تحقیقات تولیدات دامی

سال نهم/شماره سوم/پاییز ۱۳۹۹ (۳۰-۱۷)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

اثر اسانس‌های نعناع و اکالیپتوس بر عملکرد، خصوصیات لاشه و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی

نوید اصغریان[1*]، رامین نجفی قراجه[2]، میثم ابطحی فروشانی[3]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد پرورش و مدیریت تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۰۵)

چکیده

به منظور بررسی اثر اسانس نعناع و اکالیپتوس بر عملکرد، خصوصیات لاشه و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی، آزمایشی با استفاده از ۲۵۰ قطعه جوجه نر یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و پنج تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار به مدت ۴۲ روز انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) تیمار شاهد منفی (تیمار در شرایط دمایی طبیعی)، ۲) تیمار شاهد مثبت (در شرایط تنش گرمایی)، ۳) تیمار شاهد مثبت + ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسانس نعناع در هر لیتر آب آشامیدنی، ۴) تیمار شاهد مثبت + ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسانس اکالیپتوس در هر لیتر آب آشامیدنی و ۵) تیمار شاهد مثبت + ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسانس نعناع + ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسانس اکالیپتوس در هر لیتر آب آشامیدنی بودند. تنش گرمایی در دوره پایانی (روز ۲۶-۴۲ دوره آزمایشی) و در دمای ۱± ۳۲ سلسیوس به صورت دوره‌ای (از ساعت نه صبح تا پنج بعدازظهر) اعمال شد. نتایج نشان داد که در دوره پایانی و کل دوره آزمایشی، تنش گرمایی موجب کاهش مصرف خوراک شد ($P<۰/۰۵$). تنش گرمایی سبب افزایش وزن نسبی روده، کاهش وزن نسبی ران و کاهش میزان تکثیر و زنده‌مانی لنفوسیت‌ها شد ($P<۰/۰۵$) و شدت انفجار تنفسی سلول‌های فاگوسیتیک خون محیطی را کاهش داد ($P<۰/۰۱$). استفاده از اسانس اکالیپتوس و مخلوط دو اسانس گیاهی سبب بهبود میزان تکثیر لنفوسیت‌ها شده و کاهش ناشی از تنش گرمایی را جبران کرد ($P<۰/۰۵$). استفاده ترکیبی از اسانس نعناع و اکالیپتوس سبب بهبود شدت انفجار تنفسی ماکروفاژها نسبت به تیمار شاهد منفی و مثبت شد ($P<۰/۰۱$). در مجموع، استفاده از اسانس‌های گیاهی نعناع و اکالیپتوس موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی شد، ولی تاثیری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی نداشت.

واژه‌های کلیدی: اسانس نعناع، اسانس اکالیپتوس، تنش گرمایی، جوجه گوشتی، سیستم ایمنی

* نویسندهٔ مسئول: asqarian.n@yahoo.com

doi: 10.22124/ar.2019.9963.1296

مقدمه

هومئوستاز بدن همیشه به وسیله عوامل تنش‌زای خارجی و داخلی در معرض چالش قرار می‌گیرد. بسیاری از عوامل غیرعفونی و غیربیماری‌زا وجود دارند که می‌توانند باعث کاهش عملکرد و یا حتی سبب از کار افتادن سیستم ایمنی در طیور شوند که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به شرایط محیطی مثل دما، رطوبت، تراکم گله و سایر عوامل تنش‌زا اشاره نمود (Garcia *et al*., 2000).

پرورش طیور در مناطق گرمسیر جهان به سرعت رو به افزایش است. قسمت اعظم قاره‌های آسیا، آفریقا و آمریکای جنوبی در این شرایط آب و هوایی واقع شده‌اند و سهم عمده‌ای از جمعیت جهان را در خود جای داده‌اند. تمام رده-های طیور، تنش گرمایی را به صورت همراه با رطوبت نسبی و محدوده دمایی بالاتر از نقطه آسایش تجربه می‌کنند. افزایش این دو متغیر موجب کاهش توانایی پرنده برای دفع گرما می‌شود و باعث می‌شود بخش عمده انرژی بدن صرف تنظیم درجه حرارت شود. در واقع پرنده انرژی قابل توجهی را تلف می‌کند؛ زیرا حداکثر بازدهی انرژی برای تبدیل انرژی خوراک به محصولات طیور کمتر از ۲۰ درصد است (Teeter and Belay, 1996). تنش گرمایی در صنعت طیور، به-خصوص در مناطق گرم جهان، یک نگرانی عمده است؛ زیرا باعث ضعیف شدن رشد، سرکوب سیستم ایمنی و بالا رفتن نرخ مرگ‌ومیر می‌شود (Mujahid *et al*., 2007). زمانی که دمای محیط به بالاتر از منطقه آسایش حرارتی افزایش می‌یابد، پرنده دچار تنش گرمایی می‌شود که در این حالت تغییرات فیزیولوژیکی در اسیدیته و متابولیت‌های خون صورت می‌گیرد. کاهش مصرف و عدم بازدهی مناسب خوراک، کاهش وزن، کاهش کیفیت لاشه و کاهش قدرت دفاعی و سیستم ایمنی بدن از مهم‌ترین موارد در زمان تنش گرمایی است (Borges *et al*., 2004).

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که دمای محیطی می‌تواند سیستم ایمنی پرندگان را تحت تأثیر قرار دهد. دمای بالای محیط بر سیستم ایمنی مرغ تأثیر گذاشته و باعث تضعیف سیستم ایمنی در طیور گوشتی می‌شود (Niu *et al*., 2009). تنش گرمایی، بخش‌های مختلف سیستم ایمنی را سرکوب کرده و از این رو حیوانات را نسبت به بیماری‌های مختلف، آسیب‌پذیر می‌کند (Aggarwal and Upadhyay, 2013). گله‌هایی که سیستم ایمنی آن‌ها سرکوب شده است، ممکن است حساسیت بیشتری به عفونت‌های ثانویه داشته باشند و ضریب تبدیل خوراک و همچنین پاسخ آن‌ها به واکسن‌های مورد استفاده، ضعیف باشد (Sharma *et al*., 2000). دست-کاری جیره یکی از روش‌های مورد استفاده برای حذف یا تعدیل آثار دمای محیطی بالا بر عملکرد جوجه‌های گوشتی است (Debski *et al*., 2004).

هر چند در دهه‌های اخیر توجه به داروهای شیمیایی افزایش یافته است، اما عوارض زیاد آن‌ها به تدریج مشخص شده و مصرف بی‌رویه این داروها را مورد سؤال قرار داده است. به همین ترتیب، آثار گیاهان دارویی و بدون عارضه بودن این گیاهان، توجه بیماران و پزشکان را به این داروها روز به روز بیشتر کرده است.

در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به استفاده از پروبیوتیک‌ها و اسانس‌ها به عنوان جایگزین‌های طبیعی برای محرک‌های رشد ضدمیکروبی شده است (Khodambashi *et al*., 2012)، زیرا این ترکیبات علاوه بر تحریک رشد (Cross *et al*., 2007)، می‌توانند موجب تقویت ایمنی نیز شوند (Guo *et al*., 2004).

گیاهان دارویی شامل ترکیبات پیچیده‌ای از مواد شیمیایی آلی هستند که ممکن است فرآیند تولید آن‌ها بر حسب عوامل مرتبط با رشد، متنوع باشد. اسانس‌های گیاهی ترکیبات پیچیده‌ای از مواد شیمیایی مختلف با مقادیر گوناگون هستند. به علت تغییرات زیاد در این ترکیبات، آثار زیستی اسانس‌ها متفاوت است (محبوبی و همکاران، ۱۳۶۸). این مواد دارای عطر بوده و خواص ضدباکتریایی، ویروس-کشی، قارچ‌کشی و خواص دارویی دارند (Bakkali *et al*., 2008). همچنین گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر گیاهان دارویی بر بهبود عملکرد سیستم ایمنی وجود دارد (Savoini and Bontempo, 2002). گیاهان، ادویه‌جات و عصاره‌های مختلف گیاهی اشتهاآور بوده و دارای خصوصیات تحریک هضم هستند و آثار ضدمیکروبی نیز دارند (Hernandez *et al*., 2004).

نعناع با نام علمی *Mentha piperita* گیاهی است معطر که منحصراً چندساله بوده و به طور وسیعی در سراسر نقاط

جهان پخش شده است. ترکیبات اصلی اسانس این گیاه شامل: منتول، منتون و متیل استات است. فراوان‌ترین ترکیب نعناع، منتول است که خاصیت ضدباکتریایی دارد. همچنین نعناع منبع غنی از ترکیبات پلی‌فنولیک است و از این رو می‌تواند دارای خواص قوی آنتی‌اکسیدانی باشد (Dorman *et al*., 2003). این گیاه از گذشته به عنوان یک گیاه معطر و اشتهاآور استفاده می‌شود. نعناع یک منبع غنی از روغن‌های اسانسی است که مصارف غذایی عمده داشته و از نظر مصارف دارویی نیز ضد اسپاسم، ضدباکتری و کمک‌کننده به هضم غذا است. اسانس نعناع می‌تواند به - دنبال تعدیل جمعیت میکروبی روده، سبب بهبود عملکرد سیستم ایمنی شود (Kim *et al*., 2011). با توجه به مطالب ذکر شده نعناع می‌تواند آثار مفیدی بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی داشته باشد (Khodambashi *et al*., 2012).

اکالیپتوس با نام علمی *Eucalyptus camadulensis Dehnh* از درختان عظیم و با رشد سریع در منطقه اقیانوسیه است که به نقاط مختلف دنیا نیز انتشار یافته است. اسانس اکالیپتوس یک ترکیب ضدالتهابی، ضدعفونی‌کننده، ضدویروس، ضد نزله و خلط‌آور است (Kraft *et al*., 2004). ترکیبات اصلی این اسانس شامل: ۸-۱ سینئول، آلفاپی‌نن و ویریدی‌فلورول است. ترپینئول، آرومادندرن و ترانس-پینوکاروئول، سایر ترکیبات آن را تشکیل می‌دهند (Rahimi-Nasrabadi *et al*., 2012). سینئول مهم‌ترین ماده موثره اسانس اکالیپتوس است که مانع از بسته شدن مجاری تنفسی و ترشح موکوس شده و دارای آثار ضدالتهابی، آنتی-اکسیدانی و همچنین آثار تحریک‌کنندگی بر سیستم ایمنی است (Riechelmann *et al*., 1997). اگر چه عمده گیاهان دارویی دارای خواص ضدمیکروبی هستند، اما مطالعات اندکی در مورد آثار استفاده از آن‌ها بر عملکرد پرندگان انجام شده است.

با توجه به مطالب ذکر شده، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر اسانس نعناع و اسانس اکالیپتوس بر عملکرد، خصوصیات لاشه و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه، تعداد ۲۵۰ جوجه گوشتی نر یک‌روزه از سویه تجاری راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و پنج تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار از سن ۱ تا ۴۲ روزگی در محل مرغداری تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) تیمار شاهد منفی (در شرایط دمایی طبیعی)، ۲) تیمار شاهد مثبت (در شرایط تنش گرمایی)، ۳) تیمار شاهد مثبت + ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسانس نعناع در هر لیتر آب آشامیدنی، ۴) تیمار شاهد مثبت + ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسانس اکالیپتوس در هر لیتر آب آشامیدنی و ۵) تیمار شاهد مثبت + ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسانس نعناع + ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسانس اکالیپتوس در هر لیتر آب آشامیدنی بودند. ترکیبات و مواد مؤثره اسانس‌های مورداستفاده در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است (بر اساس تجزیه مواد موثره اسانس‌ها به وسیله شرکت باریچ اسانس).

نحوه اعمال تنش در تیمارهای در شرایط تنش به گونه‌ای بود که در دوره آغازین (روز ۱ تا ۱۰) و رشد (روز ۱۱ تا ۲۵)، پرنده‌ها در دمای طبیعی پرورش یافته، ولی در دوره پایانی (روز ۲۶ تا ۴۲)، روزانه از ساعت نه صبح تا پنج بعدازظهر دمای سالن به ۱± ۳۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی سالن به ۵۰-۴۰ درصد می‌رسید. برای این منظور ترکیب جیره (جدول ۳) بر اساس سه دوره پرورشی (آغازین، رشد و پایانی) و نسبت انرژی به پروتئین و سایر مواد مغذی، بر اساس نیازمندی‌های توصیه شده در دفترچه راهنمای مدیریتی راس ۳۰۸ برای تمامی تیمارها با استفاده از نرم-افزار WUFFDA تهیه شد.

جدول ۱- ترکیبات اسانس نعناع

Table 1. *Spearmint* essential oil ingredients

Sample Name: *Spearmint* essential oil		Lab. Temp.: 24.1 °C		Humidity: 29.3%
	Test	Reference method	Method	Result
Assay	Cineole (%)	In House	In House	3.37
	Limonene (%)	In House	In House	38.68
	Menthol (%)	In House	In House	1.15
	Pulegone (%)	In House	In House	0.67
	Carvone (%)	In House	In House	36.98
	Isomenthone (%)	In House	In House	-
	Menthone (%)	In House	In House	-
	Menthyl acetate (%)	In House	In House	-

جدول ۲- ترکیبات اسانس اکالیپتوس

Table 2. *Eucalyptus* essential oil ingredients

Sample Name: *Eucalyptus* essential oil		Lab. Temp.: 22.6 °C		Humidity: 29.5%
	Test	Reference method	Method	Result
Assay	α-Pinene (%)	In House	In House	9.30
	β- Pinene (%)	In House	In House	0.50
	Sabinene (%)	In House	In House	0.08
	α-Phellandrene (%)	In House	In House	0.45
	Limonene (%)	In House	In House	6.97
	1,8Cineole (%)	In House	In House	56.77
	Camphor (%)	In House	In House	0.07

اسانس اکالیپتوس (*Eucalylptus essential oil*) و اسانس نعناع (*Spearmint essential oil*) به صورت اسانس محلول در آب، از شرکت گلکاران کاشان (زیر نظر شرکت باریچ اسانس) تهیه شد. این مواد پس از رقیق‌سازی روزانه در داخل بشر شیشه‌ای (با غلظت ۰/۰۵ میلی‌لیتر در هر لیتر)، در آب آشامیدنی پرنده‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفت.

صفات مورد مطالعه شامل: عملکرد، خصوصیات لاشه و سیستم ایمنی بود. جهت بررسی عملکرد، پرنده‌ها به صورت دوره‌ای وزن‌کشی شده و میانگین مصرف خوراک هر جوجه، میانگین افزایش وزن هر جوجه و ضریب تبدیل خوراک بر اساس روز مرغ تعیین شد. در پایان هفته ششم یک جوجه نزدیک به میانگین وزنی لانه انتخاب و کشتار شد. پس از کشتار و پرکنی، قسمت‌های مختلف آن (لاشه، سینه، ران، بال، سنگدان، طحال، کبد، روده، بورس، قلب و چربی محوطه بطنی) وزن شدند و وزن نسبی آن‌ها بر حسب وزن زنده بدن (وزن تقسیم بر وزن زنده بدن ضربدر ۱۰۰) محاسبه شد. برای بررسی کارآیی سیستم ایمنی نیز در سن ۲۸ روزگی از هر واحد آزمایشی، دو جوجه به صورت تصادفی انتخاب و ۰/۳ سی‌سی محلول پنج درصد SRBC به آن‌ها تزریق شد. در سن ۳۵ روزگی نیز تزریق SRBC به همان میزان برای این پرنده‌ها انجام گرفت. جهت بررسی ایمنی سلولی، همان میزان از SRBC در روز ۴۰ به پرده بین انگشت دوم و سوم پای چپ آن دو پرنده تزریق شد و دو روز بعد بر اساس اختلاف ضخامت پرده بین انگشتان پای چپ و راست، ایمنی سلولی ارزیابی شد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۸۶). همچنین در روز ۴۲ از پرنده‌های تزریق شده خون‌گیری شد و جهت بررسی میزان تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC، ایمنی سلولی، شدت انفجار تنفسی مونوسیت-ها (NBT) و تکثیر لنفوسیت‌ها (MTT) به شکل زیر عمل شد:

به طور خلاصه، جهت سنجش قابلیت انفجار تنفسی در سلول‌های فاگوسیتیک خون محیطی، ابتدا به کمک گرادیانت فایکول، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی جدا شدند (Xiaoyu *et al.*, 2014). سپس سوسپانسیون سلولی

به تعداد «cell/m ۱۰^۶ ×۲ تهیه شد. این سلول‌ها در پلیت-های کشت ۲۴ خانه به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن، انکوبه شد، سپس خانه‌ها با محیط کشت هنکس به منظور حذف لنفوسیت‌ها شستشو داده شدند. سلول‌های باقیمانده به مدت یک ساعت با مخمر اپسونیزه انکوبه شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول زیموزان و NBT (نیترو بلو تترازولیوم) (شرکت Sigma -آمریکا) به هریک از خانه‌ها اضافه شد و به مدت یک ساعت دیگر انکوبه شدند. در نهایت ۴۰۰ میکرولیتر N-N دی متیل فورماید به هر یک از خانه‌ها اضافه شد و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی از هر یک از خانه‌ها را در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و نتیجه با الایزا نگار در طول‌موج ۵۴۰nm قرائت شد (Pourtayeb and Abtahi, 2017). به منظور بررسی میزان تکثیر سلول‌های ایمنی با روش MTT مراحل زیر انجام شد:

پس از طی مراحلی که در بالا توضیح داده شد، به دنبال شمارش سلول‌ها، سوسپانسیونی حاوی ۲×۱۰^۶cell/mL تهیه شد و ۱۰۰ µL از آن در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. برای هر نمونه، سه تکرار بدون حضور پادگن و سه تکرار در حضور ۵۰µL از محلول گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) ۱۰ درصد، در نظر گرفته شد. به عنوان بلانک نیز در سه چاهک از محیط RPMI خالی استفاده شد. بعد از ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری در انکوباتور حاوی ۵٪ CO_2، به هر چاهک ۲۵ µL محلول MTT (شرکت Sigma -آمریکا) (۵ mg/mL در PBS) افزوده شده، به مدت ۴ ساعت دیگر گرمخانه‌گذاری شد. در این مدت احیاء ماده MTT (۳- (۴،۵ –دی متیل تیازول ۲-ایل)-۵،۲- دی فنیل تترازولیوم بروماید) به وسیله سلول‌های زنده و در حال تکثیر سبب تشکیل کریستال‌های فورمازون شد که با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به حالت محلول درآمد. سپس شدت رنگ در طول‌موج ۴۹۰nm تعیین و شاخص تحریک بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Abtahi *et al.*, 2014):

$$\text{شاخص تحریک} = \frac{\text{بلانک PHA-OD در حضور OD}}{\text{بلانک PHA-OD در عدم حضور OD}}$$

به منظور تعیین تیتر آنتی‌بادی پس از جداسازی سرم از روش میکروهماگلوتیناسیون استفاده شد. برای این منظور، رقت‌های ۱ به ۲ از محلول در حجم ۵۰ میکرو لیتر از سرم تهیه شده و به همه رقت‌ها، سوسپانسیون یک درصد SRBC در حجم ۵۰ میکرولیتر افزوده شد. سپس لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند و پس از آن، آخرین رقتی که موجب آگلوتینه شدن سلول‌های RBC شده بود به عنوان تیتر آگلوتیناسیون در نظر گرفته شد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از رویه GLM نرم‌افزار SAS 9.0 استفاده شد. مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تأثیر گروه‌های آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. با توجه به نتایج بدست‌آمده، تنش گرمایی در دوره پایانی و کل دوره آزمایشی، به صورت معنی‌داری به ترتیب موجب کاهش ۱۱ درصدی و ۹ درصدی مصرف خوراک پرنده‌ها گردید (P<۰/۰۵). جوجه‌های سریع‌الرشد کنونی به مصرف خوراک زیادی برای دست‌یابی به بیشینه رشد نیاز دارند. با این حال، مصرف و سوخت و ساز خوراک در طیور باعث حرارت افزایشی می‌شود و این حرارت در محدوده دمایی بالا تشدید می‌شود. مصرف خوراک پرنده و به تبع آن، نرخ سوخت و ساز بدن طیور در دماهای بالا کاهش می‌یابد. نتیجه این پدیده بدتر شدن رشد و ضریب خوراک خواهد بود (Donkoh, 1989). کاهش مصرف خوراک در این آزمایش نیز ناشی از همین پدیده است.

از سوی دیگر، تنش گرمایی تأثیر معنی‌داری بر نرخ رشد و ضریب تبدیل خوراک نشان نداد (P>۰/۰۵). گزارش شده است که تنش گرمایی سبب کاهش نرخ رشد و مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی و تخم‌گذار در دمای ۳۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ ساعت شده است (Mujahid *et al.*, 2005).

جدول ۳- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی (بر اساس ماده خشک)

Table 3. Ingredients and chemical composition of experimental diets (DM basis)

Diet Components (kg)	Starter (1-10 day)	Grower (11-25 day)	Finisher (26-42 day)
Corn	33.00	34.46	39.30
Wheat	20.00	25.00	25.00
Soybean meal (44% CP)	39.33	33.50	28.23
Soy oil	2.93	2.90	3.30
Di-calcium phosphate	2.10	2.15	2.15
Limestone	1.10	0.86	0.86
L-Lysine	0.29	0.22	0.20
DL-Methionine (98%)	0.38	0.08	0.13
Mineral and vitamin supplement[1]	0.50	0.50	0.50
Common salt	0.37	0.33	0.33
Total	100.00	100.00	100.00
The calculated nutrient content of the diet			
Dry matter (%)	85.98	86.21	86.27
ME (kcal / g)	2.86	2.92	3.00
Crude protein (%)	21.99	20.00	17.99
Crude fat (%)	3.87	3.93	5.37
Fiber (%)	3.96	3.70	3.34
Calcium (%)	1.00	0.90	0.89
Available phosphorus (%)	0.45	0.45	0.44
Potassium (%)	0.97	0.88	0.79
Chlorine (%)	0.33	0.30	0.29
Sodium (%)	0.16	0.15	0.15
Methionine (%)	0.70	0.38	0.31
Lysine (%)	1.32	1.24	1.09
Arginine (%)	1.53	1.37	1.22
Methionine-Cystine (%)	1.07	0.73	0.86
Tryptophan (%)	0.29	0.26	0.23
Tyrosine (%)	0.98	0.89	0.81
Threonine (%)	0.85	0.77	0.69

[1]Vitamins and mineral premix provided the following per kilogram of diet: Retinol, 9000 IU; Tocopherolacetate, 18; Cyanocobalamin, 15 mg; Riboflavin, 6.6 mg; Calcium pantothenic acid, 10 mg; Niacin, 30 mg; Choline, 500 mg; Biotin, 1 mg; Thiamin, 8.1 mg; Pyridoxine, 3 mg; Folic acid, 1 mg; Menadione vitamin, 2mg; Anti-Oxidant Ethoxyquin, 100 mg; Mn, 100 mg; Zn, 50 mg; Fe, 50 mg, Cu, 10 mg; I, 1 mg; Se, 0.2 mg.

جدول ۴- اثر افزودن اسانس نعناع و اکالیپتوس در آب آشامیدنی بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی

Table 4. Effect of adding peppermint and eucalyptus essential oils to drinking water on feed intake, daily gain and feed conversion ratio of broiler chickens under heat stress

Group	Feed intake (g)		Body weight gain (g)		Feed conversion ratio	
	26-42 day	1-42 day	26-42 day	1-42 day	26-42 day	1-42 day
Negative Control	3066.9[a]	4674.5[a]	1686.3	2728.7	1.84	1.70
Positive Control	2766.5[b]	4275.8[b]	1389.9	2374.0	1.99	1.80
Positive Control + Spearmint Essential oil	2705.6[b]	4180.1[b]	1627.5	2906.9	1.66	1.62
Positive Control + Eucalyptus Essential oil	2605.8[b]	4241.1[b]	1481.8	2481.2	1.77	1.69
Positive Control + Spearmint Essential oil + Eucalyptus Essential oil	2735.9[b]	4275.7[b]	1544.6	2563.0	1.79	1.67
SEM	44.03	50.88	36.52	40.71	0.04	0.02
P-value	0.004	0.016	0.06	0.053	0.08	0.18

[a-c] Means in the same column with no common superscripts differ significantly ($P<0.05$).

تنش گرمایی ۳۲ درجه سلسیوس (به مدت دو هفته) سبب مصرف خوراک و افزایش وزن و قابلیت هضم پایین و ضریب خوراک بالاتری شد، که این رویداد به کاهش ماده مغذی قابل دسترس برای رشد در شرایط تنش گرمایی ارتباط داده شد (Bonnet *et al*., 1997). همچنین کاهش وزن و مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی (۳۲ درجه سلسیوس) در هفته‌های سوم تا ششم گزارش شده است (Yalcin *et al*., 1997).

اسانس‌های گیاهی مورد استفاده در این آزمایش تأثیری بر بهبود هیچ‌یک از فراسنجه‌های عملکردی نشان ندادند (P>۰/۰۵). گزارش شده است که استفاده از نعناع در جیره جوجه‌های گوشتی هیچ تأثیر معنی‌داری روی مصرف خوراک ندارد (Huda *et al*., 2015). از سوی دیگر، گزارش شده است که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پودر نعناع فلفلی به صورت معنی‌داری خوراک بیشتری نسبت به گروه شاهد دریافت کردند (Galib *et al*., 2010). جوجه‌های گوشتی تیمار شده با اکالیپتوس نسبت به گروه شاهد مصرف خوراک بالاتر و افزایش وزن بهتری داشتند (Abdur-Rahman *et al*., 2013). از طرفی، استفاده از سطوح یک و دو گرم اکالیپتوس در جیره مرغان تخم‌گذار، تأثیری بر مصرف خوراک و افزایش وزن آن‌ها نداشت (Abdel-motaal *et al*., 2008)، که نتایج حاصل از این آزمایش نیز نشان‌دهنده این موضوع است.

نعناع در جیره جوجه‌های گوشتی موجب بهبود افزایش وزن آن‌ها شد (Huda *et al*., 2015). همچنین جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پودر نعناع فلفلی در سطوح ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به صورت معنی‌داری میانگین افزایش وزن روزانه بهتری نسبت به گروه شاهد داشتند (Galib *et al*., 2010).

بر اساس نتایج این آزمایش (جدول ۵)، تنش گرمایی به صورت معنی‌داری موجب کاهش وزن نسبی ران نسبت به گروه شاهد منفی شده و میزان وزن نسبی روده را افزایش داده است (P<۰/۰۵).

در مطالعه‌ای، کاهش وزن نسبی ران در شرایط تنش گرمایی نشان داده شد (Lin *et al*., 2005). همچنین وزن کل روده جوجه‌ها در شرایط تنش در روز کشتار کمتر از گروه شاهد بود (Garriga *et al*., 2005). تولید پروتئین در دماهای بالا کاهش می‌یابد، که می‌تواند ناشی از کاهش غلظت آمینواسیدهای پلاسما و تأمین ناکافی انرژی باشد، که این عامل باعث تجزیه بافت ماهیچه‌ای در طیور می‌شود. احتمالاً کاهش معنی‌دار وزن نسبی ران در جوجه‌های در شرایط تنش در این آزمایش نیز همین امر است. به‌علاوه تنش گرمایی موجب کاهش غلظت هورمون T_3 و افزایش کورتیکوسترون‌های پلاسما می‌شود. هر دو این تغییرات سبب کاهش ذخیره پروتئین از راه دخالت در سوخت و ساز پروتئین در پرندگان و سایر گونه‌ها می‌شود.

جدول ۵- اثر افزودن اسانس نعناع و اکالیپتوس در آب آشامیدنی بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی

Table 4. Effect of adding peppermint and eucalyptus essential oils to drinking water on carcass characteristics of broiler chickens under heat stress

Group	Carcass	Breast	Thigh	Gizzard	Spleen	Liver	Bursa of Fabricius	Heart	Abdominal fat	Intestine
Negative control	62.21	22.72	21.05[a]	1.63	0.094	2.05	0.19	0.40	1.72	5.31[b]
Positive control	60.86	23.75	19.54[b]	1.79	0.092	2.25	0.13	0.42	1.67	6.60[a]
Positive control + Spearmint Essential oil	60.06	22.93	20.03[b]	1.58	0.116	2.10	0.12	0.42	1.55	6.45[a]
Positive control + Eucalyptus essential oil	61.50	23.72	19.87[b]	1.62	0.102	2.31	0.14	0.39	1.54	6.96[a]
Positive control + Spearmint essential oil + Eucalyptus essential oil	61.42	23.24	19.83[b]	1.61	0.104	2.11	0.19	0.38	1.32	6.48[a]
SEM	0.30	0.29	0.15	0.04	0.01	0.04	0.01	0.01	0.08	0.17
P-value	0.21	0.75	0.012	0.43	0.66	0.20	0.10	0.59	0.63	0.01

[a-b] Means in the same column with no common superscripts differ significantly (P<0.05).

این اعمال باعث کاهش حجم ماهیچه شده و در نهایت موجب کاهش وزن پرنده می‌شود. با این وجود، تنش گرمایی اثر اندکی بر روده دارد (Garriga *et al*., 2005). احتمالاً با توجه به این امر که تنش گرمایی روی وزن پرنده تأثیر زیادی داشته و بر روده اثر کمی دارد؛ موجب افزایش وزن نسبی کل روده پرنده‌ها در این آزمایش شده است. در مورد سایر اندام‌ها (شامل وزن نسبی لاشه، سینه، بال، کبد، سنگدان، طحال، بورس، قلب و چربی محوطه بطنی)، تنش گرمایی تأثیر معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد منفی نشان نداد (P>۰/۰۵). محققین طی تحقیقات پیشین به نتایج مشابهی در جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی (پنج ساعت در روز و دمای ۳۳ درجه سلسیوس از سن ۲۸ تا ۴۲ روزگی) دست یافتند (Hosseini *et al*., 2012). اعمال تنش گرمایی با تزریق کورتیکوسترون بیشترین تأثیر را روی عضله سینه می‌گذارد (Lin *et al*., 2005). از سوی دیگر، به خوبی مشخص شده است که در شرایط تنش گرمایی، قابلیت هضم پروتئین و جذب اسیدهای آمینه کاهش می‌یابد و اسید آمینه لیزین و نسبت مناسب آرژنین به لیزین (که برای رشد ماهیچه‌ها به ویژه ماهیچه سینه و ران لازم است) تأمین نمی‌شود.

استفاده از اسانس‌های گیاهی نیز در هیچ‌یک از موارد تأثیر معنی‌داری نشان ندادند (P>۰/۰۵). افزودن برگ نعناع به میزان ۰/۲ درصد به جیره سبب افزایش معنی‌دار چربی حفره شکمی در طیور شده است (Ocak *et al*., 2008). این پدیده ممکن است به دلیل تفاوت در مقدار نعناع مورد استفاده یا استفاده از نعناع در شرایط عدم وجود تنش گرمایی باشد. با توجه به اینکه استفاده از گیاهان دارویی سبب کاهش جمعیت میکروبی مضر دستگاه گوارش می‌شود، لذا سرعت تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه مواد گوارشی کاهش یافته و مقادیر بیشتری از آن‌ها جذب و در بدن ابقا خواهد شد. این امر منجر به بهبود درصد لاشه و به دنبال آن کاهش تبدیل پروتئین به چربی شده و مقادیر کمتری چربی در بدن تجمع می‌یابد (Lee *et al*., 2004). همچنین افزودن نعناع به خوراک، وزن نسبی اندام‌ها را تحت تأثیر قرار نداد (Ocak *et al*., 2008). همچنین در تحقیق دیگر وزن اندام‌های گوارشی مانند پیش معده، سنگدان، کبد و پانکراس با مصرف اسانس خانواده نعناعیان تغییری نکرد (Hernandez *et al*., 2004)، که با نتایج این پژوهش مشابه بود.

با توجه به نتایج آزمایش حاضر که در جدول ۶ نشان داده شده است، تنش گرمایی سیستم ایمنی پرنده را سرکوب کرده و به صورت معنی‌داری موجب کاهش میزان تکثیر لنفوسیت‌ها و شدت انفجار تنفسی ماکروفاژها شده است (P<۰/۰۱). تنش گرمایی موجب تضعیف سیستم ایمنی می‌شود (Niu *et al*., 2009). تأثیر منفی تنش گرمایی بر عملکرد سیستم ایمنی طیور مانع مقاومت پرندگان در برابر بیماری‌ها می‌شود (Ocak *et al*., 2008). هم‌زمان با کاهش ایمنی هومورال سیستمیک در مرغان تخم‌گذار (Bozkurt *et al*., 2012)، کاهش تعداد لنفوسیت‌های داخل اپیتلیال و سلول‌های پوشش‌دهنده IgA در داخل روده آن‌ها در شرایط تنش گرمایی گزارش شد (Deng *et al*., 2012).

جدول ۶- اثر افزودن اسانس نعناع و اکالیپتوس در آب آشامیدنی بر ایمنی سلولی، میزان آنتی‌بادی کل، تست تکثیر لنفوسیت (MTT) و تست شدت انفجار تنفسی ماکروفاژهای (NBT) جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

Table 6. Effect of adding peppermint and eucalyptus essential oils to drinking water on immune parameters including total antibody level, lymphocyte proliferation response (MTT) and respiratory burst in macrophage (NBT) of broilers at 42 days of age

Group	Cellular immunity (mm)	Total antibody (mg/dL)	MTT (light absorbance)	NBT (light absorbance)
Negative control	0.37	24	0.418[a]	0.363[b]
Positive control	0.46	10	0.351[b]	0.283[c]
Positive control + Spearmint essential oil	0.58	18	0.439[a]	0.346[b]
Positive control + Eucalyptus essential oil	0.30	22	0.361[b]	0.330[b]
Positive control + Spearmint essential oil + Eucalyptus essential oil	0.64	36	0.458[a]	0.436[a]
SEM	0.07	3.12	0.01	0.01
P-value	0.59	0.09	0.001	< 0.0001

[a-c] Means in the same column with no common superscripts differ significantly (P<0.01).

قرارگیری پرندگان در شرایط تنش گرمایی موجب کاهش توانایی فاگوسیتوزی ماکروفاژها شده و پاسخ آنتی‌بادی را کاهش می‌دهد (Niu *et al*., 2009). کاهش ماکروفاژهای فاگوسیت‌کننده و ماکروفازهای پایه در شرایط تنش گرمایی موجب انفجار اکسیداتیو در مرغان گوشتی می‌شود (Quintriro *et al*., 2012). گزارش شده است که دماهای بالا سبب ممانعت از سرکوب بلاستوژنز لنفوسیت‌های B و T شده و سطح لوکوسیت‌های خون را کاهش می‌دهد. کاهش تولید لنفوسیت‌ها و افزایش هتروفیل‌ها موجب افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت می‌شود (Felver-Gant *et al*., 2012). طی آزمایشی که روی مرغان تخم‌گذار انجام شد، یک و چهار هفته پس از شروع تنش، تیتر آنتی‌بادی پرندگان علیه SRBC نسبت به گروه شاهد پایین‌تر بود. تنش گرمایی باعث کاهش تولید آنتی‌بادی‌ها می‌شود (Zalkifi *et al*., 2000)، که این نتیجه را به صورت غیر-مستقیم به افزایش تحریک‌آمیزی سیتوکین‌ها در شرایط تنش مربوط دانسته‌اند. فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین در شرایط تنش گرمایی افزایش یافته و موجب افزایش هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک می‌شود. این هورمون باعث تحریک غده فوق‌کلیوی جهت تولید کورتیکوسترون می‌شود. در ادامه، کورتیکوسترون مانع تولید آنتی‌بادی می‌شود (Cross *et al*., 2007). جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی سطوح پایین‌تری از آنتی‌بادی کل، همچنین ایمونوگلوبین IgA و IgG دارند که هردوی این‌ها به دلیل پاسخ‌های ایمنی اولیه و ثانویه است (Bartlett *et al*., 2003). همچنین مشخص شده است که تنش گرمایی، سیتوکروم‌های Th2 را کاهش می‌دهد که برای تولید آنتی‌بادی‌ها مهم و ضروری هستند (Lebman and Coffman 1998).

در این آزمایش نیز تنش گرمایی موجب کاهش قابلیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن به وسیله سلول‌های فاگوسیت-کننده خون محیطی (نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها) شد. رادیکال‌های آزاد تولید شده بعد از تحریک با ماده NBT فقط برای فاگوسیت‌ها به صورت اختصاصی عمل می‌کنند. این رادیکال‌های آزاد مقیاسی از انفجار تنفسی سلول‌های فاگوسیت‌کننده هستند. همچنین قابلیت تکثیر لنفوسیت‌ها در اثر تنش گرمایی کاهش یافته که موجب کاهش پاسخ لنفوسیت‌ها به میتوژن‌ها می‌شود. پاسخ‌های ایمنی سلولی بر خلاف پاسخ‌های ایمنی ذاتی و همچنین تولید آنتی‌بادی پاسخ‌های به نسبت پیچیده‌تری هستند که نتیجه همکاری لنفوسیت‌های T، ماکروفاژهای بافتی و همچنین سلول‌های اندوتلیال عروق خونی همراه با برخی از عوامل سرمی از قبیل فیبرینوزن است. بر خلاف پاسخ‌های ایمنی هومورال و ایمنی ذاتی، به طور معمول پاسخ‌های ایمنی سلولی نسبت به تغییرات محیطی مقاوم هستند. نتایج آزمایش حاضر همچنین حاکی از آن هستند که تنش گرمایی با شیوه‌ای که اعمال شد، تأثیر معنی‌داری بر شدت پاسخ ایمنی سلولی نداشت. این در حالی است که استفاده از اسانس اکالیپتوس و مخلوط دو اسانس گیاهی موجب بهبود میزان تکثیر لنفوسیت‌ها شده و کاهش ناشی از تنش گرمایی را جبران کرد ($P<۰/۰۵$). از سوی دیگر استفاده از اسانس نعناع و اسانس اکالیپتوس موجب بهبود معنی‌دار شدت انفجار تنفسی ماکروفاژها شده و کاهش ناشی از تنش گرمایی را جبران کرد. بعلاوه استفاده توأم دو اسانس موجب بهبود بیشتر شدت انفجار تنفسی ماکروفاژها شده، به نحوی که از میزان شدت انفجار تنفسی ماکروفاژهای تیمار شاهد منفی نیز فراتر رفت ($P<۰/۰۵$).

مکمل‌سازی جیره طیور با اسانس‌های گیاهان دارویی موجب بهبود وضعیت ایمنی پرنده می‌شود (Lavina, 2009). نتایج مطالعاتی که در چین و هند انجام گرفت، نشان داد که گیاهان طبیعی در سلامتی انسان مؤثر هستند و می‌توانند آثار تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی را به همراه داشته باشند (Gopal *et al*., 2013).

برخی از آثار زیستی اسانس اکالیپتوس، مانند خاصیت ضد-عفونی‌کنندگی علیه طیفی از میکروب‌ها و اخیراً خاصیت تحریک‌کنندگی آن در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی عمدتاً با توجه به تولید برخی سیتوکین‌ها به اثبات رسیده است. اسانس اکالیپتوس فعالیت عملکردی و ریخت‌شناسی مونوسیت‌ها را افزایش می‌دهد و این خاصیت به دلیل تحریک گیرنده‌های سلول‌های فاگوسیتیک است (Serafino, 2008). آزمایش روی افراد بیمار مبتلا به تنگی‌نفس فعالیت

ضدالتهابی اکالیپتوس را تائید می‌کند (Juergenes *et al*., 1998). محققین نشان دادند که تیتر آنتی‌بادی تولید شده علیه نیوکاسل و آنفلوانزای مرغی گروه بلدرچین ژاپنی تغذیه شده با جیره حاوی اکالیپتوس بالاتر از گروه شاهد بود (Hasan *et al*., 2009). مونوترپنوئیدهای ترکیبات آروماتیک اسانس اکالیپتوس مدت‌ها است که به عنوان کاهنده درد، ضدالتهاب و تب‌بر مورد استفاده قرار می‌گیرند و انواع تجاری آن در بهبود علائم عفونت‌های تنفسی به کار می‌رود. یکی از مهم‌ترین مونوترتنوئیدهای اکالیپتوس، اکالیپتول (۸ و ۱ سینئول) است که تولید TNF-α اینترلوکینβ، لوکوتریین B و ترومبوکسان B را در مونوسیت‌های خون انسان مهار می‌کند (Juergenes *et al*.,1998).

اسانس نعناع و اکالیپتوس موجب بهبود تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل در طیور می‌شود (Carli, 2008). مطالعات مختلفی، تأثیر اسانس نعناع و اکالیپتوس را در حفاظت از سیستم تنفسی، سیستم گوارشی (Bakkali, 2008) و سیستم لنفاوی (Serafino, 2008) نشان دادند. طبق گزارشات، فعالیت فاگوسیتوزی ماکروفاژها در پرندگان تیمار شده با اسانس نعناع و اکالیپتوس، به صورت معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود (Awaad *et al*., 2010).

آثار اسانس‌ها بر نیتریک اکسید سرم، افزایش معنی‌داری را در پرندگان تیمار شده نسبت به پرندگان تیمار نشده، نشان داد. همچنین فعالیت لیزوزیم در دو گروه، تفاوت معنی‌داری نداشت و نمره تغییرات هیستوپاتولوژیک بیشتر اندام‌های ایمنی، از میزان هشت در گروه تیمار شده به صفر در گروه تیمار نشده رسید. اسانس نعناع و اکالیپتوس ایمنی سلولی و هومورال را در جوجه‌ها قوی‌تر می‌کنند. همچنین استفاده از این اسانس‌ها موجب سامان‌بخشی قوی سیستم ایمنی در پاسخ به واکسن می‌شود (Awaad *et al*., 2010). تحقیقات دیگری نیز انجام شده‌اند که از آثار اسانس نعناع و اکالیپتوس در جوجه‌های گوشتی، برای سامان‌بخشی سیستم ایمنی در پاسخ به واکسن ولوژنیک نیوکاسل و کمک به بهبود معنی‌دار زنده‌مانی و تولید، حمایت می‌کنند (Barbour *et al*., 2013).

گزارش شده است که مصرف مکمل‌های گیاهی می‌تواند منجر به بهبود ایمنی عمومی به شکل افزایش تعداد لکوسیت‌ها، افزایش تعداد ماکروفاژها و تشدید فعالیت‌های آنزیمی آن‌ها و افزایش بیگانه‌خواری شود (Dong *et al*., 2007). اسانس‌های موجود در نعناع، ویروس‌ها و میکروب‌ها را از راه تحریک گلبول‌های سفید خون از بین می‌برد. اسانس نعناع خاصیت ضدمیکروبی، ضدویروسی، ضدتومور و تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی دارد (Mckay and Blumberg, 2006). مطالعه‌ای دیگر نشان داد که استفاده از اسانس نعناع در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی، پاسخ ایمنی آن‌ها را تقویت نمی‌کند (Abdulkarimi *et al*., 2011). استفاده از نعناع در جیره طیور گوشتی، آثار معنی‌داری روی عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و خصوصیات لاشه داشته، ولی آثار معنی‌داری روی سیستم ایمنی، بجز سطوح هتروفیل و لنفوسیت‌ها، ندارد. مطالعه‌ای دیگر، بهبود معنی‌داری را در خصوصیات عملکردی تمام تیمارهای استفاده کننده از نعناع نسبت به گروه شاهد، نشان داد (Hosseini-Mansoub, 2011). همچنین نسبت هتروفیل به لنفوسیت، تفاوت معنی‌داری بین همه تیمارها با گروه شاهد داشت (Galib Al-Kassie, 2010).

در مجموع به نظر می‌رسد که استفاده از تیمارهای گیاهی در این آزمایش موجب برگشت قابلیت حیاتی انفجار تنفسی به وسیله سلول‌های فاگوسیت‌کننده می‌شود و بدین ترتیب بر آثار منفی تنش فائق می‌آید. همچنین استفاده از این تیمارها در شرایط تنش موجب افزایش قابلیت تکثیر لنفوسیت‌ها می‌شود. ایمنی سلولی پرندگان تیمار شده در این آزمایش تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان ندادند و این اثر احتمالاً به دلیل پیچیدگی پاسخ‌های ایمنی سلولی است؛ بنابراین می‌توان حدس زد که افزایش تکثیر لنفوسیتی که در اثر استفاده از اسانس‌ها مشاهده شد بیشتر مربوط به پلاریزه شدن پاسخ لنفوسیت‌های T به سمت دسته‌ای از لنفوسیت‌های T موسوم به Th2 شد. دسته Th2 در ایجاد و گسترش پاسخ‌های ایمنی هومورال نقش دارد، در حالی‌که پاسخ‌های ایمنی سلولی به وسیله دسته‌ای از لنفوسیت‌های T کمکی موسوم به Th1 ایجاد می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، به نظر می‌رسد که استفاده از اسانس‌های گیاهی نعناع و اکالیپتوس، خصوصاً در حالت ترکیب با هم، به عنوان افزودنی خوراکی در جیره غذایی یا آب آشامیدنی طیور می‌تواند سبب تقویت سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی و ایجاد تیترهای بالاتر آنتی‌بادی شود.

فهرست منابع

محبوبی م.، اکبری م.، و کاظم‌پور ن. ۱۳۸۶. مقایسه اثر ضد میکروبی رسیپتول B حاوی منتول و اسانس اکالیپتوس با منتوفین، منتول، اسانس اکالیپتوس، میکروب شناسی پزشکی ایران، ۱(۱): ۳۹-۴۵.

مرتضوی م. ج.، جعفرزاده ع.، خسروی م. ح.، احمدی ج.، مهدی پور ل.، به‌نژاد ب.، پورغلامی م.، و منشوری آ. ۱۳۸۶. اثر دوزهای کم پرتو ایکس بر پاسخ‌های ایمنی سلولی و همورال در موش. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۶(۱): ۷۷-۸۴.

Abd El–Motaal A. M., Ahmed A. M. H., Bahakaim A. S. A. and Fathi M. M. 2008. Productive performance and immunocompetence of commercial laying hens given diets supplemented with eucalyptus. International Journal of Poultry Science, 7 (5): 445-449.

Abdulkarimi R. and Abdullahzadeh F. 2011. The effect of mentha extract (*Mentha piperita*) on immune response in broiler chickens. Journal of American Science, 7 (12): 82-85.

Abtahi Froushani S. M., Delirezh N., Hobbenaghi R. and Mosayebi G. 2014. Synergistic effects of atorvastatin and all-trans retinoic acid in ameliorating animal model of multiple sclerosis. Immunological Investigations, 43(1): 54-68.

Aggarwal A. and Upadhyay R. 2013. Heat stress and animal productivity. Springer India.

Awaad M. H. H., Abdel-Alim G. A., Sayed K. S. S., Kawkab Ahmed A., Nada A. A., Metwalli A. S. Z. and Alkhalaf A. N. 2010. Immunostimulant effects of essential oils of peppermint and eucalyptus in chickens. Pakistan Veterinary Journal, 30(2): 61-66.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils (a review). Food Chemical Toxicology, 46: 446-475.

Barbour E. K., Shaib H., Azhar E., Kumosani T., Iyer A., Harakeh S., Damanhouri G., Chaudary A. and Bragg R. R. 2013. Modulation by essential oil of vaccine response and production improvement in chicken challenged with velogenic Newcastle disease virus. Journal of Applied Microbiology, 115: 1364-5072.

Bartlett J. R and Smith M. O. 2003. Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. Poultry Science, 82: 1580-1588.

Bonnet S., Geraert P. A., Lessire M. and Carre B. 1997. Effect of high ambient temperature on feed digestibility in broilers. Poultry Science, 76: 857-863.

Borges S. A., Fischer D. A., Silva A. V., Majorka A., Hooge D. M. and Cummings K. R. 2004. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride, miliequivalents per kilogram). Poultry Science, 83: 1551-1558.

Bozkurt M., Kucukvilmaz K., Catli A. U., Cinar M., Bintas E. and Coven F. 2012. Performance, egg quality, and immune response of laying hens fed diets supplemented with manna-oligosaccharide or an essential oil mixture under moderate and hot environmental conditions. Poultry Science, 91: 1379-1386.

Brisbin J. T., Gong J., Lusty C. A., Sabour P., Sanei B., Han Y., Shewen P. E. and Sharif S. 2008. Influence of in-feed virginiamycin on the systemic and mucosal antibody response of chickens. Poultry Science, 87: 1995-1999.

Çarli K. T., Önat K. and Günaydin E. 2008. Application of Mentofin® in broilers with clinical infectious bursal disease to reduce escherichia coli related problems after vaccination against Newcastle disease. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 32(2): 73-78.

Cross D. E., Mcdevitt R. M., Hillman K. and Acamovic T. 2007. The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. British Poultry Science, 48: 496-506.

Debski B., Zalewski W., Gralak M. A. and Kosla T. 2004. Choromium yeast supplementation of broiler in an industrial farming system. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 18: 47-51.

Deng W., Dong X. F., Tong J. M. and Zhang Q. 2012. The probiotic *Bacillus licheniformis* ameliorates heat stress-induced impairment of egg production, gut morphology, and intestinal mucosal immunity in laying hens. Poultry Science, 91: 575-582.

Dong X. F., Gao W. W., Tong J. M., Jia H. Q., Sa R. N. and Zhang Q. 2007. Effect of Polysavone (alfalfa extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens. Poultry Science, 86(9): 1955-1959.

Donkoh A. 1989. Ambient temperature: a factor affecting performance and physiological response of broiler chickens. International Journal of Biometerology, 33: 259-26.

Dorman H. J. D., Kosar M., Kahlos K., Holm Y. and Hiltunen R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 4563-4569.

Felver-Gant J. N., Mack L. A., Dennis R. L., Eicher S. D. and Cheng H. W. 2012. Genetic variations alter physiological responses following heat stress in 2 strains of laying hens. Poultry Science, 91: 1542-1551.

Galib A. M and Al-kassie. 2010. The role of peppermint (*Mentha piperita*) on performance in broiler diets. Agriculture and Biology Journal of North America, 1(5): 1009-1013.

Garcia N. M., Pesti G. M. and Bakalli R. I. 2000. Influence of dietary protein level on the broiler chicken's response to methionine and betaine supplements. Poultry Science, 79: 1478-1484.

Garriga C., Hunter R. R., Amat C., Planas J. M., Mitchell M. A. and Moreto M. 2005. Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum. American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 290: 195-201.

Gopal M., Shamanna M., Sathya C. P. and Das D. 2013. Immunomodulatory constituents from plant origins (a review) of isolated biomolecules. International Journal of Pharma Sciences and Research, 4: 2459-2469.

Guo F. C., Kwakkel R. P., Williams B. A., Parmentier H. K., Li W. K., Yang Z. Q. and Verstegen M. W. A. 2004. Effects of mushroom and herb polysaccharides on cellular and humoral immune responses of *Eimeria tenella*-infected chickens. Poultry Science, 83: 1124-1132.

Hassan A. M., Mayabdelazeem H. and Reddy P. G. 2009. Effect of some water supplements on the performance and immune system of chronically heat-stressed broiler chicks. International Journal of Poultry Science, 8: 432-436.

Hernandez F., Madrid J., Garcia V., Orengo J. and Megias M. D. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility and digestive organ size. Poultry Science, 83: 169-174.

Hosseini Mansoub N. 2011. The evaluation of different levels of Menta pulagum on performance, and blood parameters of broilers. Journal of American Science, 7(8): 338-341.

Huda M. S. E., Mohamed K. A. and Mukhtar A. 2015. Effect of spearmint (*Mentha spicata*) on performance and blood serum parameter of broiler. Journal of Social Science Research, 8: 1600-1606.

Juergens U. R., Stober M. and Vetter N. 1998. Steroid-like inhibition of monocyte arachidonic acid metabolism and IL-1b production by eucalyptol (1.8-cineol) (in German). Atemw-Lungenkrkh, 24.

Khodambashi Emami N., Samie A., Rahmani H. A. and Ruiz-Feria C. A. 2012. The effect of peppermint essential oil and fructooligosaccharides, as alternatives to virginiamycin, on growth performance, digestibility, gut morphology and immune response of male broilers. Animal Feed Science and Technology, 175: 57-64.

Kim G. B., Seo Y. M., Kim C. H. and Paik I. K. 2011. Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers. Poultry Science, 90: 75-82.

Kraft K. and Hobbs C. 2004. Pocket guide to herbal medicine, New York, Thieme Stuttgart, 1(3): 61-62.

Lavina S., Dumitrescu G., Drinceanu D. and Stef D. 2009. The effect of medicinal plants and plant extracted oils on broiler duodenum morphology and immunological profile of broiler. Romanian Biotechnological Letters, 9: 1906-1914.

Lebman D. A. and Coffman R. L. 1988. Interleukin 4 causes isotype switching to IgE in T cell-stimulated clonal B cell cultures. The Journal of Experimental Medicine, 168: 853-862.

Lee K. W., Everts H., Kappert H. J., Losa R. and Beynen A. C. 2004. Growth performance of broiler chickens fed a carboxymethyl cellulose containing diet with supplemental carvacrol and/or cinamaldehyde. International Journal of Poultry Science, 9: 619-622.

Lin H., Jiao H. C., Buyse J. and Decuypere E. 2005. Strategies for preventing heat stress in poultry. World's Poultry Science Journal, 62: 71-86.

Mckay D. L. and Blumberg J. B. 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita L*). Phytotherapy Research, 20: 619-633.

Mujahid A., Pumford N. R., Bottje W., Nakagawa K., Miyazawa T., Akiba Y. and Toyomizu M. 2007. Mitochondrial oxidative damage in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. Journal of Poultry Science, 44: 439-445.

Mujahid A., Yoshiki Y., Akiba Y. and Toyomizu M. 2005. Superoxide radical production in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. Poultry Science, 84: 307-314.

Niu Z., Li Y. and Yan Q. Z. 2009. Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. Poultry Science, 88(10): 2101-2107.

Ocak C., Erener G., Burak A. K. F., Sungu M., Altop A. and Ozmen A. 2008. Performance of broilers fed diets supplemented with dry peppermint (Mentha piperita L) or thyme (*Thymus vulgaris L*) leaves as growth promoter source. Czech Journal of Animal Science, 53: 169-175.

Pourtayeb S. and Abtahi S. M. 2017. Nicotine can modulate the effects of the mesenchymal stem cells on neutrophils. Advances in Medical Sciences, 62(1): 165-170.

Quinteiro-Filho W. M., Gomes A. V., Pinheiro M. L., Ribeiro A., Ferraz-de-Paula V., Astolfi-Ferreira C. S., Ferreira A. J. and Palermo-Neto J. 2012. Heat stress impairs performance and induces intestinal inflammation in broiler chickens infected with Salmonella Enteritidis. Avian Pathology, 41: 421-427.

Rashidi A. A., GofraniIvari Y., Khatibjoo A. and Valkilia R. 2010. Effect of dietary fat, vitamin E and Zinc on immune response and blood parameters of broiler reared under heat stress. Research Journal of Poultry Science, 3(2): 32-38.

Riechelmann H., Brommer C. and Hinni M. 1997. Response of human ciliated respiratory cells to a mixture of menthol, eucalyptus oil and pine needle oil. Arzneimittelforschung, 47: 1035-1039.

Savoini G. and Bontempo V. 2002. Alternative antimicrobials in the nutrition of postweaning piglets. Veterinary Record, 151(19): 577-580.

Serafino A., Vallebona P. S., Andreola F., Zonfrillo M., Mercuri L., Federici M., Rasi G., Garaci E. and Pierimarchi P. 2008. Stimulatory effect of Eucalyptus essential oil on innate cell-mediated immune response. BMC Immunology, 9: 17.

Sharma J. M., Kim I. J., Rautenschlein S. and Yeh H. Y. 2000. Infectious Bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. Developmental and Comparative Immunology, 24: 223-235.

Teeter R. G. and Belay T. 1996. Effects of ambient temperature on broiler mineral balance partitioned into urinary and faecal loss. British Poultry Science, 37: 423- 433.

Xiaoyu D., Yanlong C., Renfu Y., Guilian Y., Chan D., Shengqing Y., Xiufan L., Chunfeng W. and Zhuang D. 2014. Proteomic analysis of chicken peripheral blood mononuclear cells after infection by Newcastle disease virus. Journal of Veterinary Science, 15(4): 511-517.

Yalcin S., Settar P., Ozkan S. and Cahaner A. 1997. Comparative evaluation of three commercial boiler stocks in hot versus temperate climates. Poultry Science, 76: 921-929.

Zulkifi H., Norma M. and Omar A. 2000.The effect of early age feed restriction on subsequent response to high envirmental temperatures in female broiler chickens. Poultry Science, 79: 1401-1407.

Animal Production Research

Vol. 9, No. 3, 2020 (17-30)

University of Guilan

Research paper

Effect of spearmint and eucalyptus essential oils on performance, carcass characteristics and immune system of broiler chickens under thermal stress conditions

N. Asgharian[1*], R. Najafi Gharajeh[2], M. Abtahi Froushani[3]

1. MSc. Graduated student, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Urmia, Urmia, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Urmia, Urmia, Iran
3. Assistant professor, Division of Immunology, Department of Microbiology, Veterinary Faculty, University of Urmia, Urmia, Iran

(Received: 11-03-2018 – Accepted: 27-07-2019)

Abstract

This study was conducted to evaluate the effect of spearmint and eucalyptus essential oils on growth performance, carcass traits and immune system performance of broiler chickens under heat stress conditions. Two hundred and fifty one day-old broilers (Ross- 308) were randomly divided into five treatments in five replicates with 10 birds per replicate from 1 to 42 days of age, in a completely randomized design. Treatments included: 1. Negative control (under normal temperature conditions), 2. Positive control (under heat stress conditions), 3. Positive control+0.5 mL spearmint essential oil per liter of drinking water, 4. Positive control+0.5 mL eucalyptus essential oil per liter of drinking water, and 5. Positive control+0.5 mL spearmint essential oil+0.5 mL eucalyptus essential oil per liter of drinking water. Heat stress was applied in the grower period (26-42) at 32 ± 1 °C (9 am to 5 pm). The results showed that in the grower period and the entire trial period, heat stress reduced feed intake ($P<0.05$). Thermal stress increased the relative weight gain of the entire intestine and decreased the relative weight loss of the thighs ($P<0.05$), also reduced the lymphocyte proliferation and survival ($P<0.05$), and decreased the intensity of peripheral blood phagocytic respiration ($P<0.01$). However, the use of eucalyptus essential oil and a mixture of two essential oils (eucalyptus+ spearmint) improved the lymphocyte propagation and compensated for the reduction of heat stress ($P<0.05$). In addition, the combined use of spearmint and eucalyptus essential oil improved the intensity of respiratory explosion in macrophages compared with negative and positive control treatments ($P<0.01$). In general, the use of essential oils improved immune function but did not affect the performance of broiler chicks.

Keywords: Spearmint essential oil, Eucalyptus essential oil, Heat stress, Broiler chick, Immune system

*Corresponding author: asqarian.n@yahoo.com

doi: 10.22124/ar.2019.9963.1296