Animal Production Research
Vol. 12, No. 3, 2023 (15-27)
doi: 10.22124/AR.2023.23780.1751
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872
University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Comparative study of the effects of ethanolic extract of sage (*Salvia officinalis*) and vitamin C on antioxidant status, blood and biochemical parameters, mortality, and performance in broilers under induced ascites

M. Fathi[1*], T. Tanha[2], R. Taherkhani[2], V. Razaee Komasi[3]

1. Associate Professor, Department of Animal Science, Payame Noor University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Payame Noor University, Tehran, Iran
3. Former MSc Student in Animal Science, Payame Noor University, Tehran, Iran

(Received: 06-02-2023 – Revised: 22-07-2023 – Accepted: 06-08-2023)

Introduction: Ascites is one of the most common metabolic syndromes in today's fast-growing broilers and is associated with rapidly growing tissues and characterized by accumulation of lymph fluid in the peritoneal spaces. Effective factors in the occurrence of ascites syndrome include free radicals in the body such as superoxide, hydroxide, and hydrogen peroxide. By reducing the capacity of the body's antioxidant systems, free radicals make the bird susceptible to various diseases. Free radicals produced in the body by damaging the cell membrane lead to cell death and ultimately tissue damage. Therefore, by increasing cell protection from such injuries, one of the common causes of ascites and heart failure abnormalities can be prevented. In addition, free radicals from oxygen derivatives reduce the half-life of nitric oxide (vasodilating agent), causing a decrease in the ability of vasodilation and providing the basis for the occurrence of ascites. Therefore, it is suggested that the use of antioxidants can prevent ascites and improve performance in broilers. Medicinal plants are among the rich sources of natural antioxidants that do not have the harmful effects of antibiotics and synthetic antioxidants. For this reason, the use of medicinal plant extracts is an important step in animal nutrition to increase the immunity of poultry. The mentioned extracts have strong antioxidant, antibacterial, and digestive properties. Probably, the positive effects of medicinal plants are due to the active compounds found in plant extracts such as menthol, thymol, and carvacrol. This study aimed to investigate the effects of ethanolic extract of sage on the performance, antioxidant status, and blood parameters of broiler chickens under induced ascites.

Materials and methods: A total of 450 one-day-old chickens (Ross 308) were reared in the form of a completely randomized design with six treatments and five replications (15 chickens in each replication). Experimental treatments include 1. Positive control group (without inducing ascites and fed with basic diet), 2. Negative control group (inducing ascites and fed with basic diet), 3 and 4. Vitamin C group (inducing ascites with levels of 1000 and 2000 ppm vitamin C), 5 and 6- Sage group (ascites induction with 1000 and 2000 ppm of sage extract). To induce ascites, water containing 1200 mg of sodium (three grams per liter of sodium salt) was provided to the chickens from the 15th day of the experiment. Growth performance parameters including feed intake, weight gain, and feed conversion ratio were calculated for the total period. On the last day of the experiment (42 d), two birds were randomly selected from each cage and after sampling from the wing vein, killed and the ascites index was calculated as the ratio of the weight of the right ventricle to the total ventricles. The mortalities were collected as soon as they were observed and after weighing to correct the feed conversion ratio, were necropsied to investigate the cause of death. Blood and biochemical parameters such as the number of red and white blood cells, hemoglobin, hematocrit, heterophil and lymphocyte, serum triglyceride, and cholesterol, as well as serum antioxidant parameters including the level of malondialdehyde and the activity of antioxidant enzymes including

* Corresponding author: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir

glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase were measured. In addition, liver enzymes present in the serum including alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase (GGT), and alkaline phosphatase (ALP) were also measured.
Results and discussion: The results showed that induction of ascites increased the ratio of the right ventricle to total ventricles, mortality due to ascites, feed consumption, feed conversion ratio, and body weight loss (P<0.05). Administering sage extract improved the mentioned traits and vitamin C also reduced the ratio of right ventricle to total ventricles, losses due to ascites (P<0.05). Sage extract and vitamin C moderated the increasing effects of ascites induction on heterophiles, triglyceride, and cholesterol and increased red blood cells, hematocrit, and hemoglobin compared to the negative control treatment (P<0.05). In addition, the induction of ascites decreased the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase enzymes and increased serum malondialdehyde, experimental treatments, especially sage extract, improved the antioxidant status compared to the negative control treatment (P<0.05). Also, the induction of ascites increased the serum levels of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, gammaglutaryl transferase, and alkaline phosphatase enzymes. The addition of experimental supplements, especially sage, decreased the serum level of the mentioned enzymes (P<0.05).
Conclusions: The results of this research showed that the use of sage extract compared to vitamin C has better results on performance, increasing antioxidant power, and reducing stress of broilers with ascites.
Keywords: Ascites, Antioxidant, Broilers, Sage extract, Performance, Vitamin C
Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.
Funding: The authors received no specific funding for this work.

How to cite this article:

Fathi, M., Tanha, T., Taherkhani, R., & Razaee Komasi, V. (2023). Comparative study of the effects of ethanolic extract of sage (*Salvia officinalis*) and vitamin C on antioxidant status, blood and biochemical parameters, mortality, and performance in broilers under induced ascites. *Animal Production Research*, *12*(3), 15-27. doi: 10.22124/AR.2023.23780.1751

تحقیقات تولیدات دامی

سال دوازدهم/شماره سوم/پاییز ۱۴۰۲ (۲۷-۱۵)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

بررسی مقایسه‌ای آثار عصاره اتانولی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) و ویتامین C بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی، تلفات و عملکرد در جوجه‌های گوشتی در شرایط آسیت القایی

مختار فتحی[1*]، تیمور تنها[2]، رضا طاهرخانی[2]، وحید رضایی کماسی[3]

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۳۱ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۵)

چکیده

به منظور بررسی تاثیر عصاره اتانولی مریم‌گلی بر عملکرد، وضعیت آنتی‌اکسیدانی، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی و تلفات جوجه‌های گوشتی در شرایط آسیت القایی، آزمایشی با استفاده از تعداد ۴۵۰ قطعه جوجه یک روزه گوشتی نر (راس ۳۰۸) در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار، پنج تکرار و ۱۵ جوجه در هر تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد مثبت (بدون القای آسیت و تغذیه شده با جیره پایه)، ۲- گروه شاهد منفی (القای آسیت و تغذیه شده با جیره پایه)، ۳ و ۴- گروه ویتامین C (القای آسیت همراه با سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام ویتامین C)، ۵ و ۶- گروه مریم‌گلی (القای آسیت همراه با ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره مریم گلی) بودند. برای القای آسیت از روز ۱۵ آزمایش، آب حاوی ۱۲۰۰ میلی‌گرم سدیم (سه گرم در لیتر نمک طعام) در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. نتایج نشان داد القای آسیت سبب افزایش نسبت بطن راست به کل بطن‌ها، تلفات ناشی از آسیت، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک و کاهش وزن بدن شد ($P<۰/۰۵$). تجویز عصاره مریم‌گلی سبب بهبود صفات مذکور شد و ویتامین C نیز نسبت بطن راست به کل بطن ها و تلفات ناشی از آسیت را کاهش داد ($P<۰/۰۵$). عصاره مریم‌گلی و ویتامین C، آثار افزایشی القای آسیت بر هتروفیل، تری‌گلیسیرید و کلسترول را تعدیل کرده و همزمان سبب افزایش گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در مقایسه با تیمار شاهد منفی شد ($P<۰/۰۵$). تیمارهای آزمایشی به ویژه عصاره مریم گلی سبب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با تیمار شاهد منفی شد ($P<۰/۰۵$). مکمل‌سازی جیره‌های آزمایشی به ویژه با مریم‌گلی سبب کاهش سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، گاماگلوتاریل ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز شد ($P<۰/۰۵$). نتایج تحقیق حاضر نشان داد استفاده از عصاره مریم‌گلی در مقایسه با ویتامین C، نتایج بهتری بر عملکرد و افزایش توان آنتی‌اکسیدانی و کاهش تنش جوجه‌های گوشتی درگیر با آسیت داشت.

واژه‌های کلیدی: آسیت، آنتی‌اکسیدان، جوجه‌های گوشتی، عصاره مریم‌گلی، عملکرد، ویتامین C

* نویسندهٔ مسئول: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2023.23780.1751

مقدمه

سندرم افزایش خون ریوی یا آسیت یکی از نگرانی‌های مهم صنعت پرورش جوجه‌های گوشتی محسوب می‌شود. آسیت اساساً به وسیله خارج شدن مایعات، عمدتاً به ناحیه حفره شکمی و پری‌کاردیوم قلب ظاهر شده و در نهایت منجر به مرگ در اثر ناتوانایی قلبی می‌شود. سندرم آسیت با تأثیر منفی بر قلب، کبد و شش‌های پرنده منجر به افزایش تلفات شده و این تلفات منجر به خسارت اقتصادی فراوان به تولیدکننده می‌شود (Daneshyar *et al*., 2009). از جمله عوامل موثر در وقوع سندرم آسیت می‌توان به رادیکال‌های آزاد موجود در بدن نظیر سوپراکسید، هیدروکسید و پر اکسید هیدروژن اشاره کرد. رادیکال‌های آزاد با کاهش ظرفیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن، پرنده را در مقابل بیماری‌های مختلف مستعد می‌نمایند. رادیکال‌های آزاد تولید شده در بدن با آسیب به غشاء سلول منجر به مرگ سلولی و در نهایت، آسیب‌های بافتی می‌شوند، به‌طوری که یکی از دلایل عمده سندرم آسیت، وقوع آسیب به سلول‌های شش خواهد بود (Fathi *et al*., 2022). بنابراین، با افزایش محافظت سلولی، از چنین آسیب‌هایی می‌توان جلوگیری کرد که یکی از عوامل ایجاد کننده آسیت و ناهنجاری‌های نارسایی قلبی است. علاوه بر این، رادیکال‌های آزاد شده از مشتقات اکسیژن از راه کاهش نیمه عمر برای نیتریک اکساید (عامل گشاد کننده عروق)، سبب کاهش توانایی انبساط‌پذیری عروق شده و زمینه را برای بروز آسیت فراهم می‌کنند (Lorenzoni and Ruiz-Feria, 2006). موجودات زنده برای محافظت در مقابل رادیکال‌های آزاد دارای یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ترکیبی شامل سیستم آنزیمی (شامل آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز در سیتوزول و ساختمان غشای سلولی) و سیستم غیرآنزیمی (شامل گلوتاتیون، پلی‌فنل‌ها، کارتنوئیدها، دی‌پپتیدهای ویژه، پروتئین‌های حاوی گروه تیول، پلی‌آمین‌ها، ابی‌کینول، فلاونوئیدها، بیلی‌روبین، اسید اوریک، ویتامین E همراه با سلنیوم و ویتامین C در سرم و بافت‌ها) هستند (Nemati *et al*., 2022).

گیاهان دارویی از جمله منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که فاقد آثار سوء آنتی‌بیوتیک‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی هستند. به همین دلیل امروزه استفاده از عصاره گیاهان دارویی یک گام مهم در تغذیه حیوانات برای افزایش ایمنی بدن طیور است. عصاره‌های مذکور، آثار آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی و خواص هضمی قوی دارند. احتمالاً آثار مثبت گیاهان دارویی ناشی از ترکیبات فعال موجود در عصاره‌های گیاهی مانند منتول (Menthol)، تیمول (Thymol) و کارواکرول (Carvacrol) باشد (Al-Kassi, 2009; Asgharian *et al*., 2020).

گیاه مریم‌گلی با نام علمی *Salvia mirzayanii* گیاهی بوته‌ای و چندساله متعلق به نعنایان *Lamiaceae* و زیرخانواده *Stachyoideae* است که در نواحی گرم و نیمه گرم می‌روید. در اسانس برگ مریم‌گلی، ۱۷ ترکیب شیمیایی شناسایی شده است که مهمترین آنها عبارتند از: ۱ و ۸-سینئول (1,8 –Cineole)، لینالیل استات (Linalyl acetate)، لینالول (Linalool)، اسپاتولنول (Spathulenol)، دلتا-کادین (Delta cadinene)، آلفا تری‌پینین (Alpha Terpinene)، آلفا-کادینون (Alpha cadinene)، بتا-اودسمول (Beta–Eudesmol)، تیمول، کارواکرول و اوکالیپتول (Eucalyptol). دو ترکیب ۱ و ۸- سینئول و لینالول موجود در اسانس این گیاه اهمیت بیشتری دارند. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه مریم‌گلی به دلیل وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها است که اثر آنتی اکسیدانی آن مرتبط با نوع و میزان این ترکیبات است (Esmaeili *et al*., 2009). علاوه بر این، وجود مقادیر بالای اسیدهای رزمارینیک و کارنوزیک در مریم‌گلی فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه را به شدت افزایش می‌دهد (Uveliera *et al*., 1994).

تاکنون مطالعه‌ای در مورد آثار عصاره اتانولی مریم‌گلی در جوجه‌های گوشتی درگیر با آسیت صورت نگرفته است. بنابراین، تحقیق حاضر با هدف ارزیابی عملکرد رشد، وضعیت آنتی اکسیدانی و وضعیت برخی از فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با عصاره اتانولی مریم‌گلی و مقایسه آثار آن با ویتامین C در شرایط بیماری آسیت القایی طراحی شد.

مواد و روش‌ها

پرندگان، پرورش و جیره‌های آزمایشی: تعداد ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه جنس نر از سویه تجاری راس ۳۰۸ در شش تیمار آزمایشی (پنج تکرار و ۱۵ جوجه در هر واحد آزمایشی) توزیع شدند. پرنده‌ها در پن‌هایی با ابعاد ۱۳۰ × ۱۲۰ سانتیمتر و ارتفاع ۸۰ سانتیمتر تا سن ۴۲ روزگی روی

بستر پرورش یافته و در طول آزمایش از سه جیره آغازین (۰-۱۰ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) بر اساس احتیاجات غذایی سویه راس تغذیه شدند (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد مثبت (بدون القای آسیت و تغذیه شده با جیره پایه)، ۲- گروه شاهد منفی (القای آسیت و تغذیه شده با جیره پایه)، ۳ و ۴- گروه ویتامین C (القای آسیت همراه با سطوح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام ویتامین C در لیتر آب آشامیدنی)، ۵ و ۶- گروه مریم گلی (القای آسیت همراه با ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره مریم گلی در لیتر آب آشامیدنی) بودند.

برنامه نوری به‌صورت یک ساعت تاریکی و ۲۳ ساعت روشنایی بود. در طول دوره آزمایش، پرندگان دارای دسترسی آزاد به آب و خوراک بودند. برای القای آسیت از روز ۱۵ آزمایش، آب آشامیدنی پرندگان حاوی ۱۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سدیم (سه گرم در لیتر نمک طعام) بود (Xiang *et al.*, 2004).

تهیه عصاره اتانولی مریم‌گلی: عصاره اتانولی از شرکت گیاهان دارویی آشا ارگانیک سبزوار تهیه شد. طرز تهیه عصاره به‌طور خلاصه به این ترتیب بود که مقدار ۱۰۰ گرم پودر گیاه مریم‌گلی به ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد اضافه شده و جهت استخراج عصاره به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط روی همزن قرار گرفت. در مرحله بعد، محلول تولیدی از کاغذ صافی عبور داده شده و محلول به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس نیز حلال اضافی به مدت یک ساعت در دستگاه تقطیر در شرایط خلأ، تبخیر و عصاره تغلیظ شد. در نهایت، عصاره تولیدی در ظروف استریل در دمای یخچال نگهداری شد.

جدول ۱- اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی (۴۲-۱ روزگی)

Table 1. Ingredients and chemical compositions of experimental diets (1-42 days old)

	Starter (0-10 d)	Grower (11-24 d)	Finisher (25-42 d)
Ingredients (%)			
Mize, 8% CP	47.53	51.63	32.35
Soybean meal, 44%CP	42.35	37.99	32.35
Soybean oil, 9000 kcal/kg	5.54	6.24	6.29
Limestone, 38% Ca	1.20	1.12	1.05
Di-calcium phosphate, 21%Ca	1.79	1.56	1.34
Vitamin premix[a]	0.25	0.25	0.25
Mineral premix[b]	0.25	0.25	0.25
NaCl	0.40	0.40	0.40
DL-Methionine, 99%	0.37	0.32	0.28
Lysine, 78%	0.28	0.22	0.22
Threonine, 98.5%	0.05	0.02	0.00
Calculated values			
Metabolizable energy, kCal/kg	2990	3082	3218
Crude protein, %	23	21.3	19.3
Calcium (Ca), %	0.96	0.87	0.79
Available phosphorus, %	0.456	0.409	0.361
Sodium (Na), %	0.16	0.16	0.16
Methionine, %	0.71	0.64	0.58
Methioninecysteine, %	1.07	0.89	0.89
Lysine, %	1.46	1.30	1.17
Arginine, %	1.56	1.45	1.30
Threonine, %	0.96	0.87	0.78
Tryptophan, %	0.35	0.32	0.29

[a] Vitamin concentration per kilogram of diet: retinol, 13.50 mg; cholecalciferol, 4.15 mg; tocopherol acetate, 32.00 mg; vitamin K3, 2 mg; thiamin, 2 mg; riboflavin, 6.00 mg; biotin, 0.1 mg; cobalamin, 0.015 mg; pyroxidine, 3 mg; niacin, 11.00 mg; d-pantothenic acid, 25.0; menadione sodium bisulphate, 1.10; folic acid, 1.02; choline chloride, 250 mg; nicotinamide, 5 mg.

[b] Mineral concentrations per kilogram of diet:calcium pantothenate, 25 mg; Fe (from ferrous sulphate), 35 mg; Cu (from copper sulphate), 3.5 mg; Mn (from manganese sulphate), 60 mg; Zn (from zinc sulphate), 35 mg; I (from calcium iodate), 0.6 mg; Se (from sodium selenite), 0.3 mg.

میزان فنول کل برابر ۳۵/۵ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و میزان فلانوئید کل برابر ۱۵/۱۴ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بود. برای اندازه‌گیری میزان فنول کل از روش Alizadeh Behbahani *et al.* (2019) استفاده شد. به‌طور خلاصه در این روش، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره به یک میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالچو (۱۰ درصد وزنی/وزنی) اضافه شده و به مدت پنج دقیقه با هم مخلوط شدند. سپس ۰/۳ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات (۱۰ درصد) به آن اضافه شد. پس از دو ساعت ماندن در دمای اتاق، جذب نور نمونه در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از غلظت‌های صفر تا ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده شده و در نهایت، میزان فنول کل بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش شد. برای تعیین میزان فلانوئید کل نیز از روش Barzegar *et al.* (2021) استفاده شد. به‌طورخلاصه در این روش، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول آلومینیوم کلراید (۱۰ درصد)، ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات (یک مولار) و ۴/۳ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و پس از ماندن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب نور نمونه در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت، میزان فلانوئید کل بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد.

نتایج مربوط به ترکیبات عصاره نیز با استفاده از دستگاه GC/MS در جدول ۲ نشان داده شده است. دستگاه مورد نظر، گاز-کروماتوگرافی ۳۴۰۰ واریان، ستون DB-1 (۱۰۰٪ متیل پلی سیلوکسان) به طول ۶۰ متر، قطر ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. بیشترین ترکیبات شامل اسکلارئول ۴۹/۵ درصد و لینالیل استات ۱۴ درصد بود.

نمونه‌گیری: مقدار خوراک مصرفی و وزن بدن پرندگان هر واحد آزمایشی در سن ۴۲ روزگی اندازه‌گیری و شاخص‌های عملکرد (خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل) برای سن یک تا ۴۲ روزگی محاسبه شد. در ۴۲ روزگی، از هر قفس دو جوجه به‌طور تصادفی انتخاب شده و از سیاهرگ بال به وسیله سرنگ‌های مخصوص خون‌گیری انجام و برای دو نمونه (دو میلی‌لیتر) استفاده شد. یک نمونه برای شمارش سلول‌های خونی و نمونه دیگر برای تهیه سرم جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمیایی استفاده شد.

برای تعیین سلول‌های خونی، یکی از لوله‌ها حاوی ماده ضد انعقاد (اتیلن دیآمین ترا استیک اسید) بود. نمونه‌های خون برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون (هتروفیل و لنفوسیت) و محاسبه نسبت هتروفیل به لنفوسیت به روش رنگ‌آمیزی گیمسا آزمایش شدند (Hudson and Hay, 1989; Nooreh *et al.*, 2020). غلظت هموگلوبین با استفاده از کیت شرکت زیست‌شیمی به روش رنگ‌سنجی و سیانومت‌هموگلوبین اندازه‌گیری شد. جهت تعیین هماتوکریت، نمونه‌های خون موجود در لوله‌های مویین با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و با استفاده از خط‌کش، درصد هماتوکریت محاسبه شد. برای شمارش تعداد گلبول‌های قرمز از روش دستی و لام هماسیتومتر نئوبار استفاده شد (Nooreh *et al.*, 2020).

جدول ۲- نتایج تجزیه عصاره اتانولی مریم گلی با استفاده از دستگاه GC/MS

Table 2. Results of *Salvia officinalis* ethanolic extract analysis using GC/MS

Row	Composition	Kovats index	Percent
1	Linalool	1091	0.6
2	Linalyl Acetate	1248	14
3	β-Caryophyllene	1429	0.3
4	Germacrene D	1489	1.4
5	M=260	2088	34
6	Scelareaol	2382	49.5

برای تهیه سرم، نمونه‌ها پس از نگهداری به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق، به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۳۵۰۰۰ سانتریفیوژ شده و سرم به‌دست آمده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان تعیین فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون نگهداری شد. سنجش فراسنجه‌های خونی در این آزمایش بر اساس پروتکل‌های دامپزشکی در آزمایشگاه دامپزشکی رادین مهر گرگان انجام شد. اندازه‌گیری آنزیم‌های سرم شامل آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) با استفاده از کیت‌های برند Padco و دستگاه اسپکتروفتومتر (Hanan) انجام شد. عوامل بیوشیمیایی سرم شامل تری‌گلیسیرید و کلسترول با استفاده از کیت‌های برند پارس آزمون و دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی سرم شامل آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز

(GPx)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) نیز با استفاده از کیت‌های برند نوندسلامت به کمک دستگاه الایزا ریدر برند Biotek صورت پذیرفت. برای تعیین میزان سطح مالون‌دی‌آلدهید سرم (MDA)، میزان جذب نوری در نمونه‌ها با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV 1600 PC, Shimadzu, Japan) در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت مالون‌دی-آلدهید نمونه‌ها محاسبه شد (Placer *et al.*, 1996). تلفات به محض مشاهده جمع‌آوری، ثبت و برای تشخیص دلیل مرگ، کالبدگشایی شد. با مشاهده وجود آب در محوطه شکمی و پری‌کاردیوم قلب، تلفات در دسته تلفات ناشی از آسیت ثبت شد. در پایان آزمایش نیز از هر قفس، دو قطعه جوجه کشتار شده و نسبت وزن بطن راست به کل بطن‌ها که به عنوان شاخص (RV/TV) آسیت محسوب می شود، اندازه‌گیری شد (Fathi *et al.*, 2022).

تجزیه آماری: تجزیه و تحلیل آماری به کار گرفته شده در این تحقیق بر اساس طرح کاملاً تصادفی بود. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار Excel آماده شده و سپس با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ (SAS, 2003) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها هم از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

عملکرد رشد، شاخص آسیتی و تلفات ناشی از آسیت: نتایج تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های عملکردی، تلفات ناشی از آسیت و شاخص آسیتی (RV/TV) در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد القای آسیت به‌طور معنی-داری سبب افزایش نسبت بطن راست به کل بطن‌ها (۰/۳۰ در مقابل ۰/۲۲) و تلفات ناشی از آسیت (۱۴/۶۶ درصد در مقابل ۲/۶۶ درصد) شد (P<۰/۰۵). همچنین، القای آسیت سبب کاهش وزن حاصله (۲۱۰۰ گرم در مقابل ۲۴۸۶ گرم) و افزایش ضریب تبدیل خوراک (۱/۵۶ در مقابل ۱/۸۵) در ۴۲ روزگی شد (P<۰/۰۵). استفاده از ویتامین C و عصاره مریم‌گلی در هر دو سطح سبب کاهش شاخص آسیتی و تلفات ناشی از آسیت شد که بیشترین تاثیر مربوط به استفاده از سطح عصاره مریم‌گلی بود (P<۰/۰۵)، در حالی که ویتامین C، تنها در سطح VC-2 سبب کاهش خوراک مصرفی شد، مریم‌گلی در هر دو سطح (SO-1 و SO-2) به‌طور معنی‌داری سبب کاهش خوراک مصرفی و کاهش ضریب تبدیل خوراک در پرندگان متاثر از آسیت القایی شد. علاوه بر این، مریم‌گلی در سطح SO-2 سبب افزایش معنی-دار وزن نهایی در مقایسه با پرندگان شاهد منفی شد (P<۰/۰۵).

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر عملکرد و شاخص آسیتی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

Table 3. Effect of different experimental treatments on the performance and ascites index of broiler chickens at the age of 42 days

Treatments	BW (g)	FI (g)	FCR	RV/TV	Mortality due to ascites (%)
PC	2486[a]	3878[a]	1.56[c]	0.22[c]	2.66[d]
NC	2100[c]	3885[a]	1.85[a]	0.30[a]	14.66[a]
VC-1	2150[c]	4063[a]	1.89[a]	0.25[b]	10.66[b]
VC-2	2110[c]	3755[b]	1.79[a]	0.26[b]	12.00[b]
SO-1	2040[c]	3447[c]	1.69[b]	0.25[b]	6.66[c]
SO-2	2210[b]	3757[b]	1.70[b]	0.22[c]	8.00[c]
SEM	42	130	0.09	0.02	1.95
P-value	0.010	0.01	0.022	0.01	0.01

[a-d] Means with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

BW: Body weight; FI: Feed intake; FCR: Feed conversion ratio; RV/TV: Right ventricle/total ventricle; PC: Positive control (without induction ascites and fed basal diet); NC: Negative control (with induction ascites and fed basal diet); VC-1 and VC-2 indicate the supplementation vitamin C at the rate of 1000 and 2000 ppm, respectively; SO-1 and SO-2 indicate the supplementation of *Salvia officinalis* ethanolic extract at the rate of 1000 and 2000 ppm, respectively.

افزایش شاخص آسیتی به بالاتر از ۰/۲۵ نشان از بروز آسیت دارد. این افزایش نسبی وزن بطن راست نشان‌دهنده هایپرتروفی قلب در اثر افزایش فعالیت قلب در جهت تامین اکسیژن مورد نیاز در شرایط دمای هوای سرد و افزایش فشار خون ریوی ناشی از مصرف سدیم بالا است. این تغییرات آناتومیکی گاهی می‌تواند همراه با تغییرات

هماتولوژیکی نیز باشد (Daneshyar *et al*., 2009; Fathi *et al.*, 2016, 2022). گزارشات زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد استفاده از آنتی اکسیدان‌ها می‌تواند با کاهش رادیکال‌های آزاد و متعاقباً کاهش اکسیداسیون لیپیدهای دیواره مویرگی، می‌تواند به حفظ ساختار مویرگ و حفاظت از اکسیداسیون بافت قلب و بافت کبد کمک کرده و بروز آسیت را کاهش دهد (Bautista-Ortega and Ruiz-Feria, 2010; Rajani *et al*., 2011; Fathi *et al.*, 2016, 2022). استفاده از عصاره گیاهان دارویی در موش‌های صحرایی سبب افزایش کارآیی نیتریک اکسید شده و متعاقباً سبب کاهش فشار خون ریوی و مشکلات قلبی-عروقی شد. این محققین پیشنهاد کردند که عصاره‌های گیاهی می‌توانند تلفات ناشی از فشار خون ریوی را کاهش دهند (Gharib Naseri *et al*., 2004). مطالعات محدودی روی عصاره مریم‌گلی در جوجه‌های گوشتی درگیر با آسیت انجام شده است. اما مشابه با نتایج حاضر در مطالعات انجام شده روی گیاهان دارویی با ترکیبات مشابه، نتایج تعداد زیادی از محققین، تاثیر منفی گیاهان دارویی بر مصرف خوراک گزارش شده است (Cabuk *et al*., 2006; Bahadoran *et al*., 2022). هم راستا با نتایج این تحقیق، کاهش مصرف خوراک و افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در اثر استفاده سطوح مختلف عصاره مریم‌گلی گزارش شده است. این محققین کاهش مصرف خوراک ناشی از استفاده از عصاره مریم‌گلی را در ارتباط با بو و طعم تلخ عصاره که ناشی از وجود تانن‌ها، توکستوژن و ترکیبات اوژنول است بیان نمودند. علاوه بر این، کاهش مصرف خوراک در اثر مکمل-سازی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در اثر کاهش سوخت و ساز ناشی از کاهش تنش سرمایی باشد (Ikbal Coskun and Tekeli, 2019).

بهبود ضریب تبدیل غذایی ناشی از عصاره مریم‌گلی می-تواند ناشی از آثار آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم‌گلی و همچنین کاهش جمعیت کلی‌فرم‌های روده به واسطه وجود ترکیبات پلی فنول و ترپنی موجود در عصاره این گیاه باشد (Demir *et al*., 2008; Asheg *et al*., 2019). لینالول و کارواکرول از اجزای اصلی اسانس‌های خانواده نعناعیان (مریم‌گلی) است. این ترکیبات بر میکروفلور روده اثر گذاشته و از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا ممانعت می‌نمایند. هم‌چنین بر قابلیت استفاده از مواد مغذی نیز تاثیر گذاشته و ضریب تبدیل خوراکی را بهبود می‌بخشند (Alcicek *et al*., 2004; Garcia *et al*., 2007). علاوه بر این، عصاره‌های گیاهی منبع غنی از پروتئین، ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنتی اکسیدان‌ها بوده و سبب افزایش هضم و جذب و بهبود ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی می‌شوند (Kakengi *et al*.,2007; Leusink *et al*., 2010).

تاثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی سرم: تاثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر فراسنجه‌های خونی شامل تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین، درصد هماتوکریت، تعداد گلبول سفید، تعداد هتروفیل خون، سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد القای آسیت به‌طور معنی-داری سبب افزایش تعداد گلبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، هتروفیل، تری‌گلیسیرید و کلسترول خون پرندگان شد ($P<۰/۰۵$). مکمل‌سازی ویتامین C در سطح VC-2 و هر دو سطح عصاره مریم‌گلی به‌طور معنی‌داری سبب افزایش گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون شده و همزمان سبب کاهش معنی‌دار تعداد سلول‌های هتروفیل خون، سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم شدند که بیشترین تاثیر مربوط به تیمار مریم‌گلی درسطح SO-2 بود ($P<۰/۰۵$).

همسو با نتایج این تحقیق، گزارش شده است که استفاده از پودر مریم‌گلی در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، مقدار هماتوکریت و هموگلوبین خون شد. این محققین پیشنهاد کردند احتمالاً گیاهان دارویی با اعمال آثار آنتی‌اکسیدانی سبب محافظت از گلبول‌های قرمز خون در برابر آسیب‌هایی اکسیداتیو ناشی از تنش‌های مختلف شده و از راه محافظت‌کنندگی غشای گلبول قرمز، مانع از تخریب گلبول قرمز می‌شوند و نتیجه نهایی آن، افزایش تعداد گلبول قرمز خواهد بود (Al-Sherify and Al-alwany *et al*., 2016). استفاده از مریم-گلی سبب کاهش سطح کلسترول، تری‌گلیسرید خون و لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین در جوجه‌های گوشتی بدون تنش (Christensen *et al*., 2010; Farhadi *et al.*, 2020) و در شرایط تنش اکسیداتیو القاء شده با مس (Mortezayi *et al*., 2020) شد.

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی جوجه‌های گوشتی

Table 4. Effect of different experimental treatments on blood and biochemical parameters of broilers

Treatments	WBC ($\times10^3$/µL)	RBC ($\times10^3$/µL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	Lymphocyte ($\times10^3$/µL)	Heterophil ($\times10^3$/µL)	Heterophil / Lymphocyte	Triglyceride (mg/dL)	Cholesterol (mg/dL)
PC	196.8	2.71^{c}	13.9^{b}	35.5^{b}	125.2	50.9^{c}	0.40^{c}	31.73^{d}	79.20^{e}
NC	196.2	2.88^{b}	15.21^{ab}	37.51^{b}	126.5	94.5^{a}	0.75^{a}	62.78^{a}	253.5^{a}
VC-1	175.5	2.79^{b}	14.8^{b}	37.5^{b}	117.0	65.2^{b}	0.55^{b}	38.1^{d}	115.3^{d}
VC-2	195.2	3.21^{a}	15.9^{ab}	42.1^{a}	113.5	65.3^{b}	0.57^{b}	58.2^{a}	186.2^{b}
SO-1	190.2	3.07^{a}	16.41^{a}	41.10^{a}	115.2	65.5^{b}	0.57^{b}	50.71^{b}	148.1^{c}
SO-2	188.9	3.02^{a}	16.3^{a}	40.12^{a}	121.3	65.3^{b}	0.54^{b}	43.23^{c}	118.0^{d}
SEM	25.5	0.65	2.90	3.52	9.50	9.20	0.04	6.50	5.5
P-value	0.12	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

[a-e] Means with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$).

PC: Positive control (without induction ascites and fed basal diet); NC: Negative control (with induction ascites and fed basal diet); VC-1 and VC-2 indicate the supplementation vitamin C at the rate of 1000 and 2000 ppm, respectively; SO-1 and SO-2 indicate the supplementation *Salvia officinalis* ethanolic extract at the rate of 1000 and 2000 ppm, respectively; WBC: White blood cell; RBC: Red blood cell; HGB: Hemoglobin; HCT: Hematocrit.

کاهش میزان چربی‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با عصاره‌های گیاهی می‌تواند حاصل تعامل و اثر هم‌کنش‌افزایی (سینرژیستیک) چند ماده موثر نظیر فلاونوییدها، آلکالوییدها و آلکامیدها موجود در آنها باشد. علاوه بر این، ترپنوییدهای موجود در گیاهان دارویی با مهار آنزیم A-HMG باعث کاهش معنی‌دار غلظت کلسترول و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی پایین می‌شوند (Nasiroleslami and Torki, 2010). علاوه بر این، به نظر می‌رسد استفاده از عصاره گیاهان دارویی با خاصیتی شبه انسولینی مانع تجزیه چربی‌های ذخیره‌ای و در نتیجه مانع آزاد شدن آن در خون شده‌اند. نقش تیمول و کارواکرول در کاهش لیپیدهای خون ممکن است از راه تأثیر بر ممانعت از فعالیت آنزیم‌های کبدی دخیل در ساخت کلسترول و اسیدهای چرب باشد (Rowghani *et al*., 2007; Al-Kassi, 2009; Pascariu *et al*., 2017).

تاثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر فراسنجه‌های آنتی اکسیدانی سرم: نتایج مربوط به تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های آنتی اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد در حالی که القای آسیت به‌طور معنی‌داری سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی GPx، SDO، CAT و افزایش سطح پروکسیداسیون لیپید (MDA) در سرم جوجه‌های گوشتی شد ($P<۰/۰۵$)، هر دو سطح عصاره مریم‌گلی و ویتامین C در مقایسه با تیمار شاهد منفی، سبب افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و کاهش سطح MDA در سرم پرندگان شدند ($P<۰/۰۵$).

جدول ۵- اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر عملکرد آنتی اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی

Table 5. Effect of different experimental treatments on serum antioxidant function of broiler chickens

Treatments	GPx (Mu/mL)	SOD (U/mL)	CAT nmol/min/mL	MDA (n mol/mL)
PC	1490.0^{a}	301.7^{a}	71.80^{a}	10.44^{b}
NC	1121.9^{c}	270.5^{c}	26.60^{c}	14.85^{a}
VC-1	1389.2^{b}	283.8^{b}	35.25^{b}	10.33^{b}
VC-2	1392.5^{b}	286.0^{b}	69.29^{a}	8.50^{c}
SO-1	1381.6^{b}	302.1^{a}	71.80^{a}	10.91^{b}
SO-2	1376.2^{b}	281.1^{b}	69.62^{a}	11.74^{b}
SEM	85.5	10.20	7.10	1.52
P-value	0.00	0.00	0.00	0.00

[a-c] Means with different superscripts in the same column are significantly different ($P<0.05$).

PC: Positive control (without induction ascites and fed basal diet); NC: Negative control (with induction ascites and fed basal diet); VC-1 and VC-2 indicate the supplementation of vitamin C at the rate of 1000 and 2000 ppm, respectively; SO-1 and SO-2 indicate the supplementation of *Salvia officinalis* ethanolic extract at the rate of 1000 and 2000 ppm, respectively; GPx: Glutathione peroxidase; SOD: Superoxide dismutase; CAT: Catalase; MDA: Malondialdehyde.

مطابق با نتایج این تحقیق، قبلاً هم استفاده از عصاره مریم-گلی به جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شده است. احتمالاً آثار آنتی اکسیدانی عصاره مریم‌گلی به دلیل داشتن ترکیبات پلی فنول و ترپنی است (Tzakou *et al*., 2001; Monagas *et al*., 2005; Yutseven *et al*., 2008 Asheg *et al*., 2019). استفاده از مریم‌گلی باعث کاهش سطح مالون‌دی‌آلدهید، افزایش سطح گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در جوجه‌های متاثر از تنش سرمایی (Bahadoran *et al*., 2022) و تنش اکسیداتیو القایی (Nabi *et al*., 2018; Yutseven *et al*., 2008) می‌شود. ترکیبات فنولی موجود در مریم‌گلی، رادیکال‌های آزاد را پاک‌سازی کرده و مانع از ادامه واکنش‌های زنجیره‌ای در بدن می‌شوند (Youdim and Deans, 2000). احتمالاً کارواکرول و تایمول موجود در عصاره‌های خانواده نعناعیان همانند مریم‌گلی، می‌تواند با دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد باعث از بین رفتن آنها شده و خود آنها نیز اکسید شده و به رادیکال‌های نسبتاً پایدارتری تبدیل شوند (Hofman-Pennesi and Wu, 2010).

تاثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر آنزیم‌های کبدی: نتایج تاثیر تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی موجود در سرم در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد که القای آسیت به‌طور معنی‌داری سبب افزایش سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) شد ($P<۰/۰۵$)، در حالی که عصاره مریم‌گلی در هر دو سطح (SO-1 و SO-2) به‌طور معنی‌داری سبب کاهش سطوح سرمی این آنزیم‌ها شد. ویتامین C هم در سطح VC-1 سبب کاهش سرمی آنزیم‌های ALT و ALP شد ($P<۰/۰۵$) و بر سطح سرمی سایر آنزیم‌ها تاثیر معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$).

در جوجه‌های در شرایط تنش، سطح سرمی آنزیم‌های ALT و AST افزایش می‌یابد (Arab *et al*., 2006; Fathi *et al*., 2016, 2022). تجویز عصاره مریم‌گلی به جوجه‌های گوشتی تحت تنش موجب کاهش معنی‌دار سطوح ALT و AST در مقایسه با گروه شاهد شد (Nabi *et al*., 2018). کاهش سطح سرمی آنزیم‌های AST، ALT و ALP در اثر استفاده از پودر خارمریم در جوجه های گوشتی قبلاً گزارش شده است (Faani Maki *et al*., 2013; Gharahveysi, 2018). این محققین پیشنهاد کردند که احتمالاً عصاره‌های گیاهی با آثار حفاظت‌کنندگی خود مانع از پراکسیداسیون غشای لیپیدی سلول‌های کبدی شده و به این ترتیب مانع از جریان آنزیم های کبدی به جریان عمومی خون شده‌اند. گزارشات زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان با محافظت از پراکسیداسیون غشای سلول‌های کبدی، مانع از سرازیری آنزیم‌های کبدی به جریان عمومی خون می‌شود (Arab *et al*., 2006; Fathi *et al*., 2015, 2016, 2022). بنابراین تاثیر عصاره مریم‌گلی در کاهش سطح سرمی آنزیم‌های سرمی به واسطه دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی آن است.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد استفاده از عصاره اتانولی مریم‌گلی در جوجه‌های گوشتی درگیر با آسیت، آثار به مراتب بهتری نسبت به ویتامین C خواهد داشت. بخشی از این آثار می‌تواند ناشی از ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عصاره مریم‌گلی (فنول، فلانوئیدها، اسکلارئول و لینالیل استات) باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود به‌طور موثری می‌توان از سطح ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی مریم‌گلی به عنوان ترکیبی آنتی اکسیدان به‌جای ویتامین C در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده نمود.

جدول ۶- تاثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر فعالیت آنزیم های موجود در سرم

Table 6. Effect of different experimental treatments on the activity of serum enzymes

Treatments	ALT (U/L)	AST (U/L)	GGT (U/L)	ALP (IU/l)
PC	4.10^{c}	151.0^{bc}	14.87^{c}	354.7^{d}
NC	7.80^{a}	195.9^{a}	23.50^{a}	708.6^{a}
VC-1	7.78^{a}	195.2^{a}	22.52^{a}	581.4^{b}
VC-2	6.01^{b}	174.9^{ab}	20.9^{a}	565.9^{b}
SO-1	4.10^{c}	155.0^{bc}	16.52^{b}	402.5^{c}
SO-2	6.83^{b}	174.5^{ab}	18.69^{b}	576.2^{b}
SEM	0.85	20.5	1.50	35.0
P-value	0.00	0.00	0.00	0.00

$^{a-d}$ Means with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

PC: Positive control (without induction ascites and fed basal diet); NC: Negative control (with induction ascites and fed basal diet); VC-1 and VC-2: indicate the supplementation of vitamin C at the rate of 1000 and 2000 ppm respectively; SO-1 and SO-2: indicate the supplementation *Salvia officinalis* ethanolic extract at the rate of 1000 and 2000 ppm respectively; ALT: Alanine transaminase; AST: Aspartate transaminase; GGT: Gamma-glutamyl transferase; ALP: Alkaline phosphatase.

فهرست منابع

Alcicek, A., Bozkurt, M., & Cabuk, M. (2004). The effect of a mixture of herbal essential oil, and organic acid or a probiotic on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*, *34*, 217-222. doi: 10520/EJC94382

Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Study of Chemical Structure, antimicrobila, cytotoxic and mechanism of action of syzygium aromaticum essential oil on foodborne pathogenes. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, *13*(1), 875-883. doi: 10.5219/1226

Al-Kassi, G. A. M. (2009). Influence of two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. *Pakistan Veterinary Journal*, *29*, 169-173.

Al-Sherify, S. M. H., & Al-Alwany, J. A. A. (2016). Effect of adding Salvia officinalis leaves powder to the ration on some blood traits of broiler Ross 308. *Journal of Natural Sciences Research*, *6*, 130-134. doi:10.59658/jkas.v4i5.721

Asheg, A. A., El-Nyhom, S. M., Nen Naser, K. M., Kanoun A. H., & Abuzeed, Y.M. (2019). Effect of Arbutus pavarii, Salvia officinalis and Zizyphus Vulgaris on growth performance and intestinal bacterial count of broiler chickens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine, 2*, 151-155. doi: 10.1016/j.ijvsm.2014.10.005

Asgharian, N., Najafi Gharajeh, R., & Abtahi Froushani, M. (2020). Effect of spearmint and eucalyptus essential oils on performance, carcass characteristics and immune system of broiler chickens under thermal stress conditions. *Animal Production Research, 9(3*), 17-30. doi: 10.22124/AR.2019.9963.1296 [In Persian]

Bahadoran, S., Teymuri, Y., Hassanpoor, H., Mohebbi A., & Abari, M. R. (2022). Effect of sage extract in antioxidant status and intestinal morphology of pulmonaty hypertensive chicken. *Veterinary Medicine and Science, 2022*, 1-9. doi: 10.1002/vms3.804

Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2021). Evaluation of total phenol and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract against some Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Iranian Journal of Food Science and Technology, 16*(18)*,* 327-335. doi: 10.52547/fsct.18.116.327 [In Persian]

Bautista-Ortega, J., & Ruiz-Feria, C. A. (2010). L-Arginine and antioxidant vitamins E and C improve the cardiovascular performance of broiler chickens grown under chronic hypobaric hypoxia. *Poultry Science, 89*, 2141-2146. doi: 10.3382/ps.2010-00764

Cabuk, M., Buzkurt, M., Alcicek, A., Akbas, Y., & Kucukyilmaz, K. (2006). Effect of herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *South African Journal of Animal Science*, *36*, 35-41.

Christensen, K. B., Jørgensen, M., Kotowska, D., Petersen, R. K., Kristiansen, K., & Christensen, L. P. (2010). Activation of the nuclear receptor PPARcby metabolites isolated from sage (*Salvia officinalis* L.). *The Journal of Ethnopharmacology, 132*, 127-133. doi: 10.1016/j.jep.2010.07.054

Daneshyar, M., Kermanshahi, H., & Golian, A. (2009). Changes of biochemical parameters and enzyme activities in broiler chickens with cold-induced ascites. *Poultry Science, 88,* 108-110. doi: 10.3382/ps.2008-00170

Demir, E., Kilinc, K., Yildirim, Y., Dincer F., & Eseceli, H. (2008). Comparative effects of mint, sage, thyme and flavomycin in wheat-based broiler diets. *Archiva Zootechnica, 11*, 54-63.

Esmaeili, M. A., Sonboli, A., Kanani, M. R., & Heibatollah, S. (2009). *Salvia sahendica* prevents tissue damages induced by alcohol in oxidative stress conditions: Effect on liver and kidney oxidative parameters. *Journal of Medicinal Plants Research, 3*, 276-283.

Fathi, M., Tanha, T., & Saeedyan, S. (2022). Influence of dietary lycopene on growth performance, antioxidant status, blood parameters and mortality in broiler chicken with cold-induced ascites. *Archive of Animal Nutrition, 8,* 1-11. doi: 10.1080/1745039X.2022.2046451

Fathi, M., Haydari, M., & Tanah, T. (2016). Influence of dietary aspirin on growth performance, antioxidant status, and mortality due to ascites in broiler chickens. *Poultry Science Journal, 4*(2)*,* 139-146. doi: 10.22069/PSJ.2016.10701.1178

Faani, M. A., Ebrahimzadeh, A., Ansari, N., & Ghazaghi, H. (2013). The effect of medicinal plants of milk thistle (*Silybum marianum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) on the immune system and some blood parameters in broiler chickens. *Journal of Veterinary Clinical Pathology, 2*(26)*,* 19-26.

Farhadi, M., Hedayati, M., Manafi, M., & Khalaji, S. (2020). Influence of using Sage powder on performance, blood cells, immunity titers, biochemical parameters and small intestine morphology in broiler chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science, 10,* 509-516. doi: 20.1001.1.2251628.2020.10.3.15.4.

Gharahveysi, S. H. (2018). Effects of milk thistle powder on performance, blood parameters and liver enzymes of broilers. *Journal of Animal Production, 19*(4), 879-889. doi: 10.22059/jap.2018.225325.623153 [In Persian]

Gharib Naseri M., Navid Hamidi M. & Heidari, A. (2004). Vasorelaxant effects of *Vitis vinifera* L. leaf extract on isolated rat aorta. *Journal of Medical Plants, 3 (9)*, 43-54. doi: 20.1001.1.2717204.2004.3.9.5.1

Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M. D., & Madrid, J. (2007). Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, treatment and improve meat quality in broiler chicken. *Poultry Science, 89,* 318-327. doi: 10.3382/japr.2006-00116

Hofman-Pennesi, D., & Wu, C. (2010). The effect of timol and tyme oil feed supp;emetation on growth performance, serum antioxidant levels and secal Salmonella population in broilers. *Journal of Applied Poultry Research, 19,* 432-443.doi:10.3382/japr.2009-00141.

Hudson, L., & Hay, F. C. (1989). Practical Immunology. 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Ikbal Coskun, M., & Tekeli, A. (2019). Effects of L-carnitine supplementation on ascites syndrome in the broilers grown at high altitude. *Revista MVZ Córdoba, 24*(1)*,* 7127-7136. doi: 10.21897/rmvz.1523

Kakengi, A. M. V., Kaijage, J. T., Sarwatt, S. V., Mutayoba, S. K., Shem, M. N., & Fujihara, T. (2007). The effect of *Moringa olifera* leaf meal as a substitute for sunflower seed meal on performance of laying hens in Tanzania. *Livestock Research for Rural Development, 19*(8).

Leusink, G., Rempel, H., Skura, B., Berkyto, M., White, W., Yang, Y., Rhee, J. Y., Xuan, S. Y., Chiu, S., Silversid, F., Fitzpatrik, S., & Diarra, M. S. (2010). Growth performance, meat quality, and gut microflora of broiler chickens fed with cranberry extract. *Poultry Science, 89,* 1514-1523**.** doi: 10.3382/ps.2009-00364

Lorenzoni, A. G., & Ruiz-Feria, C. A. (2006). Effects of vitamin E and l-arginine on Cardiopulmonary function and ascites parameters in broilers chickens reared under sub-normal temperatures. *Poultry Science, 85*, 2241-2250. doi: 10.1093/ps/85.12.2241

Monagas, M., Hernández-Ledesma, B., Garrido, I., Martín-Alvarez, P. J., Gómez-Cordovés, C., & Bartolomé, B. (2005). Quality assessment of commercial dietary antioxidant products from *Vitis vinifera* L. grape seeds. *Nutrition Cancer, 53*(2)*,* 244-254. doi: 10.1207/s15327914nc5302_13

Nabi, F., Zhang H., Iqbal, M. K., Rehman, M. U., Shahzad, M., Mehmood, K. H., & Li, J. (2018). *Salvia miltiorrhiza* reinstates growth plate width, reduces liver oxidative stress and toxicity in avian tibial dyschondroplasia. *Pakistan Journal of Zoology,* 50, 1-4. doi: 10.1155/2022/6209047

Nasiroleslami, M., & Torki, M. (2010). Including essential oils of *Echinacea purpurea* and thyme to diet and evaluating performance of laying hens, white blood cell count and egg quality characteristics. *Journal of Advances in Environmental Biology, 4*(3)*,* 341-345.

Nemati, M. H., Amanlou, F., & Shahir, M. H. (2022). Effect of adding *Mentha piperita* powder on performance, immune system, and blood parameters of broilers under ascites induction conditions. *Animal Production Research, 11*(1)*,* 27-38. doi: 10.22124/AR.2022.19209.1603 [In Persian]

Nooreh, Z., Taherpour, K., Akbari, Gharaei, M., Shiraz, H., & Ghasemi, H. A. (2020). Comparing effects of *Ferulago angulate* extract with antibiotic, probiotic, and vitamin-mineral complex on growth performance and immune response of broiler chickens exposed to heat stress. *Journal of Animal Production, 22(4),* 645-657.doi: 10.22059/jap.2020.304657.623540 [In Persian]

Pascariu, S. M., Pop, I. M., Simeanu, D., Pavel, G., & Solcan, C. (2017). Effects of wine By-products on growth performance, complete blood count and total antioxidant status in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science, 19,* 191-202. doi: 10.1590/1806-9061-2016-0305

Placer, Z. A., Cushman, L. L., & Johnson, B. C. (1996). Estimation of lipid peroxidation, malindialdehyde in biochemical system. *Analytical Biochemistry, 16*, 359-367. doi: 10.1016/0003-2697(66)90167-9

Rajani, J., Karimi Torshizi, M. A., & Rahimi, S. H. (2011). Control of ascites mortality and improved performance and meat shelf-life in broilers using feed adjuncts with presumed antioxidant activity. *Animal Feed Science and Technology, 170,* 239-245. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.09.001

Rowghani, E., Arab, M., Nazifi, S., & Bakhtiari, Z. (2007). Effect of canola oil on cholesterol and fatty acid composition of egg-yolk of laying hens. *International journal Poultry Science, 6,* 77-84. doi: 10.3923/ijps.2007.111.114

Tzakou, O., Pitarakoli, D., Chinou, I. B., & Harvala, C. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Salvia ringens. *Planta Medica, 67,* 181-183. doi: 10.1055/s-2001-10627

Uveliera, M. E., Berest, C., & Richard, H. (1994). Antioxidant constituents in Sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42,* 665-669. doi: 10.1021/jf00039a012

Xiang, R. P., Sun, W. D., Zhang, K. C., Li, J. C., Wang, J. Y., & Wang, X. L. (2004). Sodium chloride-induced acute and chronic pulmonary hypertension syndrome in broiler chickens. *Poultry Science, 83,* 732-736. doi: 10.1093/ps/83.5.732

Youdim, K. A., & Deans, S. G. (2000). Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain. *British Journal of Nutrition, 83*, 87-93. doi: 10.1017/S000711450000012X

Yutseven, S., Cetin, M., Sengul, T., & Sogut, B. (2008). Effect of sage extract on growth performance, blood parameters, oxidative stress and DNA damage in partridges. *South African Journal of Animal Science, 38,* 145-152.