۵۳/۵^{a}	۱۵۶/۰^{a}	۱۴۶/۶^{ab}	۱۳۳/۰^{bc}	۱۳۱/۷^{c}	۱۳۴/۷^{bc}	۲/۲۹	<۰/۰۰۰۱
HDL- کلسترول (میلی گرم/دسی‌لیتر)	۸۴/۸^{b}	۹۲/۰^{ab}	۹۴/۵^{ab}	۱۰۱/۱^{a}	۱۰۴/۴^{a}	۱۰۳/۳^{a}	۱/۷۵	۰/۰۰۰۵
LDL- کلسترول (میلی گرم/دسی‌لیتر)	۲۴/۵	۲۴/۰	/۷	/۲	۱۸/۰	۲۰/۳	۱/۲۲	۰/۵۴

^{a,c} وجود حروف یکسان در بین میانگین‌ها در هر ردیف بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار آنها است ($P>$۰/۰۵)؛ آزمون توکی برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. * شاهد منفی،جیره با پروتئین نرمال؛ شاهد، جیره با پروتئین پایین(۲۰ گرم بر کیلوگرم کمتر نسبت به گروه شاهد منفی)؛ پودر خرفه،۲ گرم بر کیلوگرم؛ ویتامین E، ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم؛ ال-کارنیتین، ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم. ** خطای استاندارد میانگین‌ها

نتیجه‌گیری

افزودن ۲ گرم برکیلوگرم پودر گیاه خرفه در جیره کم پروتئین تا حدودی اثرات مخرب دمای سرد بر شاخص‌های مربوط به سلامت را کاهش داد.

مکمل کردن جیره کم پروتئین با پودر گیاه خرفه همرا با ویتامین E (۲۵۰میلی گرم برکیلوگرم) و ال-کارنیتین (۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم) باعث بهبود پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزودن ویتامین E و ال-کارنیتین در ترکیب با پودر گیاه خرفه در جیره‌های کم پروتئین باعث ایجاد اثرات سینرژیک مفید قابل توجهی برای بهبود سیستم ایمنی و شاخص‌های مربوط به سلامت در جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در تنش سرمایی می‌شود.

منابع

Abumweis, S., Barake, R. and Jones, P. (2008). Plant sterols/stanols as cholesterol lowering agents: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Food & Nutrition Research*. 52(1): 1811.

Allan, W. H. and Gough, R. E. (1974). A standard haemagglutination inhibition test for Newcastle disease (1), A comparison of macro and micro methods. *Veterinary Record*. 95(7): 147–149.

AOAC .(1994). Association of official analytical chemists.Official Methods of Analysis. Methods of Analysis.16th ed. AOAC,Washington, DC.

Arslan, C. (2006). L-Carnitine and its use as a feed additive in poultry feeding a review. *Revue de medicine veterinaire*. 157(3): 134-142.

Asadi, H., Sadeghi, A. A., Eila, N. and Aminafshar, M. (2016). Carcass traits and immune response of broiler chickens fed dietary L-carnitine, coenzyme Q_{10} and ractopamine. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 18(4): 677-682.

Aviagen®: Ross® 308. (2014). Broiler Nutrition Specification, Aviagen Ltd., Midlothian, UK.

Baker, F. J. and Silverton, R. E. (1985). Introduction to medical laboratory technology, 6th Editon, Butterworth-Heinemann, Boston, MA.

Baghbanzadeh, A. and Decuypere, E. (2008). Ascites syndrome in broilers: physiological and nutritional perspectives. *Avian Pathology*. 37(2): 117-126.

Behrooj, N., Khajali, F. and Hassanpour, H. (2012). Feeding reduced-protein diets to broilers subjected to hypobaric hypoxia is associated with the development of pulmonary hypertension syndrome. *British Poultry Science*. 53(5): 658-664.

El-Sayed, M. I. K. (2011). Effects of Portulaca oleracea L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy. *Journal of Ethnopharmacology*. 137(1): 643–651.

Farhan, O, M., Mousa, B. H., Alhamdani, A. A. (2019). Effects of dietary L-carnitine to diets with different fat sources on productive performance of broiler. *Plant Archives*. 19(2): 4409-4414.

Geng, A. L., Guo, Y. M. and Yuan, J. (2004). Effects of dietary L-carnitine and coenzyme Q_{10} supplementation on performance and ascites mortality of broilers. *Archives of Animal Nutrition*. 58(6): 473-482.

Geng, A., Li, B. and Guo, Y. (2007). Effects of dietary L-carnitine and coenzyme Q_{10} at different supplemental ages on growth performance and some immune response in ascites-susceptible broilers. *Archives of Animal Nutrition*. 61(1): 50-60.

Ghorbani, M. R., Bojarpur, M., Mayahi, M., Fayazi, J., Fatemitabatabaei, R., Tabatabaei, S. and Zulkifli, I. (2014). Effects of purslane extract on performance, immunity responses and cecal microbial population of broiler chickens. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 12(4): 1094-1098.

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.

Habibian, M., Sadeghi, G. A. and Karimi, A. (2017). Effects of purslane (*Portulaca oleracea L*.) powder on growth performance, blood indices, and antioxidant status in broiler chickens with triiodothyronine-induced ascites. *Archives Animal Breeding*. 60(3): 315-325.

Habibian, M., Sadeghi, G. A. and Karimi, A. (2018). Comparative effects of powder, aqueous and methanolic extracts of purslane (*Portulaca oleracea* L.) on growth performance, antioxidant status, abdominal fat deposition and plasma lipids in broiler chickens. *Animal Production Science*. 59(1): 89-100.

Hassan, M.S.H., Youssef, S.F. and El-bahy, N.M.A. (2011). Effects of l-carnitine and ascorbic acid supplementation on productive, reproductive, physiological and immunological performance of golden montazah laying hens. *Egyptian Poultry Science*. 31(2): 557-578.

Jain, M. C. (1986). Schalm's Veterinary Haematology, 4th edn., Lea and Febiger, Philadelphia, PA.

Kanchana, G. and Jeyanthi, G. P. (2010). The effect of supplementation of diet with vitamin-E and selenium and their combinations on the performance and lipid profiles of layer chickens. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 1(1): 1-11.

Kazemi, R., Sheikhahmadi, A. and Sadeghi, GH. A, (2018). The effect of purslane hydroextract and zinc on performance, antioxidant capacity and immunity of broiler chickens during summer conditions. *Archive Animal Breeding*. 61(3): 365-371.

Khajali, F. and Sharifi, M. (2018). Fine-tuning low-protein diets through vitamin E supplementation to avoid ascites in broiler chickens. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 20(6): 1127-1135.

Leeson, S., Diaz, G. J. and Summers, J. D. (1996). Poultry metabolic disorders and mycotoxins. University Books Publishing, ON, Canada, pp. 44.

Lorenzoni, A. G. and Ruiz-Feria, C. A. (2006). Effects of vitamin E and L-arginine on cardiopulmonary function and ascites parameters in broiler chickens reared under subnormal temperatures. *Poultry Science*. 85(12): 2241-2250.

Lucas, A. M. and Jamroz, C. (1961). Atlas of Avian Hematology. Agriculture Monograph 25. USDept. Agric., Washington, DC.

Moriguchi, S., MiwaI, H., Okamura, M., Maekawa, K., Kishino, Y. and Maeda, K. (1993) Vitamin E is an important factor in T cell differentiation in thymus of F344 rats. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*. 39(5): 451–463.

Nemati, M. H., Shahir, M. H., Harakinezhad, M. T. and Lotfalhian, H. (2017). Cold-induced ascites in broilers: effects of vitamin C and coenzyme Q_{10}. *Brazilian Journal of Poultry Scienc*. 19(3): 537-544.

Okafor, I. A., Ayalokunrin, M. B. and Orachu, L. A. (2014). A review on Portulaca oleracea (*purslane*) plant – its nature and biomedical benefits. *International Journal of Biomedical Research*. 5(2): 75–80.

Olson, D.W., Sunde, M.L. and Bird, H.R. (1972). The effect of temperature on metabolizable energy determination and utilization by the growing chick. *Poultry Science*. 51(6): 1915-1922.

Ozkan, S., Basmacioglu Malayoglu, H., Yalcin, S., Karadas, F., Kocturk, S., Cabuk, M., Oktay, G., Ozdemir, S., Ozdemir, E. and Ergul, M. (2007). Dietary vitamin E (*a*-tocopherol acetate) and selenium supplementation from different sources: performance, ascites-related variables and antioxidant status in broilers reared at low and optimum temperatures. *British Poultry Science*. 48(5): 580-593.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. and Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 5(11): 1142-1145.

Rehman, Z., Chand, N. and Khan, R. U. (2017a). The effect of vitamin E, L-carnitine, and ginger on production traits, immune response, and antioxidant status in two broiler strains exposed to chronic heat stress. Environ. *Environmental Science and Pollution Research*. 24: 26851-26857.

Rehman, Z., Naz, S., Khan, R. U. and Tahir, M. (2017b). An update on potential applications of L-carnitine in poultry. *World's Poultry Science Association*. 73(4): 1-8.

Saffaryazdi, A., Ganjeali, A., Farhoosh, R. and Cheniany, M. (2020). Variation in phenolic compounds, α- linolenic acid and linoleic acid contents and antioxidant activity of purslane (Portulaca oleracea L.) during phenological growth stages. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 26(7): 1519 – 1529.

SAS. (2003). SAS Stat User's Guide Release 9.1. SAS Inc. Cary. NC.

Sharifi, M. R., Khajali, F., Hassanpour, H., Pour-Reza, J. and Pirany, N. (2015a). L-arginine supplementation of reduced-protein diets improves pulmonary hypertensive response in broiler chickens reared at high altitude. *British Poultry Science*. 56(4): 470-476.

Sharifi, M. R., Khajali, F., Hassanpour, H., Pour-Reza, J. and Pirany. N. (2015b). Supplemental L-arginine modulates developmental pulmonary hypertension in broiler chickens fed reduced-protein diets and reared at high altitude. *Poultry Science Journal*. 3(1): 47-58.

Sharifi, M. R., Khajali, F. and Hassanpour, H. (2016). Antioxidant supplementation of low-protein diets reduced susceptibility to pulmonary hypertension in broiler chickens raised at high altitude. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 100(1): 69-76.

Sigolo, S., Khazaei, R., Seidavi, A., Ayasan, T., Gallo, A. and Prandini, A. (2019). Effects of supra nutritional levels of vitamin E and vitamin C on growth performance and blood parameters of Japanese quails. *Italian Journal of Animal Science*. 18(1): 140-146.

Wang, Y., Guo, Y., Ning, D., Peng, Y., Cai, H., Tan, J., Yang, Y. and Liu, D. (2012). Changes of hepatic biochemical parameters andproteomics in broilers with cold-induced ascites. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 41(3): 1-9.

Wang, Y. W., Ning, D., Peng, Y. Z. and Guo, Y. M. (2013). Effects of dietary L-carnitine supplementation on growth performance, organ weight, biochemical parameters and ascites susceptibility in broilers reared under low-temperature environment. *Asian-Australas Journal Animal Scince*. 26(2): 233-240.

Wideman, R. F. (2000). Cardio-pulmonary hemodynamics and ascites in broiler chickens. *Poultry and Avian Biology Reviews*. 11(1): 24–43.

Wideman, R. F., Rhoads, D. D., Erf, G. F. and Anthony, N. B. (2013). Pulmonary arterial hypertension (ascites syndrome) in broilers: a review. *Poultry Science*. 92(1):64-83.

Yersin, A.G., Huff, W.E., Kubena, L.F., Elissalde, M.H., Harvey, R.B., Witzel, D.A. and Giroir, L.E. (1992). Changes in hematological, blood gas, and serum biochemical variables in broilers during exposure to simulated high altitude. *Avian Diseases*. 36(2): 189-196.

Zhang, Y., Ma, Q., Bai, X., Zhao, L., Wang, Q. and Ji, C. (2010). Effects of dietary acetyl- L-carnitine on meat quality and lipid metabolism in Arbor Acres Broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 23(12): 1639-1644.