Animal Production Research

Vol. 11, No. 1, 2022 (27-38)
doi: 10.22124/AR.2022.19209.1603
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effect of adding *Mentha piperita* powder on performance, immune system, and blood parameters of broilers under ascites induction conditions

M. H. Nemati[1*], F. Amanlou[2], M. H. Shahir[3]

1. Assistant Professor, Animal Science Research Department, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zanjan, Iran
2. Former MSc Student in Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Zanjan, Zanjan, Iran
3. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: 20-03-2021 – Accepted: 01-05-2021)

Introduction: Increasing the growth rate has made broilers susceptible to environmental stresses and has reduced the bird's ability to confront oxidative stresses and has increased the incidence of metabolic diseases, especially ascites syndrome. Oxidative stress is caused by an imbalance between the production of free radicals in the body and antioxidant defense mechanisms and it is one of the effective factors in increased pulmonary blood pressure. Peppermint with the scientific name of *Mentha piperita* stimulates growth and immune response and in addition to antibacterial and antifungal effects, it has antioxidant properties. The most important constituents of this plant are menthol, menthone, and methyl acetate, which in low concentrations, dilate blood vessels and reduce the production of malondialdehyde. This experiment was performed to evaluate the effects of adding peppermint powder on the performance, immune response, and blood parameters of broilers under ascites induction conditions.

Materials and methods: After preparing the dry powder of the peppermint plant, the amount of essential oils was extracted using a Clevenger apparatus, and the active substances, volatile and phenolic compounds were measured using a GC-Mass spectrometry. 600 male Ross broilers were used in a completely randomized design with six treatments, five replications, and 20 chicks per experimental unit from 10 to 42 days of age. Diets were adjusted based on the nutritional needs of the Ross strain. Experimental treatments were included: 1) positive control (without induction of ascites and without adding the antioxidant), 2) negative control (induction of ascites without adding the antioxidant), 3) vitamin C (induction of ascites with 400 mg/kg diet), 4) vitamin E (induction of ascites with 200 mg/kg diet), 5) and 6) levels of one and two percentages of peppermint powder with induction of ascites, respectively. To induce ascites, chickens were given water containing 1,200 mg/L sodium (3 g/L NaCl) from day 15 of the experiment. During the experimental period, performance traits (body weight and feed intake) were recorded and on day 38 of the experiment, two blood samples from each replication were taken to measure blood parameters (glucose, total protein, albumin, cholesterol, triglyceride, high-density lipoprotein (HDL) and low-density lipoprotein (LDL)). At the end of the experiment, two chicks of each replication were slaughtered to measure immune organs. The ratio of the right ventricle to the total ventricle (RV / TV) was also considered to be an anatomical indicator of ascites. To measure the humoral immune response, 10 % SRBC suspension solution was injected intravenously, and to measure the cellular immune response, 0.1 mL of phytohemagglutinin was injected between the toes of the bird's right toes.

* Corresponding author: nemati.mh1354@gmail.com

CC BY

Results and discussion: Laboratory analysis of peppermint powder showed that the most active compounds and substances included menthol with 46.21 % and dihydrocarole acetate with 16.19 %. The total essential oil content of peppermint was measured as 1.1 %. Results showed that body weight gain and feed conversion ratio decreased significantly under the ascites induction (P<0.05). The use of antioxidant compounds of vitamin C and vitamin E, as well as peppermint powder at the level of one percent, led to their improvement (P<0.05). Feed intake was not affected by experimental treatments. The weight of the spleen and bursa of Fabricius as a percentage of live weight was not affected by experimental treatments. The ratio of the right ventricle to the total ventricle (ascites index) showed a significant tendency (P = 0.08) and the ascites index was relatively improved as a result of using antioxidant vitamins and peppermint powder. Blood parameters were not affected by experimental treatments. Induction of ascites decreased cellular immune response (PHA) (P<0.05), and antioxidant treatments, especially vitamin C, improved it. Humoral immune response was not affected by experimental treatments. The role of plant compounds as natural growth stimulants in broiler feed has been proven, although their growth stimulation mechanisms are still unclear. Medicinal plants have active aromatic compounds and they have beneficial effects on gastrointestinal health and bird performance. The effect of antioxidants on reducing the incidence of ascites is due to the elimination of free radicals, reduced blood density, and reduced resistance to pulmonary blood flow. Many of the active substances in medicinal plants prevent lipid peroxidation and improve bird performance by scavenging free radicals or by activating antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase. The effectiveness of plant materials used in feeding broilers depends on factors such as the composition and level of plant material added to the diet, bird genetics, diet composition, and farm management.

Conclusions: In general, the results of this study showed that the use of antioxidant compounds, especially vitamin C has a more effective role in improving performance, and the level of one percent peppermint powder in the diet can be used as an effective antioxidant compound in ascites syndrome.

Keywords: Ascites, Antioxidant, Broiler, Performance, *Mentha piperita*

Ethics statement: This study was conducted with the full consideration of animal welfare and the approval of this study was granted by the Ethics Committee of Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Iran.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

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:

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

تحقیقات تولیدات دامی

سال یازدهم/شماره اول/بهار ۱۴۰۱ (۳۸-۲۷)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

اثر افزودن پودر نعناع فلفلی بر عملکرد، سیستم ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در شرایط القای آسیت

محمد حسین نعمتی[1*]، فرحناز امانلو[2]، محمد حسین شهیر[3]

۱- استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۱)

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثر افزودن پودر نعناع فلفلی بر عملکرد، سیستم ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در شرایط القای آسیت انجام شد. تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر راس در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و پنج تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد مثبت (بدون القای آسیت و بدون افزودن آنتی‌اکسیدان)، ۲- گروه شاهد منفی (القای آسیت بدون افزودن آنتی‌اکسیدان)، ۳- گروه ویتامین C (القای آسیت همراه با ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۴- گروه ویتامین E (القای آسیت همراه با ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۵ و ۶- به ترتیب سطوح یک و دو درصد پودر نعناع فلفلی همراه با القای آسیت بودند. برای القای آسیت از روز ۱۵ آزمایش آب حاوی ۱۲۰۰ میلی گرم در لیتر سدیم (سه گرم در لیتر نمک طعام) در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی متاثر از القای آسیت به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ویتامین C، ویتامین E و همچنین پودر نعناع فلفلی در سطح یک درصد منجر به بهبود صفات مذکور شد ($P<۰/۰۵$). در نتیجه القای آسیت، نسبت بطن راست به کل بطن تمایل به معنی‌داری نشان داد ($P=۰/۰۸$). القای آسیت منجر به کاهش پاسخ ایمنی سلولی شد ($P<۰/۰۵$) و تیمارهای آنتی‌اکسیدانی به ویژه ویتامین C منجر به بهبود آن شد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که در شرایط آسیت القا شده، استفاده از پودر نعناع فلفلی به میزان یک درصد، نتایج مثبت مشابه با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ویتامینی بر عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی دارد.

واژه‌های کلیدی: آسیت، آنتی‌اکسیدان، جوجه گوشتی، عملکرد، نعناع فلفلی

* نویسندهٔ مسئول: nemati.mh1354@gmail.com

doi: 10.22124/AR.2022.19209.1603

مقدمه

انتخاب ژنتیکی، سرعت رشد جوجه‌های گوشتی را افزایش داده و این عامل، طول دوره تولید را به میزان ۶۰ درصد در ۴۰ سال گذشته کاهش داده است (Hulet, 2007). افزایش سرعت رشد، جوجه‌های گوشتی را نسبت به تنش‌های محیطی حساس کرده و توانایی پرنده را برای مقابله با تنش‌های اکسیداتیو کاهش داده است (Havenstein, 2003). این امر بروز بیماری‌های متابولیکی را افزایش داده است.

تنش اکسیداتیو در اثر عدم توازن میان تولید رادیکال‌های آزاد در داخل بدن و ساز و کارهای دفاعی آنتی‌اکسیدانی حاصل می‌شود. یکی از مهمترین آثار رادیکال های آزاد در دیواره سلولی موجودات هوازی، پراکسیداسیون لیپید است. مطالعات نشان داده‌اند که تولید زیاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) که شامل رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپراکسید و پراکسید هیدروژن هستند می‌توانند در آسیب به DNA، اکسیداسیون پروتئین و پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌های زنده و سلول‌ها نقش داشته باشند (Liang and Yue, 2010).

سندرم آسیت به سه دلیل عمده افزایش فشار خون ریوی، آسیب‌های گوناگون قلبی و آسیب‌های سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد بروز می‌کند. تنش اکسیداتیو یکی از عوامل موثر در بروز افزایش فشارخون ریوی است. پاسخ اولیه قلب به افزایش تنش، هیپرتروفی و اتساع بطن راست است که طی این فرآیند، نسبت بطن راست به کل بطن (RV/TV) به عنوان شاخص آناتومیکی مهم افزایش می‌یابد. چنانچه این نسبت به بیش از ۰/۲۵ برسد به عنوان نقطه شروع آسیت تلقی می‌شود (Currie, 1999; Bautista-Ortega and Ruiz-Feria, 2010).

برای محافظت در برابر تنش‌های اکسیداتیو (عامل اصلی بروز سندرم آسیت در جوجه‌های گوشتی)، موجودات زنده دارای یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ترکیبی هستند که شامل ترکیبات سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی (در سیتوزول و ساختمان غشای سلولی) و سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی است. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مثل کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز برای شکستن واکنش‌های رادیکال آزاد با استفاده از ساز و کار واکنش زنجیره‌ای توانایی دارند (Benzie, 2003). آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مهم در پلاسما و بافت‌ها جهت جلوگیری از واکنش‌های ROS شامل گلوتاتیون، پلی‌فنل‌ها، کارتنوئیدها، دی‌پپتیدهای ویژه، پروتئین‌های محتوی گروه تیول، پلی‌آمین‌ها، ابی‌کینول، فلاونوئیدها، ویتامین E به همراه سلنیوم، ویتامین C، بیلی‌روبین و اسید اوریک هستند. بعضی از این آنتی‌اکسیدان‌ها به وسیله موجودات زنده تولید می‌شوند، در حالی که بعضی دیگر باید از راه جیره تامین شوند (Strain, 1999).

استفاده از گیاهان دارویی و مشتقات آن در دو دهه اخیر از رشد قابل توجهی برخوردار بوده است. سهولت دسترسی، نداشتن مشکلات جانبی، کاهش استفاده از داروها و افزودنی‌هایی با منشاء شیمیایی، ارتقاء سطح ایمنی، اصلاح فراسنجه‌های خونی، و بهبود کمیت و کیفیت فرآورده‌های تولیدی طیور از جمله دلایل رواج استفاده از گیاهان دارویی در طیور است (Lee *et al.,* 2003; Asgharian *et al.*, 2020). گیاه نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* گیاهی علفی، پایا و چند ساله از تیره نعناعیان است. از جمله خواص این گیاه می‌توان به آثار تحریک‌کنندگی رشد و سیستم ایمنی و همچنین آثار ضد اسپاسم و ضدالتهابی، ضد سرطان، اشتها آوری، خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی آن اشاره داشت (Talpur, 2014). از مهمترین ترکیبات تشکیل‌دهنده این گیاه می‌توان به منتول (Menthol)، منتون (Mentone) و متیل استات (Methyl acetate) اشاره داشت. منتول در غلظت‌های کم به‌طور انتخابی باعث گشاد شدن عروق شده و موجب بروز اثر ضد درد می‌شود (Mahboubi and Haghi, 2008). همچنین گزارش شده که پودر نعناع فلفلی از راه کاهش فعالیت رادیکال آزاد ۲-۲-دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (۲-۲-diphenyl-1-picrylhydrazyl) و کاهش تولید مالون دی آلدئید (MDA) در مقایسه با گروه شاهد، اثر سودمندی داشت (Khempaka *et al.,* 2013).

در خصوص استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و گیاهان دارویی در شرایط آسیت، تحقیقات چندانی صورت نگرفته است، لذا با توجه به حساسیت جوجه‌های گوشتی به سندرم آسیت، این تحقیق به منظور بررسی نقش حفاظتی پودر

نعناع فلفلی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک ویتامین C و ویتامین E بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط آسیت القا شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

در فصل تابستان و پس از برداشت گیاه دارویی نعناع فلفلی، محصول در دمای اتاق خشک شد. پس از تهیه پودر خشک گیاه نعناع فلفلی، مقدار اسانس موجود در آن با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج و مواد موثره، ترکیبات فرار و فنلی موجود در آن با استفاده از دستگاه GC-Mass اندازه گیری شد. دستگاه مورد استفاده گاز-کروماتوگرافی از نوع Thermo-UFM با ستون موئینه Ph-5 به طول ۱۰ متر و قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۴ میکرومتر بود.

نتایج مربوط به تجزیه ترکیبات اسانس نعناع فلفلی با استفاده از دستگاه GC/MS در جدول ۱ نشان داده شده است. بیشترین ترکیبات شامل منتول با ۴۶/۲۱ درصد و دی‌هیدرو کاروئول استات با ۱۶/۱۹ درصد بود. میزان اسانس کل موجود در برگ گیاه دارویی نعناع فلفلی ۱/۱ درصد اندازه‌گیری شد. در ادامه، تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه نر راس با میانگین وزنی ۲۵±۲۹۰ گرم در سن ۱۰ روزگی انتخاب و به تعداد ۲۰ قطعه در هر واحد آزمایشی قرار داده شدند. جوجه‌ها از سن ۱۱ تا ۲۴ روزگی با جیره رشدی و از سن ۲۵ تا ۴۲ روزگی با جیره پایانی بر اساس احتیاجات غذایی سویه راس تغذیه شدند (جدول ۲). تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) گروه شاهد مثبت (بدون القای آسیت و بدون افزودن آنتی‌اکسیدان)، ۲) گروه شاهد منفی (القای آسیت بدون افزودن آنتی‌اکسیدان)، ۳) گروه ویتامین C (القای آسیت همراه با۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۴) گروه ویتامین E (القای آسیت همراه با ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، ۵) گروه نعناع فلفلی یک درصد همراه با القای آسیت و ۶) گروه نعناع فلفلی دو درصد همراه با القای آسیت بودند. برای القای آسیت در این آزمایش از سن ۱۵ روزگی، آب حاوی ۱۲۰۰ میلی گرم در لیتر سدیم (سه گرم در لیتر نمک طعام) در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت (Xiang *et al.,* 2004).

جدول ۱- نتایج تجزیه اسانس نعناع فلفلی با استفاده از GC/MS

Table 1. Results of *Mentha Piperrita* essential oil analysis using GC/MS

Row	Composition	R.I.*	Percent
1	α-pinene	946	0.81
2	Sabinen	975	0.57
3	β-pienene	978	0.22
4	p-mentha-1(7),8-diene	1007	1.52
5	2-heptyl acetate	1041	0.16
6	(E)-β-ocimene	1046	0.14
7	Isopentyl butanoate	1055	2.27
8	-terpineneγ	1063	6.31
9	Camphenilone	1081	0.29
10	Linalool	1097	0.72
11	2,6-dimethyl phenol	1108	0.22
12	1,3,8-p-menthatriene	1111	0.19
13	Heptyl acetate	1117	0.15
14	Terpin-4ol	1177	1.22
15	-terpineolγ	1202	8.92
16	Trans-p-menthan-2-one	1205	4.27
17	2-isopropyl-5-methylcyclohexanol (menthol)	1216	46.21
18	Cis- sabiene hydrate acetate	1222	0.61
19	Cis-pulegol	1230	2.22
20	pulegone	1235	0.14
21	p-menth-1-en-9-ol	1295	0.70
22	Carvacrol	1300	0.29
23	Dihydro carveol acetate	1309	16.19
24	Iso-dihydro carveol acetate	1329	1.10
25	piperonal	1333	0.22
26	-copaeneβ	1431	0.29
27	Dehydro-aromadendrene	1464	0.35

28	Isobornyl n-butanoate	1476	1.89
29	Trans-calamenene	1531	1.40
30	n-tetradecanol	1607	0.27

* Retention Index

جدول ۲- اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی (۴۲-۱ روزگی)

Table 2. Ingredients and chemical composition of the diet (1-42 days old)

Ingredient	Stater (0-10 days old)	Grower (11-24 days old)			Finisher (25-42 days old)		
Mentha Piperita	0	0	1	2	0	1	2
Corn	54.23	60.32	58.23	56.15	65.54	63.46	61.27
Soybean meal	39.6	43.35	34.75	35.14	29.11	29.51	29.90
Soybean oil	2.00	1.42	2.11	2.81	1.81	2.50	3.19
Calcium carbonate	1.25	1.19	1.19	1.18	1.09	1.09	1.08
Dicalcium phosphate	1.73	1.56	1.57	1.58	1.35	1.35	1.36
Salt(Iodized)	0.35	0.31	0.31	0.31	0.29	0.29	0.29
Vitamin premix [1]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Mineral premix [2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine	0.19	0.16	0.16	0.16	0.11	0.11	0.11
L-lysine	0.15	0.19	0.18	0.17	1.20	0.19	0.20
Sum	100	100	100	100	100	100	100
Analysed composition							
Metabolizable energy (Kcal/kg)	2900	2908	2908	2908	3000	3000	3000
Crude protein (%)	22	20.1	20.1	20.1	18.3	18.3	18.3
Calcium (%)	1	0.9	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8
Available Phosphorus (%)	0.5	0.45	0.45	0.45	0.4	0.4	0.4
Sodium (%)	0.19	0.18	0.18	0.18	0.17	0.17	0.17
Lysine (%)	1.4	1.29	1.29	1.29	1.16	1.16	1.16
Methionin ((%)	0.55	.50	.50	.50	0.43	0.43	0.43
Methionin +Cyst(e)ine (%)	1	0.93	0.93	0.93	0.83	0.83	0.83
Thronin (%)	0.93	0.86	0.86	0.85	0.78	0.78	0.78
Arginine (%)	1.54	1.4	1.4	1.4	1.28	1.28	1.28

[1] Supplied per kg of diet : all-trans retinyl acetate, 3.7mg; cholecalciferol, 0.06 mg; DL-α-tocopheryl acetate, 16.4 mg; menadione (as menadion sodium bisulphate), 2.4 mg; thiamine (as thiamine hydrochloride), 2 mg; riboflavin, 7.9 mg; niacin, 11.7 mg; pantothenic, 35.6 mg; pyridoxine, 3.5 mg; folic acid, 1.2 mg; biotin, 0.12 mg; cyanocobalamin, 0.02 mg; choline choloride, 300 mg; antioxidant, 1.2 mg.

[2] Supplied per kg of diet: Mn, 48 mg; Zn, 48 mg; Fe, 24 mg; Cu, 7 mg; I, 0.6 mg; Se, 0.15 mg.

برای اندازه‌گیری غلظت گلوکز، پروتئین تام، آلبومین، کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) و با چگالی پایین (LDL) خون، نمونه‌های خون در روز ۳۸ پرورش از تعداد دو قطعه پرنده به ازای هر تکرار گرفته شد. مقدار این فرا سنجه‌ها با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و روش اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

همچنین برای سنجش ایمنی هومورال، در روزهای ۲۵ و ۳۲ آزمایش، دو پرنده از هر تکرار انتخاب و مقدار ۰/۸ سی سی محلول سوسپانسیون SRBC (۱۰ درصد) از راه ورید بال به پرندگان تزریق شد. هفت روز بعد از تزریق، نمونه‌های خون از پرندگان مزبور جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شده و سرم جدا شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. برای تعیین عیار پاسخ کل از روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر (Isakov *et al.,* 2005) و برای اندازه گیری IgG و IgM که اجزاء پاسخ به SRBC هستند با جداسازی آنتی بادی مقاوم به مرکاپتواتانول (MER) که در حقیقت IgG است و کسر این مقدار از پاسخ کل، آنتی بادی حساس به مرکاپتو اتانول (MES) بدست آمد که معرف IgM است (Cheema *et al.,* 2003).

برای سنجش پاسخ حساسیت بازوفیلی جلدی (CBH) در سن ۳۸ روزگی، تعداد دو پرنده از هر تکرار مشخص و بعد از اندازه‌گیری ضخامت پرده بین انگشتان هر دو پا، مقدار ۱۰۰ میکرو گرم فیتوهماگلوتنین (PHA-P, LOT 9102) (حل شده در ۰/۱ میلی لیتر سرم فیزیولوژی، ۱۰ میلی‌گرم PHA در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد) بین پرده پای انگشتان راست پرنده با استفاده از سرنگ انسولین تزریق

شـد. همچنین مقدار ۱۰۰ میکرولیتر سـرم فیزیولوژی به عنوان گروه شـاهد به پای چپ تزریق شـد. ضـخامت پرده بین انگشتان بعد از ۳۶ ساعت تزریق با استفاده از میکرو متر مدرج (کولیس) با دقت ۰/۰۱ میلی متر اندازه‌گیری شد. پاسخ CBH به‌صورت اختلاف بین ضخامت پرده بین انگشـتان در قبل و بعد از تزریق بر حسـب میلی متر بیان شد (Ahmed *et al.*, 2007).

پاسـخ التهابی = پاسـخ پرده انگشـت راسـت به PHA-P - پاسخ پرده انگشت چپ به سرم فیزیولوژیک

پاسخ پرده انگشت راست به PHA-P = ضخامت پرده بعد از تزریق PHA-P- ضخامت پرده قبل از تزریق

پاسـخ پرده انگشـت چپ به سـرم فیزیولوژیک= ضـخامت پرده بعد از تزریق سرم - ضخامت پرده قبل از تزریق

داده‌های جمع آوری شـده با اسـتفاده از نرم افزار Excel آماده و سـپس با اسـتفاده از رویه GLM نرم افزار SAS (9.1) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت (SAS, 2003). برای مقایسـه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سـطح معنی‌داری پنج درصـد اسـتفاده شـد. همچنین از روش مقایسات مستقل (Orthogonal) برای مقایسه بین گروه‌های تیماری (شاهد مثبت با شاهد منفی، شاهد منفی با گروه‌های ویتامینی، شاهد منفی با گروه‌های حاوی پودر نعناع فلفلی و گروه‌های ویتامینی با گروه‌های حاوی پودر نعناع فلفلی) استفاده شد.

نتایج و بحث

مقادیر دو ترکیب منتول و دی هیدرو کاروئول اسـتات که از ترکیبات کلیدی اسانس این گیاه نعناع فلفلی هستند در بین جمعیت‌ها متفاوت اسـت. تنوع در ترکیب اسـانس می‌تواند ناشی از تفاوت در ژنوتیپ، شرایط اکولوژیکی، آب و هوایی و زمان برداشـت، ارتفاع، سـاختار شـیمیوتایپی جمعیت‌ها و سال و عوامل زراعی باشد (Mahboubi and Haghi, 2008).

اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین فراسنجه‌های عملکردی جوجه‌های گوشـتی در طول دوره آزمایشـی در جدول ۳ نشـان داده شـده اسـت. نتایج نشـان داد که وزن بدن و افزایش وزن متاثر از القای آسیت به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). اسـتفاده از ترکیبات آنتی‌اکسـیدانی سـنتتیک ویتامین C و ویتامین E و همچنین پودر نعناع فلفلی در سطح یک درصد منجر به بهبود افزایش وزن در پرندگان تحت چالش آسیت شد ($P<۰/۰۵$). بالاترین وزن بدن و افزایش وزن در بین گروه های تیماری متاثر از چالش مربوط به گروه تیماری ویتامین C بود. از نظر خوراک مصـرفی، تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تیماری مشـاهده نشـد. ضـریب تبدیل غذایی تحت تاثیر چالش آسـیت به‌طور معنی‌داری افزایش نشـان داد و در بین گروه‌های آنتی‌اکسـیدانی، ویتامین C، ویتامین E و سـطح یک درصد پودر نعناع فلفلی توانست ضریب تبدیل غذایی را بهبود بخشد. مقایسات مستقل نشان داد که استفاده از ویتامین C و E در شـرایط تنش، آثار مثبت معنی‌داری بر افزایش وزن و ضـریب تبدیل غذایی در مقایسـه با پودر خشک گیاه نعناع فلفلی دارند ($P<۰/۰۵$).

بهبود وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی در شرایط تنش به واسطه استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و نعناع فلفلی به وسیله تعدادی از محققین (Ocak, 2008; Galib, 2010) گزارش شده است که هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر است. نشان داده شده که استفاده از سطوح ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد نعناع فلفلی خشک در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به بهبود افزایش وزن می‌شود (Galib, 2010). عدم وجود تفاوت معنی‌دار در خوراک مصرفی به واسطه استفاده از عصاره یا پودر نعناع فلفلی در جیره جوجه‌های گوشتی به وسیله تعدادی از محققین (Ocak *et al.*, 2008; Khempaka *et al.*, 2013) گزارش شده است که هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر است. عدم بهبود میانگین وزن بدن در گروه تیماری با دو درصد نعناع فلفلی در مقایسه با دیگر گروه‌های تیماری، به بالا بودن الیاف جیره مربوط می‌شود. به‌طور کلی، الیاف موجود در نعناع فلفلی منجر به پر شدن فیزیکی دستگاه گوارش، کاهش مصرف مواد مغذی، افزایش عبور مواد مغذی از دستگاه گوارش و کاهش جذب آنها می‌شود که در نهایت منجر به کاهش افزایش وزن متناسب با میزان خوراک مصرفی و افزایش ضریب تبدیل غذایی می‌شود. در مطابقت با یافته‌های پژوهش حاضر، کاهش معنی‌دار وزن بدن پرندگانی که دو درصد نعناع فلفلی در ۳۵ و۴۲ روزگی دریافت کرده بودند گزارش شده است (Khempaka *et al.*, 2013). گیاهان دارویی دارای ترکیبات آروماتیک فعال بوده و آثار مفیدی بر سلامت دستگاه گوارش و عملکرد پرنده دارند. میزان تاثیر مواد گیاهی مورد استفاده در تغذیه جوجه‌های گوشتی به عواملی چون ترکیب و سطح افزودن مواد گیاهی به جیره، ژنتیک پرنده،

ترکیب کلی جیره و مدیریت مزرعه بستگی دارد. بسیاری از تحقیقات، نقش ترکیبات گیاهی را به عنوان محرک رشد طبیعی غیرآنتی‌بیوتیکی در تغذیه جوجه‌های گوشتی تایید می‌کند، هر چند ساز و کارهای تحریک رشد آن‌ها هنوز مشخص نیست (Lee *et al.,* 2003; Frankic *et al.,* 2009). نتایج مربوط به اندام‌های ایمنی و شاخص آسیت (جدول ۴) نشان داد که وزن اندام‌های ایمنی طحال و بورس فابریسیوس به‌صورت درصدی از وزن زنده حیوان تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، گرچه در شرایط تنش القا شده، وزن نسبی بورس افزایش یافت. استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و نعناع فلفلی در شرایط القای آسیت منجر به کاهش نسبی اندازه قلب و نسبت بطن راست به کل بطن به عنوان شاخص آسیت شد، لیکن تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود. مقایسات مستقل نشان داد که نسبت بطن راست به کل بطن در شرایط القای آسیت تمایل به افزایش معنی‌دار داشت (P=۰/۰۸).

طحال اندامی است که لنفوسیت‌ها را برای تخریب و بازسازی سلول‌های قرمز پیر و فرسوده تولید می‌کند. در شرایط تنش، لنفوسیت‌ها کاهش و حجم خون و گلبول‌های قرمز افزایش می‌یابد. همچنین کاهش فعالیت طحال منجر به کاهش وزن آن می‌شود (Hangalapura, 2006). گزارش شده است که سلول‌های بورس، اولویت بالایی برای گلوکز، ایزولوسین و لیزین دارند و در شرایط تنش، توانایی خود را برای بدست آوردن گلوکز و لیزین بالا می‌برند (Humphrey *et al.,* 2006). آثار سودمند خواص آنتی‌اکسیدانی نعناع فلفلی بر اندام‌های ایمنی به واسطه ترکیبات فنولیکی و روغن‌های ضروری چون کافییک اسید و رزماریک اسید در شرایط تنش گزارش شده است (Khempaka, 2013).

افزایش وزن قلب و شاخص RV/TV در اثر القای آسیت و بهبود آن در نتیجه استفاده از ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدانی به وسیله تعدادی از محققین گزارش شده است (Blahova *et al.,* 2007; Daneshyar *et al.,* 2009; Tatli Seven, 2009; Nemati, *et al.,* 2017). در جوجه‌های گوشتی و در شرایط القای آسیت، قبل از بروز علایم سندرم آسیت، به طور معمول تغییرات آناتومیکی و هماتولوژیکی می‌تواند تشخیص داده شود. چنانچه نسبت بطن راست به کل بطن بیش از ۰/۲۵ باشد به عنوان نقطه شروع آسیت تلقی می‌شود (Huchzermeyer and De Ruyck, 1986). افزایش وزن قلب به خاطر افزایش نیاز به اکسیژن در شرایط تنش و فعالیت بالای قلب جهت تأمین این نیاز است که گاهی منجر به ایجاد هیپرتروفی بطن راست و آسیت می‌شود. گزارش شده است که اثر آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش بروز آسیت ناشی از حذف رادیکال‌های آزاد، کاهش دانسیته خون و کاهش مقاومت در برابر جریان خون ششی است (Bautista-Ortega and Ruiz-Feria, 2010; Rajani *et al.*, 2011).

اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی (جدول ۵) نشان داد که القای آسیت و استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مختلف، مقادیر گلوکز، آلبومین، گلوبولین، پروتئین کل، تری گلیسرید و اسید اوریک خون جوجه‌های گوشتی را تحت تاثیر قرار نداد.

جدول ۳- اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی (۱۱ تا ۴۲ روزگی)

Table 3. Effect of different experimental treatments on performance of broilers (11 to 42 days)

Variable	BW (g)	BWG (g)	FI (g)	FCR
PC	2519.3 [a]	2202.7 [ab]	4130.0	1.88 [b]
NC	2322.7 [b]	1983.6 [c]	4167.3	2.10 [a]
NC+Vit C (400 mg/kg)	2477.5 [ab]	2272.6 [a]	4284.3	1.89 [b]
NC+Vit E (200 mg/kg)	2450.8 [ab]	2161.3 [abc]	4209.0	1.95 [ab]
NC+ MP (1%)	2349.5 [ab]	2036.8 [bc]	4040.3	1.98 [ab]
NC+ MP (2%)	2267.5 [b]	1947.1 [c]	4101.5	2.11 [a]
SEM	64.49	67.53	132.36	0.6
P-value	0.08	0.02	0.83	0.05
Orthogonal contrasts		*P*-value		
NC *vs.* PC	0.03	0.03	0.85	0.02
NC *vs.* Vits	0.08	0.01	0.63	0.03
NC *vs.* MP	0.76	0.92	0.56	0.46
Vit E *vs.* Vit C	0.73	0.26	0.69	0.46
Vits *vs.* MP	0.03	0.004	0.20	0.06

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

BW: Body weight; BWG: Body weight gain; FI: Feed intake; FCR: Feed conversion ratio.

PC: Positive control (without induction of ascites and without adding the antioxidant); NC: Negative control (induction of ascites without adding the antioxidant); Vit C: Vitamin C; Vit E: Vitamin E; MP: *Mentha Piperita.*

جدول ۴- اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر اندام‌های ایمنی و شاخص آسیت در جوجه‌های گوشتی در شرایط القای آسیت

Table 4. Effect of different experimental treatments on immune organs and ascites index in broilers under ascites induction conditions

Variable	Spleen	Bursa of Fabricius	Heart	RV/TV
	% BW			
PC	0.130	0.135	0.50	0.21
NC	0.125	0.162	0.58	0.27
NC+Vit C (400 mg/kg)	0.130	0.195	0.56	0.23
NC+Vit E (200 mg/kg)	0.125	0.117	0.52	0.25
NC+ M P (1%)	0.125	0.132	0.50	0.24
NC+ M P (2%)	0.122	0.142	0.54	0.23
SEM	0.02	0.03	0.04	0.02
P-value	0.99	0.51	0.50	0.17
Orthogonal contrasts	*P*-value			
NC *vs.* PC	0.84	0.52	0.24	0.08
NC *vs.* Vits	0.91	0.86	0.66	0.29
NC *vs.* MP	0.95	0.50	0.91	0.17
Vit E *vs.* Vit C	0.84	0.08	0.35	0.54
Vits *vs.* MP	0.82	0.52	0.68	0.70

BW: Body weight; RV/TV: Right ventricular/total ventricular.

PC: Positive control (without induction of ascites and without adding the antioxidant); NC: Negative control (induction of ascites without adding the antioxidant); Vit C: Vitamin C; Vit E: Vitamin E; MP: *Mentha Piperita.*

افزایش نسبی در مقدار گلوکز، آلبومین و تری گلیسرید در نتیجه القای آسیت مشاهده شد. گزارشاتی مبنی بر عدم وجود تفاوت معنی‌دار از نظر میزان گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول سرم خون بین گروه‌های تیماری تحت تنش در مقایسه با گروه شاهد وجود دارد (Blahova *et al.*, 2007; Daneshyar *et al.*, 2009)، که نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌کنند. گزارش شده که استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدانی ویتامینی در شرایط القای آسیت تاثیری بر سطوح گلوکز پلاسما، پروتئین کل، آلبومین و کلسترول خون ندارد (Tatli Seven and Seven, 2009; Nemati *et al.,* 2017)، که هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر است. در یک پژوهش، کاهش معنی‌دار غلظت گلوکز خون در شرایط تنش در مقایسه با گروه شاهد گزارش شده است (Dadgar *et al.,* 2011)، در حالی که افزایش غلظت گلوکز در کبد جوجه‌های مبتلا به آسیت نیز گزارش شده و اشاره شده است که عمده گلوکز خون در شرایط تنش از پروتئین‌های پلاسما و از راه فرآیند گلوکونئوژنز حاصل می‌شود و بخش اندکی از تری‌گلسیریدهای خون در این فرآیند شرکت دارند (Diaz-Cruz *et al.,* 1996). یافته‌ها نشان دادند که در شرایط تنش، میزان پروتئین تام و اسید اوریک به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Blahova *et al.,* 2007)، در حالی که کاهش سطح پروتئین و آلبومین سرم در جوجه-های مبتلا به آسیت نیز گزارش شده است (Yersin *et al.,* 1992). تفاوت در نتایج بدست آمده احتمالاً مربوط به نوع تنش، شدت تنش، سن پرنده، سویه پرنده و ... است.

اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین فراسنجه‌های ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های گوشتی (جدول ۶) نشان داد که القای آسیت و استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مختلف تاثیری بر پاسخ ایمنی هومورال و سطح آنتی‌بادی کل، IgG و IgM ندارند. پاسخ به حساسیت بازوفیلی جلدی در پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتنین در زیر پوست بین انگشتان پا تحت تاثیر القای آسیت قرار گرفت و استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان ویتامینی و پودر نعناع فلفلی موجب بهبود معنی‌دار پاسخ ایمنی سلولی شد ($P<۰/۰۵$).

سرکوب سیستم ایمنی هومورال و کاهش پاسخ تیتر آنتی بادی به تزریق SRBC و کاهش ایمنی سلولی در شرایط تنش (Hester *et al.,* 1996; Svensson *et al.,* 1998) و بهبود پاسخ ایمنی سلولی در نتیجه افزودن آنتی‌اکسیدان ویتامینی (Gore and Qureshi, 1997; Nemati *et al.,* 2017; Asgharian *et al.*, 2020) گزارش شده است که

نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌کند. همچنین مشخص شده است که بعد از سیستم تنظیم دمایی، ایمنی ذاتی و ایمنی سلولی تقدم بالاتری نسبت به ایمنی هومورال و افزایش وزن دارند. در آزمایش حاضر، ایمنی هومورال کمتر از ایمنی سلولی تحت تاثیر تنش قرار گرفت (Hangalapura, 2006).

جدول ۵- اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در شرایط القای آسیت

Table 5. Effect of different experimental treatments on blood parameters of broilers under ascites induction conditions

Variable	Glucose (mg/dL)	Albumin (g/dL)	Globulin (g/dL)	TP (g/dL)	TG (mg/dL)	UA (mg/dL)
PC	184.8	1.77	1.79	3.56	100.5	5.63
NC	211.2	1.92	1.64	3.55	115.0	4.80
NC+Vit C (400 mg/kg)	186.8	1.80	1.63	3.43	87.8	4.03
NC+Vit E (200 mg/kg)	211.4	2.02	2.02	4.05	107.0	4.09
NC+ M P (1%)	186.6	1.83	1.91	3.74	97.25	4.11
NC+ M P (2%)	183.8	1.94	1.81	3.75	91.40	3.63
SEM	15.45	0.13	0.16	0.17	10.57	0.77
P-value	0.59	0.73	0.46	0.20	0.43	0.56
Orthogonal contrasts	*P*-value					
NC *vs.* PC	0.24	0.42	0.49	0.97	0.33	0.49
NC *vs.* Vits	0.53	0.96	0.33	0.40	0.17	0.43
NC *vs.* MP	0.18	0.83	0.26	0.39	0.10	0.32
Vit E *vs.* Vit C	0.27	0.24	0.08	0.02	0.24	0.95
Vits *vs.* MP	0.38	0.84	0.84	0.97	0.78	0.80

TP: Total protein; TG: Triglyceride; UA: Uric acid.

PC: Positive control (without induction of ascites and without adding the antioxidant); NC: Negative control (induction of ascites without adding the antioxidant); Vit C: Vitamin C; Vit E: Vitamin E; MP: *Mentha Piperita.*

نقش ویتامین E به عنوان شکننده زنجیر پراکسیدا سیون لیپیدها و حذف رادیکال‌های آزاد در غشا و اندام‌های داخل سلولی به خوبی شناخته شده است. هم‌چنین آثار این ویتامین بر ایمنی هومورال و ایمنی سلولی ثابت شده است (Niu *et al.,* 2009). مدارکی دال بر سرکوب سیستم ایمنی به وسیله سطوح بالای پروستاگلاندین‌ها وجود دارد. چون ماکروفاژها مسئول اصلی تولید پروستاگلاندین‌ها هستند، ویتامین E ممکن است از راه اثر آنتاگونیستی بر پراکسیدا سیون ا سید آرا شیدونیک و محدود نمودن ورود پیش‌ماده به چرخه تولید پرو ستاگلندین‌ها، نقش ا سا سی در کاهش تولید پروستاگلندین‌ها بازی کند (Gore and Qureshi, 1997). گزارش شده است که استفاده از ویتامین E در جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش آنتی‌بادی‌کل و IgM می‌شود، لیکن تاثیری بر IgG ندارد (Gore and Qureshi, 1997). همچنین گزارش شده است که استفاده از ویتامین E در جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش با ایمریا (عامل کوکسیدیوز) منجر به افزایش آنتی‌بادی‌کل، IgM و IgG می‌شود (Perez *et al.,* 2010). نشان داده شده است پاسخ تیتر آنتی‌بادی کل، IgM و IgG در شرایط تنش گرمایی کاهش می‌یابد و استفاده از ویتامین E در این شرایط منجر به بهبود پاسخ تیتر آنتی‌بادی کل، IgM و IgG می‌شود (Niu *et al.,* 2009).

بسیاری از اجزای فعال گیاهان دارویی از راه دفع رادیکال‌های آزاد یا از مسیر فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردکتاز از پراکسیداسیون لیپید جلوگیری می‌کنند. بررسی ساز و کار دقیق ضدمیکروبی گیاهان دارویی در شرایط درون‌تنی، به دلیل پیچیدگی زیاد و تعادل جمعیت‌های میکروبی دستگاه گوارش و واکنش ترکیبات فعال ناشی از گیاهان دارویی با سایر مواد غذایی مشکل است. تحقیقات متعدد در شرایط آزمایشگاهی فعالیت ضدمیکروبی قوی عصاره‌های گیاهی بخصوص علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را اثبات می‌کند. ساز و کار عمل محصولات گیاهان دارویی به خوبی مشخص نشده است، ولی پیشنهاد شده است که آنها نفوذپذیری غشاهای سلولی را تغییر می‌دهند و باعث نابودی باکتری‌های بیماری‌زا می شوند (Frankic *et al.,* 2009).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ویتامینی، بخصوص ویتامین C، نقش موثرتری در بهبود عملکرد داشته و سطح یک درصد پودر نعناع فلفلی در جیره می‌تواند به عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدانی موثر در شرایط آسیت مورد استفاده قرار گیرد.

جدول ۶- اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر فراسنجه‌های ایمنی هومورال و سلولی جوجه‌های گوشتی در شرایط القای آسیت

Table 6. Effect of different experimental treatments on humoral and cellular immune responses of broilers under ascites induction conditions

Variable	IgG	IgM	SRBC	CBH (cm)
PC	2.0	2.5	4.5	0.97 [ab]
NC	1.5	1.75	3.25	0.57 [b]
NC+Vit C (400 mg/kg)	2.5	2.5	5.0	1.14 [a]
NC+Vit E (200 mg/kg)	2.0	1.5	3.5	1.21 [a]
NC+ M P (1%)	1.25	2.5	3.75	0.80 [ab]
NC+ M P (2%)	1.25	2.25	3.5	0.82 [ab]
SEM	0.618	0.637	0.626	0.12
P-value	0.66	0.47	0.15	0.03
Orthogonal contrasts	*P*-value			
NC *vs.* PC	0.57	0.11	0.04	0.06
NC *vs.* Vits	0.33	0.75	0.21	0.01
NC *vs.* MP	0.74	0.43	0.63	0.09
Vit E *vs.* Vit C	0.57	0.28	0.11	0.71
Vits *vs.* MP	0.12	0.56	0.33	0.25

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

SRBC: Sheep red blood cell; CBH: Cutaneous Basophil Hypersensitivity.

PC: Positive control (without induction of ascites and without adding the antioxidant); NC: Negative control (induction of ascites without adding the antioxidant); Vit C: Vitamin C; Vit E: Vitamin E; MP: *Mentha Piperita.*

فهرست منابع

Ahmed O. A., Ahmed E. G., Gilbert L. H. and Magdi M. M. 2007. The effect of lighting program and melatonin on the alleviation of the negative impact of heat stress on the immune response in broiler chickens. International Journal of Poultry Science, 6(9): 651-660.

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

Bautista-Ortega J. and Ruiz-Feria C. A. 2010. L-Arginine and antioxidant vitamins E and C improve the cardiovascular performance of broiler chickens grown under chronic hypobaric hypoxia. Poultry Science, 89: 2141-2146.

Benzie I. F. F. 2003. Evolution of dietary antioxidants. Comparitive Biochemistyr and Physiology. Part A, 136: 113-126.

Blahova J., Dobsikova R., Strakova E. and Sucha P. 2007. Effect of low environmental temperature on performance and blood system in broiler chickens (*Gallus domesticus*). Acta veterinaria Brno, 76: S17-S23.

Cheema M. A., Qureshi M. A. and Havenstein G. B. 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science, 82: 1519-1529.

Currie R. J. W. 1999. Ascites in poultry: recent investigations. Avian Pathology, 28: 313-326.

Dadgar S., Lee E. S., Leer T. L. V., Crowe T. G., Classen H. L. and Sahand P. J. 2011. Effect of acute cold exposure, age, sex, and lairage on broiler breast mequalityity. Poultry Science, 90: 444-457.

Daneshyar M., Kermanshahi H. and Golian A. 2009. Changes of biochemical parameters and enzyme activities in broiler chickens with cold-induced ascites. Poultry Science, 88: 106-110.

Diaz-Cruz A., Nava C., Villanueva R., Serret M., Guinzberg R. and Pina E. 1996. Hepatic and cardiac oxidative stress and other metabolic changes in broilers with the ascites syndrome. Poultry Science, 75: 900-903.

Frankic T., Voijc M., Salobir J. and Rezar V. 2009. Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. Acta Agriculturae Slovenica, 94(2): 95-102.

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

Gore A. B. and Qureshi M. A. 1997. Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. Poultry Science, 76: 984-991.

Hangalapura B. N. 2006. Cold stress and immunity: Do chickens adapt to cold by trading-off immunity for thermoregulation? ISBN: 90-8504-358-1.

Havenstein G. B., Ferket P.R. and Qureshi M. A. 2003. Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science, 82: 1500-1508.

Hester P. Y., Muir W. M. and Craig J. V. 1996. Group selection for adaptation to multiple-hen cages: Humoral immune response. Poultry Science, 75: 1315-1320.

Huchzermeyer F. W. and De Ruyck A. M. C. 1986. Pulmonary hypertension syndrome associated with ascites in broilers. Veterinary Record, 119: 94.

Hulet R. M. 2007. Managing incubation: Where are we and why? Poultry Science, 86: 1017-1019.

Humphrey B. D., Stephensen C. B., Calvert C. C. and Klasing K. C. 2006. Lysine deficiency and feed restriction independently alter cationic amino acid transporter expression in chickens (*Gallus gallus domesticus*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 143(2): 218-227.

Isakov N., Feldmann M. and Segel S. 2005. The mechanism of modulation of humoral immuno responses after injection of mice with SRBC. Journal of Immunology, 128: 969-975.

Khempaka S., Pudpila U. and Molee W. 2013. Effect of dried peppermint (*Mentha cordifolia*) on growth performance, nutrient digestibility, carcass traits, antioxidant properties, and ammonia production in broilers. Journal of Applied Poultry Research, 22: 904-912.

Lee K. W., Everts H., Kappert H. J., Yeom K. H and Beynen A. C. 2003. Dietary carvacrol lowers body weight gain but improve feed conversion in female broiler chickens. Journal of Applied Poultry Research, 12: 394-399.

Liang T., Yue W. and Li Q. 2010. Comparison of the phenolic content and antioxidant activities of *Apocynum venetum* L. (Luo-Bu-Ma) and two of its alternative species. International Journal of Molecular Science, 11(11): 4452-4464.

Mahboubi M. and Haghi, G. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. Ethnopharmacology, 19: 325-327.

Nemati M. H., Shahir M. H., Harakizezhad M. T. and Lotfalahian H. 2017. Cold-Induced Ascites in Broilers: Effects of Vitamin C and Coenzyme Q10. Brazilian Journal of Poultry Science, 19(3): 537-544.

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

Ocak N., Erener G., Burak 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(4): 169-175.

Perez-Carbajal C., Caldwell D., Farnell M. M., Stringfellow K., Pohl S., Casco G., Pro-Martinez A. and Ruiz-Feria C. A. 2010. Immune response of broiler chickens fed different levels of arginine and vitamin E to a coccidiosis vaccine and Eimeria challenge. Poultry Science, 89: 1870-1877.

Rajani J., Karimi Torshizi M. A. and Rahimi Sh. 2011. Control of ascites mortality and improved performance and meat shelf-life in broilers using feed adjuncts with presumed antioxidant activity. Animal Feed Science and Technology, 170: 239– 245.

SAS. 2003. SAS/STAT Software: change and enhancement through realease 9.1 SAS Instit. Inc., Cary, USA

Strain J. J. and Benzie I. F. F. 1999. Diet and antioxidant defence. In: M.J. Sadler, J.J. Strain, B. Caballero (Eds), Encyclopedia of Human Nutrition. Academic Press, London. Pp. 95-106.

Svensson E., Raberg L., Koch C. and Hasselquist D. 1998. Energetic stress, immunosuppression and the costs of an antibody response. Functional Ecology, 12(6): 912-919.

Talpur A. D. 2014. *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture, 420-421: 71-78.

Tatli Seven P. and Seven I. 2009. Effects of selenium and vitamin C supplemented with hihg energy diet on the performance of broilers in cold (15 ºC) environment. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 12(1): 25-32.

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

Yersin A. G., Huff W. E., Kubena L. F., Elissalde M. A., Harvey R. B., Witzel D. A. and Giroir L. E. 1992. Changes in hematological, blood gas and serum biochemical variables in broilers during exposure to stimulated high altitude. Avian Disease, 36: 189-197.