Animal Production Research

Vol. 13, No. 3, 2024 (33-46)
doi: 10.22124/ar.2024.26665.1813
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Improvement of antioxidant status, inflammatory responses, hematological and biochemical parameters, and performance by black seed (*Nigella sativa*) supplementation in broiler chickens under induced physiological oxidative stress

M. Fathi[1*], Sh. Saidian[2], S. Moradi[3]

1. Associate Professor, Department of Animal Science, Payame Noor University, Tehran, Iran
2. Associate Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran
3. MSc in Biochemistry, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

(Received: 04-02-2024 – Revised: 10-07-2024 – Accepted: 12-07-2024)

Introduction: Oxidative stress is inevitable in broiler chicken production, and it affects the physiological, behavioral, and biochemical status of growing chicken which ultimately deteriorates meat quality. The imbalance among free radicals and antioxidant enzymes within living cells or tissues leads to the oxidation of lipids, proteins, and nucleic acids and is a fundamental cause of oxidative stress. When the antioxidant mechanism within living cells weakens, the production of free radicals increases under physiological oxygen metabolism, and reactive species (i.e., reactive oxygen species and reactive nitrogen species) are needed in cells in small quantities because they function as signaling molecules during homeostasis. However, excessive production of these species leads to oxidative stress. There is a mechanism in living cells to reduce the number of oxidative species through physiological scavenging. Numerous reactive oxygen species such assuperoxide and hydrogen peroxide are produced during oxygen metabolism. In addition, some reports showed that after the occurrence of oxidative stress, there are severe inflammatory reactions in the cells involved, which can lead to greater tissue damage and activate tissue apoptosis. Oxidative stress plays an essential role in the emergence of a number of chronic disorders such as diabetes and cancer by inducing inflammation. To protect against free radicals, living organisms have a combined antioxidant defense system including enzymatic system (such as glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase enzymes in the cytosol and cell membrane structure) and a non-enzymatic system (such as glutathione, polyphenol, carotenoids, special dipeptides, proteins containing thiol group, polyamines, ubiquinol, flavonoids, bilirubin, uric acid, vitamin E with selenium, and vitamin C) in tissues. Black cumin seeds (*Nigella sativa*) have been used as alternative medicine for more than 2000 years due to their multisystemic positive effects. Many active components of black cumin have been identified, including dithymoquinone, thymoquinone, nigellone, thymohydroquinone, nigilline, melanthin, nigelamine, damascenone, pinene, and p-cymene. Black cumin contains minerals such as calcium, magnesium, potassium, iron, phosphorus, cobalt, zinc, and manganese, and vitamins A, B, C, D, and E. Moreover, black cumin is rich in essential oils, proteins, alkaloids, saponins, flavonoids, and polyphenols. The black cumin has anti-inflammatory, analgesic, anthelmintic, hypocholesteremia, appetite stimulant, antidiarrheal, diuretic, antiulcer, spasmolytic and bronchodilatory, antimicrobial, antihypertensive, antidiabetic, anticancer, hepatoprotective, and renal protective activities and has antioxidant properties. This study was conducted to investigate the effects of black cumin on growth performance, antioxidant status, inflammatory responses, and biochemical and hematological changes in broilers under oxidative stress induced by hydrogen peroxide.

[*] Corresponding author: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir

CC BY

Materials and methods: A total of 200 one-day-old chickens (Ross 308) were reared in the form of a completely randomized design with four treatments and five replications (10 chickens per replicate). Experimental treatments included: 1. Control group (fed with basic diet), and groups 2, 3, and 4 had levels of 50, 100, and 150 g of black seed per kg of diet. To induce oxidative stress, all birds received 1% hydrogen peroxide per liter of drinking water from 14 to 42 days of age. At 42 d, two birds were randomly selected from each cage and after blood sampling from the wing vein, were killed and dissected for liver and spleen tissue sampling. Growth performance, 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 (MDA) and the activity of antioxidant enzymes including glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase, were determined. In addition, liver enzymes present in the serum including alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and alkaline phosphatase (ALP) were measured. Also, to evaluate the effect of black cumin on the inflammatory response of broiler chickens under induced oxidative stress, serum interleukins including IL-10, IL-6, and TNF-α were measured.
Results and discussion: The results showed that black seed supplementation in chickens under induced oxidative stress significantly improved the growth performance, increased the activity of antioxidant enzymes, and decreased MDA in serum, liver tissue, and spleen (P<0.05). Black seed supplementation significantly decreased serum levels of inflammatory cytokines of IL-6 and TNF-α, and increased anti-inflammatory cytokine of IL-10 (P<0.05). Also, black seed supplementation did not affect red blood cells, hematocrit, or hemoglobin, but increased white blood cells, lymphocytes, and decreased blood heterophils (P<0.05). Serum levels of triglycerides, cholesterol, ALT, AST, and ALP also decreased significantly under the influence of black seed.
Conclusions: Based on the results of this experiment, it appears that black cumin (*Nigella sativa*) seed supplement can improve the growth performance of broiler chickens due to its antioxidant and anti-inflammatory effects.
Keywords: Antioxidant, Inflammatory responses, Broilers, Blood parameters, Black seed
Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.
Funding: The authors received no specific funding for this project.

How to cite this article:

Fathi, M., Saidian, Sh., & Moradi, S. (2024). Improvement of antioxidant status, inflammatory responses, hematological and biochemical parameters, and performance by black seed (*Nigella sativa*) supplementation in broiler chickens under induced physiological oxidative stress. *Animal Production Research*, *13*(3), 33-46. doi: 10.22124/ar.2024.26665.1813

تحقیقات تولیدات دامی

سال سیزدهم/شماره سوم/پاییز ۱۴۰۳ (۴۶-۳۳)

مقاله پژوهشی

بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی، پاسخ‌های التهابی، فراسنجه‌های خونی، بیوشیمیایی و عملکرد با مکمل‌سازی سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو فیزیولوژیک القایی

مختار فتحی[1*]، شهریار سعیدیان [2]، سلیمان مرادی [3]

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

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۵ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۴/۲۰ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۲)

چکیده

این مطالعه به‌منظور بررسی آثار پودر سیاه‌دانه بر عملکرد رشد و توان آنتی‌اکسیدانی، پاسخ‌های التهابی، تغییرات بیوشیمیایی، هماتولوژی در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی با پراکسید هیدروژن انجام شد. تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در یک طرح کاملاً تصادفی به چهار تیمار، هر تیمار در پنج تکرار دارای ۱۰ جوجه یک‌روزه اختصاص داده شد. چهار تیمار آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد (تغذیه شده با جیره پایه) و تیمارهای ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دریافت‌کننده جیره پایه به‌علاوه سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد پودر سیاه‌دانه بودند. برای القای تنش اکسیداتیو، همه پرندگان از روز ۱۴ تا روز ۴۲ آزمایش، آب آشامیدنی حاوی یک درصد H_2O_2 دریافت کردند. نتایج نشان داد مکمل‌سازی سیاه‌دانه در جوجه‌های زیر شرایط تنش اکسیداتیو القایی، به‌طور معنی‌داری باعث بهبود عملکرد رشد، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و کاهش MDA در سرم، بافت کبد و طحال شد ($P<0/05$). علاوه بر این، مکمل‌سازی سیاه‌دانه به‌طور معنی‌داری سبب کاهش سطح سرمی سیتوکین‌های التهابی IL-6 و TNF-α و افزایش سیتوکین ضد التهابی IL-10 ($P<0/05$) شد. همچنین، مکمل‌سازی سیاه‌دانه بدون تاثیر بر تعداد گلبول قرمز، درصد هماتوکریت و مقدار هموگلوبین، سبب افزایش شمار گلبول سفید، درصد لنفوسیت و کاهش درصد هتروفیل خون شد ($P<0/05$). سطح سرمی تری‌گلیسرید، کلسترول و آنزیم‌های ALT، AST و ALP نیز به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر سیاه‌دانه کاهش یافت ($P<0/05$). به‌طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از سیاه‌دانه می‌تواند از راه بهبود توان آنتی‌اکسیدانی و پاسخ‌های التهابی، سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدان، پاسخ‌های التهابی، جوجه‌های گوشتی، فراسنجه‌های خونی، سیاه‌دانه

* نویسندهٔ مسئول: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2024.26665.1813

مقدمه

انتخاب ژنتیکی برای به حداکثر رساندن سرعت رشد در جوجه‌های گوشتی امروزی منجر به افزایش قابل توجهی در سرعت رشد این پرندگان شده است (Fathi *et al*., 2023). علاوه بر این، سرعت رشد بالا در این پرندگان می‌تواند منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و به‌ویژه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS, reactive oxygen species) شود که نتیجه آن، مستعد شدن این پرندگان به انواع تنش‌های محیطی از جمله تنش اکسیداتیو است (Fathi *et al*., 2022). اگرچه، تجمع گسترده ROS منجر به بروز مشکلات مختلفی می‌شود (Wang *et al*., 2020)، یک سطح حداقلی از ROS برای عمکلردهای فیزیولوژیکی مناسب سلولی لازم است (Acaroz *et al*., 2019; Ornatowski *et al*., 2020; Jaganjac *et al*., 2022). همچنین، برخی گزارش‌ها نشان می‌دهند که به دنبال وقوع تنش اکسیداتیو، واکنش‌های التهابی شدید در سلول‌های درگیر رخ می‌دهد که منجر به آسیب بافتی شدید و در نهایت، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود (Jiang *et al*., 2018). تنش اکسیداتیو با ایجاد التهاب در پیدایش تعدادی از اختلالات مزمن مانند دیابت و سرطان نقش اساسی دارد (Acaroz *et al*., 2019; Jaganjac *et al*., 2022). برای محافظت در برابر رادیکال‌های آزاد، موجودات زنده دارای یک سیستم دفاعی ترکیبی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (شامل گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و آنزیم‌های کاتالاز در سیتوزول و ساختار غشای سلولی) و یک سیستم غیرآنزیمی شامل گلوتاتیون، پلی‌فنل، کاروتنوئیدها، دی پپتیدهای ویژه، پروتئین‌های حاوی گروه تیول، پلی آمین‌ها، یوبی‌کینول، فلاونوئیدها، بیلی روبین، اسید اوریک، ویتامین E، سلنیوم و ویتامین C در سرم و بافت‌ها هستند (Nemati *et al*., 2017; Ramazani *et al*., 2023).

سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) که معمولاً به‌عنوان دانه زیره سیاه شناخته می‌شود یک گیاه یک ساله است که از نظر گیاه‌شناسی متعلق به خانواده *Ranunculaceae* است (Adam *et al*., 2016). بسیاری از اجزای فعال سیاه‌دانه از جمله دیتیموکینون، تیموکینون، نیگلون، تیموهیدروکینون، نیگیلین، ملانتین، نیگلامین، داماسکنون، پینن و پی‌سیمن شناسایی شده است. تجزیه شیمیایی تقریبی سیاه‌دانه نشان می‌دهد که حاوی ۸/۵-۵/۲ درصد رطوبت، ۲۶/۷-۲۰ درصد پروتئین، ۳۸/۷۲-۳۴/۴۹ درصد چربی خام، ۴/۸۶-۳/۷۷ درصد خاکستر و ۳۷/۸۰-۳۳/۲۰ درصد کربوهیدرات است. همچنین، سیاه‌دانه حاوی مواد معدنی مانند کلسیم، منیزیم، پتاسیم، آهن، فسفر، کبالت، روی و منگنز و ویتامین‌های A، B، C، D و E است. علاوه بر این، سیاه‌دانه سرشار از روغن‌های پایدار و ضروری، پروتئین‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌ها است. سیاه‌دانه دارای خواص ضدالتهابی، ضددرد، ضدکرم، کاهنده کلسترول، محرک اشتها، ضد اسهال، ادرارآور، ضدزخم، گشادکننده برونش، ضد میکروبی، ضد فشار خون، ضد دیابت، ضد سرطان و محافظ کبد و کلیه است (Talha *et al*., 2010; Adam *et al*., 2016; Yavari *et al*., 2022).

ترکیبات دیگری از جمله صمغ، قندها، ساپونین، مواد آلبومینوییدی و آلکالوییدها نیز در سیاه‌دانه مشاهده شده است. علاوه بر این، گزارش شده است که روغن سیاه‌دانه حاوی اسیدهای چرب پالمیتیک، لینولئیک و اولئیک، کارواکرول، تیموکوئینون، تیمول، ترپینول و ترانس آنیتول است. سایر مواد موجود در سیاه‌دانه شامل ساپونین، اسیدهای‌آمینه لیزین و متیونین، استرول‌های گیاهی، نیاسین، پیریدوکسین و اسیدفولیک است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیاه‌دانه عمدتاً به‌واسطه ترکیبات آلکالوییدی و فنولیک و روغن‌های ضروری از جمله تیمول، کارواکرول، تیموکوئینون، ترانس آنیتول و ۴- ترپینولنیز است (Ziaee *et al*., 2012).

خواص سودمند سیاه‌دانه در کاهش اکسیداسیون چربی مواد غذایی نیز گزارش شده است (Burtis and Bucar, 2000). همچنین، مشخص شده است که سیاه‌دانه، اکسیداسیون لیپید را کاهش داده و از راه افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز، موجب افزایش توان می‌شود (Kanter *et al*., 2005; Sogut *et al*., 2008). تیموکینون و سایر اجزا از جمله کارواکرول، آنتول و ۴- ترپینئول از مسیر پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد مختلف (مانند پراکسیداسیون لیپیدی میکروزومی وابسته به آهن، رادیکال ۲،۲ دی فنیل P پیکریل هیدرازیل و رادیکال هیدروکسیل)، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی قوی دارند (Badary *et al*., 2003). مطالعه دیگری نشان داد که سطح بالای غلظت تیموکینون در سیاه‌دانه باعث کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید شده و پراکسیداسیون لیپیدی در لیپوزوم‌ها را مهار می‌کند

Houghton *et al*., 1995; Mahmoud and Mansour, 2000). بنابراین، تحقیق حاضر با توجه به آثار مثبت گزارش شده از سیاه‌دانه و همچنین، با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی در مورد تاثیر سیاه‌دانه بر عملکرد و وضعیت آنتی-اکسیدانی، التهابی و بیوشیمیایی در جوجه‌های گوشتی درگیر با تنش اکسیداتیو صورت نگرفته است، انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق، تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه نر یک‌روزه گوشتی سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزنی ۲±۴۲ گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی به چهار تیمار آزمایشی، پنج تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار (واحد آزمایشی)، اختصاص داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) تیمار شاهد (بدون افزودنی)، تیمارهای ۲، ۳ و ۴ به‌ترتیب جیره پایه به‌علاوه سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد پودر سیاه‌دانه در خوراک بودند. جیره‌های غذایی بر اساس میزان احتیاجات توصیه شده (NRC, 1994) و با استفاده از نرم‌افزار UFFDA متوازن شدند (جدول ۱). سیاه‌دانه از منطقه گرگان تهیه و تجزیه تقریبی شد (جدول ۲). بعد از آسیاب مقادیر لازم سیاه دانه، جیره‌های آزمایشی تهیه و توزین شدند و برای جلوگیری از فساد، در پلاستیک‌های سیاه رنگ بسته‌بندی و تا زمان استفاده در محل‌های خشک و تمیز نگهداری شدند.

جوجه‌های گوشتی در هر واحد آزمایشی روی بستری از پوشال در قفس زمینی به طول ۱/۲، عرض ۰/۶ و ارتفاع یک متر به‌مدت ۴۲ روز پرورش داده شدند. در سه روز ابتدایی پرورش، از آبخوری کله قندی و بعد از آن تا پایان دوره از آبخوری نیپل استفاده شد. برای هر قفس به‌طور جداگانه یک مخزن آب دربسته ۱۰ لیتری مدرج تعبیه شد.

جدول ۱- اجزا و ترکیب جیره‌های غذایی پایه

Table 1. The ingredients and composition of the basal diets

Item	Starter (0-10 d)	Grower (11-24 d)	Finisher (25-42 d)
Ingredients (%)			
Corn, 8% CP	47.53	51.63	57.35
Soybean meal, 44%CP	42.35	37.99	32.35
Soybean oil,	5.54	6.24	6.29
Limestone,	1.20	1.12	1.05
Di-calcium phosphate	1.79	1.56	1.34
Vitamin premix[1]	0.25	0.25	0.25
Mineral premix[2]	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, %	0.96	0.87	0.79
Available phosphorus, %	0.456	0.409	0.361
Sodium, %	0.16	0.16	0.16
Potassium, %	0.98	0.87	0.80
Chlorine, %	0.35	0.29	0.31
Methionine, %	0.71	0.64	0.58
Cysteine+Methionine	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

[1] Vitamin concentrations per kilogram of diet: retinol, 13.50 mg; cholecalciferol, 4.15 mg; tocopherol acetate, 32.00 mg; vitamin K_3, 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.

[2] 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), 40 mg; Zn (from zinc sulphate), 35 mg; I (from calcium iodate), 0.6 mg; Se (from sodium selenite), 0.3 mg.

جدول ۲- تجزیه تقریبی بذر سیاه‌دانه

Table 2. Approximate analysis of black seed

Ingredients	(%)
Moisture	5.3
Dry matter	94.7
Crude protein	24.5
Crude fat	34.1
Ash	5.2
Crude fiber	8.3

پرندگان در طول تحقیق دارای دسترسی آزاد به آب و خوراک بودند. برای القای تنش اکسیداتیو، از روز ۱۴ تا ۴۲ پرورش، آب حاوی یک درصد پرکسید هیدروژن در اختیار پرندگان قرار گرفت (Taha *et al*., 2020). مقدار خوراک مصرفی و وزن بدن پرندگان در هر واحد آزمایشی در سن ۴۲ روزگی اندازه‌گیریشده و شاخص‌های عملکرد (خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل) برای سن یک تا ۴۲ روزگی محاسبه شدند. تلفات نیز به محض مشاهده ثبت شد. در روز ۴۲ دوره پرورش از هر قفس دو جوجه به‌طور تصادفی انتخاب و بعد از سه ساعت گرسنگی، خون‌گیری از سیاهرگ بال انجام شد. تعدادی از نمونه‌های خونی در داخل سرنگ‌های حاوی ماده ضد انعقاد وارد شد و برای اندازه‌گیری شمارش گلبول قرمز، مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. تعدادی از نمونه‌های خون به لوله‌های آزمایش فاقد ماده ضد انعقادی وارد شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد و بعد از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه)، سرم جدا شده و بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا موقع اندازه‌گیری آزمایشات بعدی نگهداری شد. پرنده‌ها بعد از انجام خون‌گیری، کشتار شدند و از بافت کبد و طحال آنها نمونه‌برداری به‌عمل آمد. نمونه‌های بافت کبد و طحال بلافاصله در آب مقطر شستشو شدند و بعد از خشک کردن با پارچه تیترون تمیز، در پلاستیک‌های فریزر روشن گذاشته شده و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس منجمد شدند. میزان سطح سرمی فراسنجه‌های تری گلیسیرید و کلسترول با استفاده از کیت تشخیص کمّی شرکت پارس آزمون و با روش فتومتریک تعیین شد. سطح سرمی آنزیم‌های ALT، AST و ALP نیز با استفاده از کیت‌های تجاری پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر (RA 1000) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید، ابتدا پروتئین‌های نمونه با استفاده از محلول تری کلرواستیک اسید رسوب داده شده و با عمل سانتریفوژ جدا شدند. محلول صاف شده رویی با اسید تیوباربیتوریک در حرارت ۹۵ درجه سلسیوس و به مدت ۵۰ دقیقه واکنش داده شد. برای تعیین مالون‌دی‌آلدئید به روش تیوباربیتوریک اسید، مجموعه رنگی حاصل در طول موج ۵۳۲ نانومتر سنجش شد (Fathi *et al*., 2022). فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نیز با استفاده از خون تام حاوی ماده ضد انعقاد EDTA که با محلول درابکین رقیق شد، اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون و دستگاه اتوآنالایزر (RA 1000) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با دستگاه الایزا ریدر برند BIOTEK به‌وسیله کیت تجاری پارس آزمون سنجیده شد. سطح سرمی interleukin-10 (IL-10)، interleukin-6 (IL-6) و TNF-α: tumor necrosis factor- α به‌وسیله کیت‌های تجاری شرکت کریستال دی شانگهای چین و با روش الیزای ساندویچی کمّی اندازه‌گیری شد (Abd El-Wahab *et al*., 2019). داده‌های آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS 9.2 (SAS Institute, 2012) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی در سطح معنی‌داری پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تاثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر عملکرد رشد و تلفات جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که مکمل‌سازی سطوح ۱ و ۱/۵ درصد سیاه‌دانه بدون تاثیر بر خوراک مصرفی، سبب بهبود عملکرد رشد (افزایش وزن بدن و کاهش ضریب تبدیل خوراک) و کاهش تلفات شد ($P<۰/۰۱$). تاثیر منفی تنش اکسیداتیو بر عملکرد رشد و تلفات در جوجه‌های گوشتی قبلاً گزارش شده است (Nain *et al*., 2008; Fathi *et al*., 2022, 2023). حدس بر این است که مقادیر بالای ROS و رادیکال‌های آزاد نیتروژن (Reactive Nitrogen Species: RNS) می‌توانند اثر منفی بر تولید انرژی داشته و سبب کاهش وزن و افزایش ضریب تبدیل خوراک شوند (Nain *et al*., 2008).

جدول ۳- اثر سطوح مختلف پودر سیاه‌دانه بر عملکرد رشد و تلفات جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی

Table 3. Effect of different levels of black seed (*Nigella sativa*) powder on growth performance and mortality of broilers under induced oxidative stress

Treatments	FI (g)	BWG (g)	FCR	Mortality (%)
Control	4683	2543^{c}	1.84^{a}	0.16^{a}
0.5% N.S	4621	2740^{b}	1.66^{b}	0.12^{b}
1% N.S	4669	2830^{a}	1.65^{b}	0.06^{c}
1.5% N.S	4681	2890^{a}	1.62^{b}	0.04^{c}
SEM	93.02	45.82	0.02	0.02
P-value	0.47	0.01	0.00	0.00

$^{a-c}$ Mean values in the same column with different superscript letters are significantly different (P<0.05).
BWG: Body weight gain; FCR: Feed conversion ratio; FI: Feed intake; N.S: *Nigella Sativa*

تاثیر مثبت سیاه‌دانه بر افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل غذایی قبلاً به‌وسیله محققین زیادی گزارش شده است (Talha *et al*., 2010; Miraghaee *et al*., 2011; Ali *et al*., 2014; Ghasemi *et al*., 2014 Hossain *et al*., 2014; Talebi *et al*., 2021). سیاه‌دانه احتمالاً به علت دارا بودن اسیدهای چرب ضروری و ترکیبات فیتوژنیک با تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی لیپاز و آمیلاز در روده باریک و لوزالمعده منجر به بهبود گوارش‌پذیری مواد مغذی و در نهایت، بهبود راندمان غذایی می‌شود (Talha *et al*., 2010; Talebi *et al*., 2021). علاوه بر این تصور می‌شود سیاه‌دانه به‌واسطه دارا بودن ترکیبات آنتول، کارون، کارواکرول، تیموکینون و ۴-ترپینول دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و با حفاظت از پرزهای روده، باعث بهبود عملکرد هضم و جذب و کاهش تلفات در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Miraghaee *et al*., 2011; Ghasemi *et al*., 2014). برخی دیگر از محققین، افزایش ارتفاع پرزها و عمق کریپت‌های روده جوجه‌های گوشتی را با مکمل‌سازی سیاه‌دانه در جوجه‌های گوشتی گزارش کردند (Hossain *et al*., 2014; Ali *et al*., 2014).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA) سرم، بافت کبد و طحال به‌ترتیب در جداول ۴ تا ۶ نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن است که سیاه‌دانه در هر سه سطح استفاده شده در این آزمایش به‌طور معنی‌داری سبب افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی GPX و سطوح ۱ و ۱/۵ درصد سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم SOD در سرم شدند. همچنین، سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد سیاه‌دانه در مقایسه با تیمار شاهد، سطح MDA سرم را به‌طور قابل توجهی کاهش داد (P< ۰/۰۱) (جدول ۴). نتایج نشان داد تیمارهای سطوح ۱ و ۱/۵ درصد سیاه‌دانه دارای بیشترین سطح فعالیت GPX و سطح ۱/۵ درصد سیاه‌دانه دارای کمترین سطح MDA کبدی بود (P<۰/۰۵). هر سه سطح سیاه‌دانه سبب افزایش فعالیت آنزیم SOD و سطح ۱/۵ درصد سیاه‌دانه به‌طور قابل توجهی سبب افزایش فعالیت CAT در کبد شد (P<۰/۰۱) (جدول ۵).

جدول ۴- اثر سطوح مختلف پودر سیاه‌دانه بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی

Table 4. Effect of different levels of black seed (*Nigella sativa*) powder on antioxidant capacity in serum of broilers under induced oxidative stress

Treatments	GPX (Mu/mL)	SOD (U/mL)	CAT (nmol/min/mL)	MDA (nmol/mL)
Control	465.60^{c}	254.15^{c}	65.98	19.73^{a}
0.5% N.S	499.34^{c}	236.98^{b}	66.23	17.19^{b}
1% N.S	744.10^{b}	260.44^{a}	66.80	17.39^{b}
1.5% N.S	1134.41^{a}	269.31^{a}	70.03	17.45^{b}
SEM	88.10	4.72	1.14	0.32
P-value	< 0.01	< 0.01	0.18	< 0.01

$^{a-c}$ Mean values in the same column with different superscript letters are significantly different (P<0.05).
N.S: *Nigella sativa*; GPX: Glutathione peroxidase; SOD: Superoxide dismutase; CA: Catalase; MDA: Malondialdehyde

جدول ۵- اثر سطوح مختلف پودر سیاه‌دانه بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کبد جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی

Table 5. Effect of different levels of black seed (*Nigella sativa*) powder on antioxidant capacity in liver of broilers under induced oxidative stress

Treatments	GPX (Mu/mL)	SOD (U/mL)	CAT (nmol/min/mL)	MDA (nmol/mL)
Control	853[c]	187.94[c]	73.55[c]	18.27[a]
0.5% N.S	1775.67[b]	192.36[b]	89.75[b]	16.15[b]
1% N.S	1538.91[b]	198.51[b]	88.65[b]	16.57[b]
1.5% N.S	2431.76[a]	211.33[a]	92.48[a]	16.15[b]
SEM	194.89	3.94	2.29	0.26
P-value	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

[a- c] Mean values in the same column with different superscript letters are significantly different ($P<0.05$).
N.S: *Nigella sativa*; GPX: Glutathione peroxidase; SOD: Superoxide dismutase; CA: Catalase; MDA: Malondialdehyde

نتایج تأثیر سطوح مختلف سیاه‌دانه بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی در بافت طحال در ۱ درصد سیاه دانه به طور قابل توجهی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های GPX، SOD و سطح ۱ درصد سبب کاهش معنی‌دار سطح MDA در بافت طحال گردید و همچنین سطح ۱/۵ درصد باعث افزایش فعالیت کاتالاز شد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۶).

در تحقیقی نشان داده شد که ترکیبات فنولی موجود در سیاه‌دانه از جمله تیمول و کارواکرول دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند و سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن را فعال می‌کنند (Luna *et al.*, 2010). در گزارش دیگری، استفاده از سطوح یک و دو درصد سیاه‌دانه سبب کاهش معنی‌دار سطح MDA در بافت سینه شده است (Mahbubur Rahman and Shang, 2016). همچنین، در پژوهشی نشان داده شد که تجویز تیموکینون استخراج شده از سیاه‌دانه (۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی) در موش باعث کاهش قابل ملاحظه سطح MDA کبد شد و این محققین سطح ۱۲/۵ میلی‌گرم تیموکینون را به‌عنوان بهترین سطح مناسب آنتی‌اکسیدان در موش‌ها پیشنهاد کردند (Mansour *et al.*, 2001). احتمالاً ترکیبات تیموکینون و کارواکرول موجود در سیاه‌دانه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد هستند (Burits and Bucar, 2000). همچنین، ثابت شده است که سیاه‌دانه، اکسیداسیون لیپید را کاهشداده و از راه افزایش فعالیت گلوتاتیون‌پراکسیداز باعث افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Kanter *et al.*, 2005; Sogut *et al.*, 2008). سیاه‌دانه و تیموکینون موجود در آن از منابع طبیعی و بدون عوارض آنتی‌اکسیدان هستند (Badary *et al.*, 1998). علاوه بر این، مشاهده شد که تجویز H_2O_2 در موش‌های آزمایشگاهی از راه افرایش تولید رادیکال‌های آزاد سبب افزایش سطح پلاسمایی MDA شد (Inal me Kanbak *et al.*, 2001).

جدول ۶- اثر سطوح مختلف پودر سیاه‌دانه بر ظرفیت آنتی اکسیدانی طحال جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی

Table 6. Effect of different levels of black seed (*Nigella sativa*) powder on antioxidant capacity in spleen of broilers under induced oxidative stress

Treatments	GPX (Mu/mL)	SOD (U/mL)	CAT (nmol/min/mL)	MDA (nmol/mL)
Control	1120.72[c]	188.10[b]	52.83[b]	16.64
0.5% N.S	1506.14[b]	180.84[b]	53.75[b]	16.41
1% N.S	1424.30[b]	174.17[b]	54.43[b]	16.28
1.5% N.S	2211.81[a]	201.60[a]	58.61[a]	16.25
SEM	153.69	4.13	0.87	0.09
P-value	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.29

[a- c] Mean values in the same column with different superscript letters are significantly different ($P<0.05$).
N.S: *Nigella sativa*; GPX: Glutathione peroxidase; SOD: Superoxide dismutase; CAT: Catalase; MDA: Malondialdehyde

سطح سیتوکین‌های سرم جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی تغذیه شده با سطوح مختلف سیاه‌دانه در جدول ۷ نشان داده شده است. نتایج نشان داد سطوح ۱و ۱/۵ درصد سیاه‌دانه به‌طور قابل توجهی سبب افزایش IL-10 و کاهش معنی‌دار سطح TNF-α و IL-6 سرم جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی با پراکسید هیدروژن شد ($P<۰/۰۵$). تنش اکسیداتیو و پاسخ التهاب، ارتباط نزدیکی با هم دارند. در مطالعات قبلی گزارش شده است که تنش اکسیداتیو می‌تواند سبب ایجاد پاسخ التهابی (افزایش سیتوکین‌های التهابی TNF-α و اینترلوکین، ۶ IL-6) در جوجه های گوشتی شود (Song *et al.*, 2017). فعالیت زیستی سیاه‌دانه می‌تواند با وجود ترکیبات فنولی (کامپفرول، پی کوماریک اسید و کوئرستین) در آن که خواص ضد التهابی قوی و خاصیت تعدیل‌کننده ایمنی در بدن دارد، مرتبط باشد (Farhana, 2021; Gupta *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2017). ترکیبات فنولی موجود در سیاه‌دانه می‌توانند به‌طور شگفت‌انگیزی از راه تنظیم ساخت واسطه‌های التهابی خواص ضد التهابی از خود نشان دهد (Rathee *et al.*, 2009; Rahman *et al.*, 2021). سیتوکین‌های پیش‌التهابی شامل TNF-α و IL-6 در صورت برخورد با عوامل بیماری‌زا و تنش به سرعت تولید می‌شوند و بالعکس، در صورت رفع این عوامل، کاهش پیدا می‌کنند (Opeyemi *et al.*, 2022). بنابراین، کاهش این نشانگرهای پیش التهابی در اثر مصرف سیاه‌دانه را می‌توان به آثار مثبت سیاه‌دانه در رفع و مهار تنش مرتبط دانست.

نتایج تغییرات هماتولوژی (شمار گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، میزان هموگلوبین، درصد هتروفیل و لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت) حاصل از سطوح مختلف سیاه دانه در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی در جدول ۸ نشان داده شده است. نتایج نشان داد سطح ۱/۵ درصد سیاه‌دانه در مقایسه با گروه شاهد، بدون تاثیر بر شمار گلبول قرمز، درصد هماتوکریت و مقدار هموگلوبین سبب افزایش معنی‌دار درصد گلبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها و کاهش درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جوجه‌های گوشتی شد ($P<۰/۰۵$).

گزارش شده است که تنش سرمایی و اکسیداتیو سبب افزایش تعداد کل گلبول‌های سفید و هتروفیل‌های خون جوجه‌های گوشتی شده است (Luger *et al.*, 2003; Olkowski *et al.*, 2005; Druyan *et al.*, 2009). اسانس سیاه‌دانه در موش باعث افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون شد (Zaoui *et al.*, 2002). آثار مطلوب سیاه‌دانه بر هماتولوژی می‌تواند به علت وجود مواد فعال، بخصوص تیموکینون و تیموهیدوکینون، با خواص آنتی‌اکسیدان قوی باشد. با افزودن سیاه‌دانه به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، نسبت هتروفیل به لنفوسیت کاهش یافت (Pish Jang, 2012).

نتایج تأثیر سطوح مختلف پودر سیاه‌دانه بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم شامل سطح آنزیم‌های AST، ALT و ALP و همچنین سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی در جدول ۹ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که مکمل‌سازی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی با سطح ۰/۵ درصد سیاه‌دانه به‌طور قابل توجهی سبب کاهش سطح سرمی آنزیم‌های ALT، AST و ALP و همچنین، سطح ۱/۵ درصد سبب کاهش قابل توجه فراسنجه‌های لیپیدی شامل تری گلیسیرید و کلسترول سرم شد. در پرندگان زیر تنش، مقدار زیادی رادیکال‌های آزاد ROS تولید می‌شود که سبب پراکسیداسیون لیپیدهای موجود در غشای سلول‌ها شده و آسیب‌های جدی به اندام‌های درگیر وارد خواهند کرد. با توجه به اینکه بافت کبد می‌تواند در جریان تنش اکسیداتیو درگیر باشد، بنابراین، احتمالاً مقادیر بالای آنزیم AST و ALT در سرم مربوط به تخریب هپاتوسیت‌ها ناشی از رادیکال‌های آزاد است، به‌طوری که با بالا رفتن ظرفیت آنتی اکسیدانی، میزان این آنزیم‌ها نیز کاهش پیدا می‌کند (Arab *et al.*, 2006).

Talebi *et al.* (2021) گزارش کردند تجویز ۱۶ درصد سیاه‌دانه به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی به‌طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش سطح سرمی آنزیم‌های ALP، AST و ALT شد. همچنین، سطح سرمی شاخص‌های چربی شامل تری‌گلیسیرید، کلسترول و LDL با مکمل‌سازی سیاه‌دانه به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت (Pourbakhsh *et al.*, 2014; Al-Saleh *et al.*, 2018).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیموکینون احتمالاً نقش مهمی در اثربخشی محافظت سیاه‌دانه بر کبد دارد (Yildiz *et al.*, 2008). همسو با نتایج این تحقیق، تجویز سیاه‌دانه در موش‌ها به‌طور معنی‌داری سبب کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های ALP و AST شد (Al-Saleh *et al.*, 2014). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز و

گلوتاتیون‌پراکسیداز در بافت‌های مختلف جوندگان مصرف‌کننده سیاه‌دانه یا مشتقات آن نسبت به گروه شاهد بیشتر گزارش شده است (Mahmoud *et al*., 2000). استفاده از سیاه‌دانه در جوجه‌های گوشتی سبب افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدها شد (Tuluce, 2009).

جدول ۷- اثر سطوح مختلف پودر سیاه‌دانه بر سیتوکین‌های سرم جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی

Table 7. Effect of different levels of black seed (*Nigella sativa*) powder on serum cytokines of broilers under induced oxidative stress

Parameters	Treatments				SEM	*P*-value
	Control	0.5% N.S	1% N.S	1.5% N.S		
IL-10 (ug/mL)	15.97[b]	16.53[b]	18.65[a]	19.80[a]	0.80	< 0.01
IL-6 (ug/mL)	17.07[a]	15.10[b]	13.95[c]	10.85[d]	0.96	< 0.01
TNF-α (ug/mL)	18.28[a]	17.40[a]	14.90[b]	12.25[c]	0.95	< 0.01

[a-c] Mean values in the same column with different superscript letters are significantly different (P<0.05). N.S: *Nigella sativa*; IL-10: Interleukin-10; IL-6: Interleukin-6; TNF-α: Tumor necrosis factor- α

جدول ۸ - اثر سطوح مختلف پودر سیاه‌دانه بر فراسنجه‌های هماتولوژی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی

Table 8. Effect of different levels of black seed (*Nigella sativa*) powder on hematological parameters of broilers under induced oxidative stress

Treatments	WBC ($\times10^3$/µL)	RBC ($\times10^6$/µL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	Hetro (%)	Lympho (%)	H/L (%)
Control	18.75[b]	2.62	12.45	33.00	33.75 [a]	60.18[c]	0.55[a]
0.5% N.S	18.45[b]	2.29	11.40	29.15	20.96[b]	72.82[b]	0.29[b]
1% N.S	18.75[b]	2.64	13.00	32.25	20.65[b]	70.37[b]	0.31[b]
1.5% N.S	19.35[a]	2.96	15.05	37.15	18.31[b]	79.73[a]	0.29[b]
SEM	1.76	0.11	1.54	3.23	3.50	6.40	0.03
P-value	< 0.01	0.39	0.25	0.11	< 0.01	< 0.01	< 0.01

[a-c] Mean values in the same column with different superscript letters are significantly different (P<0.05). N.S: *Nigella sativa*; WBC: White blood cell; RBC: Red blood cell; Hetro: Heterophile; Lympho: Lymphocyte; H/L: Heterophile/ lymphocyte.

جدول ۹- اثر سطوح مختلف پودر سیاه‌دانه بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش اکسیداتیو القایی

Table 9. Effect of different levels of black seed (*Nigella sativa*) powder on biochemical parameters of broilers under induced oxidative stress

Treatments	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (IU/L)	TG (mg/dL)	Cho (mg/dL)
Control	39.87[a]	174.68[a]	296.49[a]	107.32[a]	505.35[a]
0.5% N.S	20.25[c]	123.63[b]	222.84[b]	117.36[a]	455.36[b]
1% N.S	28.57[b]	167.2[a]	257.60[a]	108.46[a]	498.21[b]
1.5% N.S	36.89[a]	164.85[a]	293.20[a]	84.06[b]	357.13[c]
SEM	5.39	14.38	16.06	11.06	25.31
P-value	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

[a-c] Mean values in the same column with different superscript letters are significantly different (P<0.05).
N.S: *Nigella sativa*; AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; ALP: Alkaline phosphatase; TG: Triglyceride; Cho: Cholesterol.

گزارشات متعددی از سطوح بالای کلسترول و تری گلیسیرید در پرندگان زیر شرایط تنش موجود است (Luger *et al*., 2003; Arab *et al*., 2006; Daneshyar *et al*., 2009). نتایج این تحقیق نشان داد سطوح تری گلیسیرید و کلسترول سرم در جوجه‌های گوشتی به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر سطوح مختلف سیاه‌دانه کاهش یافت. Sohail *et al*. (2012) گزارش کردند مکمل‌سازی سیاه‌دانه در سطوح ۲ و ۵ درصد در جیره غذایی جوجه‌های

گوشتی باعث کاهش سطح تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم sa. محققین پیشنهاد دادند سیاه‌دانه به‌طور مستقیم از راه تأثیر بر آنزیم HMG-CoA ردوکتاز که یک آنزیم مهم در بیوسنتز کلسترول است باعث کاهش بیوسنتز کلسترول می‌شود. علاوه بر این پیشنهاد دادند که سیاه‌دانه به‌واسطه داشتن مقادیر بالای استرول‌ها، به‌خصوص ماده بتا سیتوسترول، به‌طور مستقیم مانع از جذب کلسترول در روده می‌شود (Sohail *et al*., 2012).

Al-beitawi and El-Ghousein (2008) نیز گزارش کردند که مکمل‌سازی سیاه‌دانه به میزان دو درصد در جیره جوجه‌های گوشتی به‌طور قابل ملاحظه‌ای سبب کاهش کلسترول سرم شد. Zargari (2001) پیشنهاد داد کاهش کلسترول و تری گلیسرید سرم در جوجه‌های گوشتی مصرف‌کننده سیاه‌دانه به‌واسطه ترکیبات تیمول و کارواکرول است. علاوه بر این، اسیدهای چرب غیراشباع موجود در سیاه‌دانه باعث افزایش دفع روده‌ای کلسترول و هدایت آن به مسیر اکسایش به اسیدهای صفراوی می‌شود. همچنین، گزارش شده است که اسیدهای چرب غیراشباع باعث ممانعت از ساخت کلسترول شده و سبب افزایش تولید اسیدهای صفراوی از کلسترول می‌شوند (Beynen *et al*., 1987; Hassan *et al*., 2004). وجود ترکیبات فعال مانند تیموکوئینون در بذر سیاه‌دانه سبب کاهش تری گلیسرید خون می‌شود (Al-Saleh *et al*., 2006). Al-Beitawi *et al*. (2009) نیز خواص کاهندگی کلسترول و تری‌گلیسیرید سرم به‌واسطه مصرف سیاه‌دانه در جوجه-های گوشتی را به ترکیبات فیتواسترول، تیموکینون و اسیدهای چرب غیراشباع موجود در سیاه‌دانه نسبت دادند، به‌طوری که این ترکیبات بر تولید کلسترول به‌وسیله سلول-های کبدی یا بازجذب از روده کوچک تأثیرگذار هستند. همچنین، باور بر این است که فیتواسترول‌ها، جذب کلسترول را مهار و امکان دارد با بازجذب کلسترول درون‌زا تداخل داشته باشد. کاهش سطح کلسترول سرم و تحریک دفع اسید صفراوی به‌واسطه مصرف سیاه‌دانه به‌وسیله پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است (Al- Saleh, 2014; Azeem *et al*., 2014).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این آزمایش، به نظر می‌رسد مکمل جیره‌ای پودر سیاه‌دانه از راه آثار آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می-تواند سبب بهبود عملکرد رشد و کاهش تلفات در جوجه-های گوشتی در شرایط تنش اکسیدتیو شود. در نتیجه، استفاده از سطح ۱۵ گرم پودر سیاه‌دانه در کیلوگرم خوراک، به‌عنوان مکمل آنتی اکسیدانی و ضد التهابی، پیشنهاد می-شود.

فهرست منابع

Abd El-Wahab, A., Mahmoud, R.E., Ahmed, M. F., & Salama, M. F. (2019). Effect of dietary supplementation of calcium butyrate on growth performance, carcass traits, intestinal health and pro-inflammatory cytokines in Japanese quails. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *103*(6), 1768-75. doi: 10.1111/jpn.13172

Acaroz, U., Ince, S., Arslan-Acaroz, D., Gurler, Z., Demirel, H. H., Kucukkurt, I., & Zhu, K. (2019). Bisphenol-A induced oxidative stress, inflammatory gene expression, and metabolic and histopathological changes in male Wistar albino rats: protective role of boron. *Toxicology Research*, *8*(2), 262-269. doi: 10.1039/c8tx00312b

Adam, G. O., Rahman, M. M., Kim, G. B., Kang, H. S., Kim, J. S., & Kim, S. J. (2016). Hepatoprotective effects of Nigella sativa seed extract against acetaminophen-induced oxidative stress. *Asian Pacific Journal of Tropical Medecine*, *9*(3), 221-227. doi:10.1016/j. apjtm.2016.01.039

Al-Beitawi, N. A., El-Ghousein, S. S., & Nofalm, A. H. (2009). Replacing bacitracin methylene disalicylate by crushed Nigella sativa seeds in broiler rations and its effects on growth, blood constituents and immunity. *Livestock Science*, *125*(2), 304-307. doi: 10.1016/j.livsci.2009.03.012

Al-beitawi, N. A., Nafez., & El-Ghousein, S. S. (2008). Effect of feeding different levels of *Nigella sativa* seeds (black cumin) on performance, blood constituents and carcass characteristics of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, *7*(7), 715-721. doi:10.3923/ijps.2008.715.721

Ali, S., Mukhtar, M., & Manzoor, S. (2014). Effect of garlic, black seed and turmeric on the growth of broiler chicken. *Pakistan Journal of Nutrition*, *4*(13), 204-210. doi: 10.3923/pjn.2014.204.210

Al-Saleh, A. (2014). Nigella seed oil as alternative to avilamycin antibiotic in broiler chicken diets. *South African Journal of Animal Science*, *44*(3), 254-261. doi: 10.4314/sajas.v44i3.7

Al-Saleh, I., Billedo, A. G., & Inam, I. E. (2006). Level of selenium, DL-α-tocopgerol, DL-γ-tocopherol, all-Trans- retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *Journal of Food Composition and Analyses, 9*(2-3), 175-197.

Arab, H. A., Jamshidi, R., Rassouli, A., Shams, G., & Hassanzadeh, M. H. (2006). Generation of hydroxyl radicals during ascites experimentally. *British Poultry Science*, *47*(2), 216-222. doi: 10.1080/00071660600611102

Azeem, T., Rehman, Z. U., Umar, S., Asif, M., Arif, M., & Rahman A. (2014). Effect of *Nigella sativa* on poultry health and production: a review. *Scientific Letter*, 2, 76-82.

Badary, O. A., Al-Shabanah, O., A., Nagi M. N., Al-Bekairi A. M., & El -Mazar M. M. (1998). Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice. *Drug Development Research*, *44*, 56-61. doi: 10.1002/ (SICI) 1098-2299(199806/07)44:2/3%3C56

Badary, O. A., Taha, R. A., Gamal, el-Din, A. M., & Abdel-Wahab, M. H. (2003). Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug and Chemical Toxicology*, *26*, 87-98. doi: 10.1081/dct-120020404

Beynen, A. C., Katan, M. B., & Van Zutphen, L. F. M. (1987). Hypo- and hyperresponders: individual differences in the response of serum cholesterol concentration to changes in diet. *Advances in Lipid Research*, *22*, 115-171. doi: 10.1016/b978-0-12-024922-0.50008-4

Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. *Phytotherapy Research*, *14*, 323-328. doi:10.1002/1099- 573(200008)

Daneshyar, M., Kermanshahi, H., & Golian, A. G. (2009). Changes of biochemical parameters and enzyme activities in broiler chickens with cold-induced ascites. *Poultry Science*, *88*, 106-110. doi: 10.3382/ps.2008-00170

Druyan, S., Shinder, D., Shlosberg, A., Cahaner, A., & Yahav, S. (2009). Physiological parameters in broiler lines divergently selected for the incidence of ascites. *Poultry Science*, *88*, 1984-1990. doi: 10.3382/ps.2009-00116

Farhana, N. (2021). Meticulous endorsement of black seed and jambolana: A scientific review. R. S. Ahmad (Ed.), In: *Herbs and Spices– New Processing Technologies*. doi: 10.5772/intechopen.99225

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., Saeedyan, S., & Kaoosim, M. (2023). Gamma-amino butyric acid (GABA) supplementation alleviates dexamethasone treatment-induced oxidative stress and inflammation response in broiler chickens. *Stress*, *26*(1), 2185861 doi:10.1080/10253890.2023.2185861

Ghasemi, H. A., Kasani, N., & Taherpour, K. (2014). Effects of black cumin seed (Nigella sativa L.), a probiotic, a prebiotic and a synbiotic on growth performance, immune response and blood characteristics of male broilers. *Livestock Science*, *164*, 128-134. doi: 10.1016/j.livsci.2014.03.014

Gupta, G., Iqbal, M. S., Pandey, B., & Srivastava, J. K. (2021). Differential expression of thymoquinone and its localization in different parts of *Nigella sativa* L. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, *91*(1), 13-19. doi: 10.1007/s40011-020-01190-2

Hassan, I. I., Askar, A. A., & EL Shourbagy, G. A. (2004). Influence of some medicinal plant on performance, physiological and meat quality traits of broiler chicks. *Egyptian Poultry Science*, *24*, 247-266.

Hossain, M. M., Howlader, A. J., Islam, M. N., & Beg. M. A. (2014). Evaluation of locally available herbs and spices on physical, biochemical and economical parameters on broiler production. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, *4*(1), 317-322.

Houghton, P. J., Zarka, R., de las Heras, B., & Hoult J. R. (1995). Fixed oil of Nigella sativa and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med*ecine, *61*, 33-36. doi: 10.1055/s-2006-957994

Inal me Kanbak, G., & Suna, E. (2001). Antioxidant enzymes activities and malonaldehyde levels related to aging. *Clinica Chimica Acta*, *305*, 75-80. doi:10.1016/s0009-8981(00)00422-8

Jaganjac, M., Milkovic, L., Zarkovic, N., & Zarkovic, K. (2022). Oxidative stress and regeneration. *Free Radical Biology and Medicine*, *181*, 154-165. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.02.004

Jiang, F., Gao, Y., Dong, C., & Xiong, S. (2018). ODC1 inhibits the inflammatory response and ROS-induced apoptosis in macrophages. *Biochem Biophys Research Communication*, *504*(4), 734-741. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.09.023

Kanter, M., Coskun, O., & Budancamanak, M. (2005). Hepatoprotective effects of Nigella sativa L. and Urtica dioica L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World Journal of Gastroenterology*. *11*, 6684-6688. doi: 10.3748%2Fwjg.v11.i42.6684

Luger, D., Shinder, D. Wolfenson, D., & Yahav, S. (2003). chickens: A possible role of corticosterone Erythropoiesis regulation during the development of ascites syndrome. *Journal of Animal Science*, *81*, 784-790. doi: 10.2527/2003.813784x

Luna, A., Labaque, M. C., Zygadlo, J. A., & Marin, R. H. (2010). Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Poultry Science*, *89*, 366-370. doi: 10.3382/ps.2009-00130

Mahbubur Rahman, M. D., & Kim, S. J. (2016). Effects of dietary *Nigella sativa* seed supplementation on broiler productive performance, oxidative status and qualitative characteristics of thighs meat. *Italian Journal of Animal Science, 16*(2), 241-247. doi: 10.1080/1828051X.2016.1159925

Mahmoud, N. N., & Mansour, A. M. (2000). Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: A possible mechanism of protection. *Pharmacological Res*earch, *41*, 283-289. doi: 10.1006/phrs.0585

Mansour, M. A., Ginawi, O. T., El-Hadiyah, T., El-Khatib, A. S., Al-Shabanah, O. A., & Al-Sawaf, H. A. (2001). Effects of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effects of thymoquinone. *Research Communications in Molecular Pathology* and *Pharmacology,110*, 239-251.

Miraghaee, S. S., Heidary, B., Almasi, H., Shabani, A., Elahi, M., & Modaber, M. H. (2011). Effects of *Nigella sativa* powder (black seed) and *Echinacea purpurea* (L.) Moench extract on performance, some blood biochemical and hematological parameters in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, *10*(82) 19249-19254. doi: 10.5897/AJB11.2891

Nain, S., Ling, B. B., Wojnarowicz, C., Laarveld, B., Alcorn, J., & Olkowski, A. A. (2008). Biochemical factors limiting myocardial energy in a chicken genotype selected for rapid growth. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, *149*(1), 36-43. doi: 10.1016/j.cbpa.2007.10.001

Nemati, M. H., Shahir, M. H. I., Harakinezhad, M. T. I., & Lotfalhian, H. I. (2017). Cold-Induced Ascites in Broilers: Effects of Vitamin C and Coenzyme Q10. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *9*(3), 537-544. doi: 10.1590/1806-9061-2017-0463

Olkowski, A. A., Duke, T., & Wojnarowicz, C. (2005). The aetiology of hypoxaemia in chickens selected for rapid growth. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A*, *141*, 122-131. doi: 10.1016/j.cbpb.2005.04.011

Opeyemi, O., Ganiyu, O., Ayokunle, O., & Ademosun, O. (2022). Effect of black seeds (Nigella sativa) on inflammatory and immunomodulatory markers in Plasmodium berghei-infected mice. *Journal of Food Biochemestry*, *00*, e14300. doi: 10.1111/jfbc.14300

Ornatowski, W., Lu, Q., Yegambaram, M., Garcia, A. E., Zemskov, E. A., Maltepe, E., Fineman, J. R., Wang, T., & Black, S. M. (2020). Complex interplay between autophagy and oxidative stress in the development of pulmonary disease. *Redox Biology*, *36*, 101679. doi: 10.1016/j.redox.2020.101679

Pish Jang, J. (2012). The evaluation of different levels of *Nigella sativa* seed on performance and blood parameters of broilers. *Annuls of Biological Research*, *2*(5), 567-572.

Pourbakhsh, H., Taghiabadi, E., Abnous, K., Hariri, A. T., Hosseini, S. M., & Hosseinzadeh, H. (2014). Effect of *Nigella sativa* fixed oil on ethanol toxicity in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *17*(12), 1020-1031.

Rahman, M. M., Rahaman, M. S., Islam, M. R., Rahman, F., Mithi, F. M., Alqahtani, T., Almikhlafi, M. A., Alghamdi, S. Q., Alruwaili, A. S., Hossain, M. S., Ahmed, M., Das, R., Emran, T. B., & Uddin, M. S. (2021). Role of phenolic compounds in human disease: Current knowledge and future prospects. *Molecules*, *27*(1), 233. doi: 10.3390%2Fmolecules27010233

Ramazani, N., Mahd Gharebagh, F., Soleimanzadeh, A., Arslan, H. O., Keles, E., Gradinarska-Yanakieva, D. G., & Dinç, D. A. (2023). The influence of L-proline and fulvic acid on oxidative stress and semen quality of buffalo bull semen following cryopreservation. *Veterinary Medicine and Science*, *9*(4), 1791-1802. doi: 10.1002/vms3.1158

Rathee, P., Chaudhary, H., Rathee, S., Rathee, D., Kumar, V., & Kohli, K. (2009). Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: A review. *Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy) (Discontinued*), *8*(3), 229-235. doi: 10.2174/187152809788681029

Saleh, A. A., Ebeid, T. A., & Abudabos, A. M. (2018). Effect of dietary phytogenics (herbal mixture) supplementation on growth performance, nutrient utilization, antioxidative 12 Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine properties, and immune response in broilers. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(15), 14606-14613. doi: 10.1007/s11356-018-1685-z

Sogut, B., Celik, I., & Tuluce, Y. (2008). The effects of diet supplemented with black cumin (*Nigella sativa* L.) upon immune potential and antioxidant marker enzymes and lipid peroxidation in broiler chicks. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, *7*, 1196-1199.

Sohail, H. K., Ansari, J., Haq, A.U., & Ghulam, A. (2012). Black cumin seeds as phytogenic product in broiler diets and its effects on performance, blood constituents, immunity and caecal microbial population. *Italian Journal of Animal Science*, *11*, e77. doi: 10.4081/ijas.2012.e77

Taha, A., Al-Jumaily1, T. K. H., & Al-Samrai, M. K. (2020). Effect of melatonin in adult quail males exposed to oxidative stress induced by H_2O_2. 1st scintific international virtual agricultural conference. iop Conf. Series: *Earth and Environmental Science*, *553*, 012013. doi: 10.1088/1755-1315/553/1/012013

Talebi, A., Maham, M., Asri-Rezaei, S., Pournaghi, P., Khorram, M. S., & Derakhshan, A. (2021). Effects of *Nigella sativa* on performance, blood profiles, and antibody titer against newcastle disease in broilers. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2070375*. doi: 10.1155/2021/2070375

Talha, E., Abbas, E., & Mohamed. E. (2010). Effect of supplementation of Nigella sativa seeds to the broiler chicks' diet on the performance and carcass quality. *International Journal of Agricultural Sciences*, *2*, 0975-3710. doi: 10.9735/0975-3710.2.2.9-13

Tuluce, Y., Ozkol, H., Sogut, B., & Celik, I. (2009). Effects of Nigella sativa L. on Lipid Peroxidation and Reduced Glutathione Levels in Erythrocytes of Broiler Chickens. *Cell Membranes and Free Radical Research, 1*, 5-99.

Wang, C., Liu, H., & Yang, M. (2020). RNA-seq based transcriptome analysis of endothelial differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. *European Journal* of *Vascular* and *Endovascular Surgery*, *59*(5), 834-842. doi: 10.1016/j.ejvs.2019.11.003

Yavari, A., Moeini, M. M., & Hozhabri, F. (2022). Effect of black cumin and black seed on growth, weight gain, and blood parameters of fattening lambs under rangeland grazing condition. *Animal Production Research*, *10*(4), 49-59. doi: 10.22124/ar.2022.16793.1536

Yildiz, F., Coban, S., & Terzi, A. (2008). Nigella sativa relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. *World Journal of Gastroenterology*, *14*(33), 5204-5209, doi: 10.3748%2Fwjg.14.5204

Zaoui, A., Cherrah, Y., Aloui, K., Mahassine, N., Amarouch, H. & Hassar, M. (2002). Effect of Nigella sativa fixed oil on blood homeostasis in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, *79*, 23-26. doi: 10.1016/s0378-8741(01)00342-7

Zargari, A. (2001). Medical plants*. 2nd ed. Tehran University Press*. Pp. 25-36.

Zhang, R., Ai, X., Duan, Y., Xue, M., He, W., Wang, C., Xu, T., Xu, M., Liu, B., & Li, C. (2017). Kaempferol ameliorates H9N2 swine influenza virus-induced acute lung injury by inactivation of TLR4/MyD88-mediated NF-κB and MAPK signaling pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 89*, 660-672. doi: 10.1016/j.biopha.2017.02.081

Ziaee, T., Moharreri, N., & Hosseinzadeh, H. (2012). Review of pharmacological and toxicological effects of Nigella sativa and its active constituents. *Journal of Medicinal Plants*, 42, 16-42. [In Persian]