



تولیات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۶

صفحه‌های ۹۱۶-۹۰۵

اثر سطوح مختلف عصاره اتانولی تفاله لیموترش بر فراسنجه‌های خونی، پاسخ ایمنی و عملکرد جوجه‌های گوشتی

زهرا درون^۱، سیامک پارسائی^{۱*}، مختار خواجوی^۲، رضا نقی‌ها^۲

۱. کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.

۲. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۷/۱۸

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۵/۱۲/۰۱

چکیده

اثر افزودن عصاره اتانولی تفاله لیموترش به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های سرم خونی جوجه‌های گوشتی با استفاده از ۴۵۰ قطعه جوجه یک روزه (مخلوط نر و ماده) سویه کاب ۵۰۰ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و پنج تکرار و ۱۸ قطعه جوجه در هر تکرار بررسی شد. تیمارها شامل افزودن سطوح صفر (شاهد)، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۲ و ۱/۶ درصد عصاره الکلی تفاله لیموترش به آب آشامیدنی از دو روزگی تا پایان دوره پرورش بودند. افزودن عصاره تأثیر معناداری بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل نداشت. ایمونوگلوبولین‌های کل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اگرچه در جوجه‌های دریافت‌کننده ۱/۶ درصد عصاره تفاله لیموترش نسبت به دیگر گروه‌های آزمایشی IgM افزایش و IgY کاهش یافت ($p < 0/05$). افزودن عصاره در همه سطوح سبب افزایش پاسخ ایمنی به فیتوهماگلوئین‌ها در مقایسه با گروه شاهد شد ($p < 0/05$). میزان تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و خیلی کم در سرم خون جوجه‌های دریافت‌کننده ۰/۸ و ۱/۶ درصد عصاره تفاله لیموترش به‌طور معناداری کمتر از دیگر تیمارها بود ($p < 0/05$). بالاترین میزان کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و خیلی کم سرم در جوجه‌های دریافت‌کننده ۱/۲ درصد عصاره تفاله لیموترش مشاهده شد، که به‌طور معناداری بالاتر از دیگر تیمارها بود ($p < 0/05$). با توجه به اثرکاهندگی تیمارهای دریافت‌کننده ۰/۸ و ۱/۶ درصد عصاره بر فاکتورهای خونی مثل تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و خیلی کم نسبت به تیمار شاهد استفاده از این دو سطح توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: افزایش وزن روزانه، سیستم ایمنی، ضریب تبدیل غذایی، فلاوونوئیدها، لیپوپروتئین‌های سرم خون.

مقدمه

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه حیوانات، باعث افزایش مقاومت باکتریایی و امکان انتقال این عارضه به انسان شده است. به همین دلیل استفاده از پادزیست‌ها در دنیا ممنوع و یا محدود شده است. پژوهش‌های جدید نیز در پی استفاده از افزودنی‌هایی هستند که اثر مثبتی بر سلامتی انسان بر جای می‌گذارند و تلاش بر آن است تا این افزودنی‌های سالم را با داروهای سنتتیک شیمیایی مورد استفاده در جیره حیوانات جایگزین کنند. بنابراین در سال‌های اخیر افزودنی‌های فیتوژنیک مانند عصاره‌ها، پودرها و بخش‌های مختلف گیاهی استفاده شده است. ترکیبات فیتوژنیک با خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی خود در امنیت میکروبیولوژی خوراک و کیفیت آن پس از ذخیره‌سازی اهمیت دارند. بهره‌گیری از آمیخته‌های گیاهی که دارای خواص دارویی هستند می‌توانند از طریق کاهش عوامل بیماری‌زا در روده به امنیت غذایی، ارتقاء سلامت محیط روده و نیز عملکرد جوجه‌های گوشتی کمک کنند [۶].

استفاده از فرآورده‌های مرکبات می‌تواند راهکاری مناسب به منظور جایگزین آمیخته‌های شیمیایی، تقویت سیستم ایمنی و بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی باشد. مرکبات میوه‌های گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان و از خانواده روتاسه بوده که شامل ۱۵۰ جنس و ۲۰۰۰ گونه هستند. در عصاره مرکبات ترکیبات دارویی و مواد مؤثره مانند لیمونن، آلفا پینن، ژرانیول، لینالول و لیمونوئیدها موجود است [۲]. این ترکیبات تأثیرات مثبتی بر بهبود سیستم ایمنی دارند و دارای کارکردهای آنتی‌اکسیدانی، ضد انگلی و میکروبی هستند که استفاده از آن‌ها در صنعت طیور می‌تواند سودمند باشد [۱۳]. لیمو غنی از فلاونوئیدها بوده که در بهبود دیابت و کاهش چربی خون مؤثر است. استفاده از پودر لیموترش جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها بوده و باعث کاهش کلسترول، تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین‌های کم‌چگال پلاسماي خون جوجه‌های

گوشتی در مقایسه با گروه شاهد و گروه مصرف‌کننده آویلامایسین شد [۴].

سالیانه مقدار زیادی تفاله لیمو، پس از آبگیری تولید می‌شود که دارای مقدار چشمگیری ترکیبات فعال زیستی مؤثر مانند فلاونوئیدها است. از آنجا که تفاله لیمو دارای درصد بالایی فیبر است و به‌کارگیری آن به مقدار زیاد در جیره پرندگان امکان‌پذیر نیست، از طرفی با عصاره‌گیری مناسب از تفاله لیمو می‌توان ترکیبات فعال زیستی مانند فلاونوئیدهای آن را جدا کرد، بنابراین استفاده از عصاره لیمو به جای تفاله ترجیح داده می‌شود. همچنین پخش یکنواخت مقدار کم عصاره در جیره مشکل است و به همین علت، استفاده از عصاره در آب آشامیدنی جوجه‌ها مناسب است. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر عصاره الکلی تفاله لیموترش بر عملکرد، پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۴۵۰ قطعه جوجه یک‌روزه مخلوط نر و ماده سویه کاب ۵۰۰ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، پنج تکرار و ۱۸ قطعه جوجه گوشتی در هر تکرار استفاده شد. تیمارها دارای صفر (شاهد)، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۲ و ۱/۶ درصد عصاره تفاله لیمو در آب آشامیدنی از روز دوم تا پایان دوره بودند. تفاله لیمو از کارخانه آلبیوموگیری تهیه و به نسبت ۳:۱ تفاله و اتانول ۷۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. سپس در دستگاه پرس عصاره و الکلی از تفاله جدا شد و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به کمک پمپ خلأ و جریان هوای گرم و سرد اتانول بازیافت و عصاره اتانولی (الکلی) تهیه شد. جیره‌های غذایی جوجه‌ها به صورت پلت برای دوره آغازین (یک تا ۲۱ روزگی) با انرژی ۳۰۱۰ کیلوکالری بر کیلوگرم و پروتئین ۲۱/۳ درصد و دوره رشد (۲۲ تا ۴۲ روزگی) با انرژی ۳۰۳۰ کیلوکالری بر کیلوگرم و ۲۰/۸ درصد پروتئین تهیه شد.

تولیدات دامی

اثر سطوح مختلف عصاره اتانولی تفاله لیموترش بر فراسنجه‌های خونی، پاسخ ایمنی و عملکرد جوجه‌های گوشتی

موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و میزان فلاونوئید نمونه‌ها محاسبه شد [۱۶].
از یک تا ۲۱ روزگی جیره آغازین و از ۲۲ تا ۴۲ روزگی از جیره رشد استفاده شد. در طول دوره، جوجه‌ها به صورت آزاد تغذیه شدند. جیره به صورت پلت و با اندازه مناسب تهیه شد. ترکیب جیره‌های مورد استفاده و مواد مغذی آنها در جدول (۱) ارائه شده است.

در طول دوره پرورش آب و غذا به طور آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. به منظور اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید موجود در تفاله، ۰/۲ گرم از بافت تر تفاله در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (شامل الکل اتیلیک ۹۵ درصد و اسیداستیک گلاسیال به نسبت یک به ۹۹) ساییده شد و به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۰۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. جذب نوری نمونه‌ها در طول

جدول ۱. ترکیب و مواد مغذی جیره‌های مورد استفاده (کیلوگرم در ۱۰۰ کیلوگرم جیره)

اجزای جیره	جیره ۱ تا ۲۱ روزگی	جیره ۲۲ تا ۴۲ روزگی
ذرت	۵۴	۵۶
کنجاله سویا	۳۶/۹۵	۳۶
دی‌کلسیم فسفات	۱/۶	۱/۳
کلسیم کربنات	۱/۳	۱/۳
نمک	۰/۳	۰/۳
روغن آفتاب‌گردان	۴	۴
مکمل ویتامینی ^۱	۰/۵	۰/۵
مکمل معدنی ^۲	۰/۵	۰/۵
دی-ال-متیونین	۰/۲۵	۰/۱
لیزین	۰/۱	-
مجموع	۱۰۰	۱۰۰
انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در هر کیلوگرم)	۳۰۱۰	۳۰۳۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۳	۲۰/۸
کلسیم (درصد)	۰/۹۵	۰/۹۰
فسفر (درصد)	۰/۴۵	۰/۴۰
آرژنین (درصد)	۱/۳۷	۱/۳۴
لیزین (درصد)	۱/۲۱	۱/۱۱
متیونین + سیستین (درصد)	۰/۹۱	۰/۷۷
تریپتوفان (درصد)	۰/۳۲	۰/۳۰

۱. مکمل ویتامینه در هر کیلوگرم جیره، ویتامین‌های زیر را تأمین کرد: ۹۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی رتینول، ۲۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، کوله کلسیفرول، ۱۸۰۰۰ IU توکوفرول، ۲۰۰۰ میلی‌گرم منادیون، ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی تیامین، ۶۶۰۰ میلی‌گرم ریوفلاوین، ۳۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم اسیدپانتوتیک، ۳۰۰۰ میلی‌گرم پیروکسین، ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسیدفولیک، ۱۵ میلی‌گرم کوبالامین، ۱۰۰ میلی‌گرم بیوتین و ۵۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان.
۲. مکمل معدنی، در هر کیلوگرم جیره، مواد معدنی زیر را تأمین کرد: ۹۹۶۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۱۲۸۰ میلی‌گرم روی، ۴۸۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۹۶۰۰ میلی‌گرم مس، ۹۴۶ میلی‌گرم ید، ۱۹۲ میلی‌گرم سلنیوم و ۵۲۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید بود.

تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۶

چپ سه قطعه از هر تکرار (نر و ماده) تزریق شد. بعد از ۲۴ ساعت ضخامت بین پرده انگشتان در محل تزریق به وسیله کولیس ورنیه اندازه‌گیری شد. چگونگی فعالیت ایمنی سلولی از محاسبه اختلاف ضخامت به دست آمده در محل تزریق محلول فیتوهمگلوتینین و شاهد ارزیابی شد [۱۲].

محتوای فلاوونوئیدی تفاله لیموترش در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۶]. از آنجا که انواع مختلفی از فلاوونوئیدها وجود دارد و حداکثر جذب همه آنها در یک طول موج یکسان نیست، از سه طول موج فوق استفاده شد [۱۶].

در پایان دوره آزمایش از هر تکرار دو پرنده (یک مرغ و یک خروس) خون‌گیری و بعد از انعقاد نمونه‌های خون، سرم آن جدا و فراسنجه‌های خون شامل کلسترول، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)، لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم (VLDL) و لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) با دستگاه Technicon-RA-100 و با استفاده از کیت‌های اختصاصی اندازه‌گیری شدند. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1(2004) برای مدل ۱ تجزیه و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

در رابطه (۱)، Y_{ij} ، میانگین مشاهدات؛ μ ، میانگین جمعیت؛ T_i ، اثر تیمار آزمایشی و ε_{ij} ، خطای آزمایش است.

نتایج و بحث

محتوای فلاوونوئیدی تفاله لیموترش مورد استفاده در این آزمایش در جدول ۲ آورده شده است. محتوای فلاوونوئیدی تفاله لیموترش ۴/۵۲ درصد ماده خشک گزارش شده است [۱۷] که با نتایج به دست آمده در این آزمایش همخوانی دارد.

وزن‌کشی جوجه‌ها و محاسبه مقدار خوراک مصرفی یک بار در هفته انجام شد. افزایش وزن از اختلاف وزن جوجه‌ها در آغاز و پایان دوره محاسبه شد. ضریب تبدیل غذایی نیز در پایان دوره محاسبه شد. از میزان مرگ و میر و جوجه‌های حذفی روزانه رکوردگیری شد و میزان خوراک مصرفی، اضافه وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی براساس تلفات و حذفی‌ها تصحیح شد. وزن جوجه‌های حذفی و یا تلف‌شده اندازه‌گیری و در نهایت از تقسیم کل خوراک مصرفی بر وزن جوجه‌های زنده، تلف شده و حذفی ضریب تبدیل محاسبه شد.

برای ارزیابی پاسخ سیستم ایمنی هومورال یک میلی‌لیتر سوسپانسیون سه درصد گلبول قرمز گوسفند در بافر فسفات در شرایط استریل تهیه و در ۲۸ و ۳۵ روزگی به سیاهرگ بال جوجه‌ها (یک جوجه مرغ و یک جوجه خروس) تزریق شد. برای تعیین عیار پادتن تولید شده در برابر گلبول قرمز خون گوسفند از روش هم‌گلوتیناسیون استفاده شد. در پایان دوره، خون‌گیری انجام شد. پس از سانتریفیوژ نمونه خون با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه نمونه سرم جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. سرم‌ها پس از یخ‌گشایی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد در حمام آب داغ غیرفعال شدند. سپس نمونه‌ها به دو بخش تقسیم شدند. بخش نخست برای تعیین عیار پادتن کل و بخش دوم برای تعیین پادتن‌های مقاوم به ۲-مرکاپتواتانول (IgY) استفاده شد. آخرین چاهکی که واکنش هم‌گلوتیناسیون را نشان داد براساس لگاریتم پایه دوم ثبت شد. عیار پادتن حساس به ۲-مرکاپتواتانول (IgM) از تفاوت بین عیار پادتن تام و پادتن مقاوم به ۲-مرکاپتواتانول (IgY) محاسبه شد.

برای ارزیابی کارایی سیستم ایمنی سلولی در روز ۱۶ پرورش ۰/۱ میلی‌لیتر محلول فیتوهمگلوتینین به پرده بین پنجه‌های راست و محلول سرم فیزیولوژی (شاهد) به پنجه

تولیدات دامی

اثر سطوح مختلف عصاره اتانولی تفاله لیموترش بر فراسنجه‌های خونی، پاسخ ایمنی و عملکرد جوجه‌های گوشتی

جدول ۲. محتوای فلاونونوئید موجود در تفاله لیموترش (میکرومول در گرم)

طول موج‌های مورد استفاده (نانومتر)	محتوی فلاونونوئید کل (میکرومول در گرم بافت تر)	محتوی فلاونونوئید کل (میکرومول در گرم ماده خشک)	درصد فلاونونوئید در ماده خشک
۲۷۰	۳۵	۱۶۵/۹۶	۵/۰۱
۳۰۰	۳۱/۵	۱۴۹/۴	۴/۵۱
۳۳۰	۲۹/۶	۱۴۰/۳۵	۴/۲۴

جدول ۳. اثر تیمارها بر میانگین خوراک مصرفی روزانه (گرم)، افزایش وزن روزانه (گرم) و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌ها در یک تا ۴۲ روزگی

تیمار	خوراک مصرفی	ضریب تبدیل	افزایش وزن
شاهد (بدون عصاره)	۷۰/۲۰	۱/۵۳	۴۵/۸۰
۰/۴ درصد عصاره	۷۳/۰۰	۱/۵۳	۴۷/۰۰
۰/۸ درصد عصاره	۷۲/۲۰	۱/۴۹	۴۸/۲۰
۱/۲ درصد عصاره	۷۳/۴۰	۱/۵۱	۴۸/۴۰
۱/۶ درصد عصاره	۷۶/۲۰	۱/۵۵	۴۹/۰۰
SEM	۲/۵۰	۰/۰۳	۱/۵۱
P-value	۰/۳۹	۰/۰۸	۰/۳۹

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

مضر دستگاه گوارش و مواد خوراکی دارند [۱۵]. بهبود عملکرد در هنگام استفاده از تفاله لیموترش می‌تواند با مواد مغذی و غیر مغذی موجود در آن ارتباط داشته باشد [۶]. از بین مواد مغذی موجود در تفاله لیمو، ویتامین‌های A و C دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند، که به همراه فلاونونوئیدها از اکسید شدن مواد مغذی جلوگیری می‌کنند و جذب آن‌ها سبب بهبود عملکرد می‌شود [۶]. علاوه بر این به نظر می‌رسد ماهیت اسیدی لیموترش منجر به کم کردن pH دستگاه گوارش و کاهش جمعیت میکروبی مضر می‌شود و محیط روده را برای جذب مساعدتر می‌کند [۶]. درباره استفاده از سطوح ۱۰ درصدی تفاله خشک

اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در یک تا ۴۲ روزگی در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج آزمایش نشان داد سطوح مختلف عصاره تفاله لیمو اثر معناداری بر خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی نداشت. گزارش شده است که استفاده از ۰/۱ و ۰/۲ گرم اسانس لیمو در هر کیلوگرم جیره جوجه‌های گوشتی باعث کاهش خوراک مصرفی و بهبود ضریب تبدیل شد [۶] که با نتایج این آزمایش همخوانی ندارد. ترکیبات شیمیایی موجود در لیمو آثار مفیدی بر فعالیت گوارشی و نیز از بین بردن عوامل مزاحم از جمله میکروارگانیسم‌های

تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۶

از نظر میزان IgY و Igm نداشتند. به‌طور کلی به نظر می‌رسد افزودن عصاره تا میزان ۱/۲ درصد تأثیری روی ایمنی هومورال ندارد ولی میزان ۱/۶ درصد باعث افزایش معنادر Igm و کاهش IgY شد. افزودن عصاره در همه سطوح سبب افزایش معنادر پاسخ ایمنی سلولی در واکنش به تزریق فیتوهمگلوتینین شد و بالاترین پاسخ مربوط به تیمار ۱/۲ درصد عصاره بود که با تیمارهای شاهد، ۰/۸ و ۱/۶ تفاوت معناداری داشت، ولی با تیمار ۰/۴ درصد عصاره تفاوت معناداری نداشت.

تغییرات تیترا آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در آزمایش‌های مختلف ممکن است تحت تأثیر روش تزریق آنتی‌ژن، سن و زمینه ژنتیکی جوجه‌ها باشد، همچنین تنوع ژنتیکی، تنوع محیطی و تغذیه بر پاسخ سیستم ایمنی تأثیر دارد. پاسخ قوی‌تر نشان‌دهنده قدرت بیشتر فرد در مقابل عامل بیماری‌زای داخلی است. بنابراین پاسخ آنتی‌بادی به دست آمده دارای همبستگی مثبت با مقاومت عمومی فرد در مقابل بیماری‌ها است. فلاوونوئیدها می‌توانند از طریق حذف رادیکال‌های آزاد و با خواص آنتی‌اکسیدانی خود، استرس اکسیداتیوی را کاهش دهند و موجب افزایش فعالیت سلول‌های لنفوی شوند [۲۵]. در محیط کشت آزمایشگاهی ثابت شده است که فلاوونوئیدها تولید سلول‌های T کمکی نوع یک، تولید گاما اینترفرون و اینترلوکین یک را افزایش می‌دهند که نشان دهنده افزایش ایمنی سلولی است [۱۹].

گزارش شده استفاده از سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس لیموترش در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معناداری بر ایمونوگلوبولین‌های کل و پاسخ به تزریق فیتوهمگلوتینین ندارد [۲]. نتایج این آزمایش نشان داد مواد مؤثره موجود در عصاره تا سطح ۱/۶ درصد تأثیری بر روی سیستم ایمنی نداشت. فلاوونوئیدها با حمایت از لنفوسیت‌ها در مقابل رادیکال‌های آزاد پاسخ ایمنی سلولی را افزایش می‌دهند [۱۹].

مرکبات در جیره جوجه‌های گوشتی [۱۸]، ۱۲ درصدی در جیره مرغ‌های تخم‌گذار [۲۰] و ۴۰ درصدی تفاله خشک پرتقال در جیره خرگوش‌ها [۲۲] تأثیرات سوئی بر مقدار خوراک مصرفی گزارش نشده است. در تحقیقی از تفاله خشک لیمو در چهار سطح (۰، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد) در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی استفاده شد و نتایج نشان داد جایگزینی ۷/۵ و ۱۰ درصد تفاله لیموترش با ذرت سبب افزایش ضریب تبدیل غذایی شد [۵]. گزارش‌ها نشان داده‌اند که اسانس‌ها، عصاره‌ها یا قسمت‌های خشک شده گیاهان می‌تواند باعث افزایش وزن بدن و کاهش ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی شوند [۶] و یا ممکن است بی‌تأثیر باشند [۲۳].

به‌طور کلی نتایج بدست آمده از این آزمایش درباره خوراک مصرفی، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی با نتایج به‌دست آمده از بسیاری تحقیقات مشابه همخوانی ندارد [۸ و ۲۵] و با بعضی دیگر همخوانی دارد [۴ و ۲۳]. به نظر می‌رسد عوامل مختلفی مانند میزان عصاره مورد استفاده در جیره یا آب مصرفی، سن جوجه‌ها، قدرت میکروب‌کشی عصاره، روش استخراج عصاره از گیاه و ترکیب شیمیایی عصاره [۹] ممکن است نتیجه آزمایش را تحت تأثیر قرار دهند. گزارش شده است بالا بودن ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی تیمار شده با تفاله لیمو می‌تواند ناشی از فیبر، اگزالات، ساپونین، تانن و دیگر ترکیبات نامطلوب موجود در تفاله، مثل فیتات باشد [۲۱].

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های مربوط به سیستم ایمنی در جدول ۴ ارائه شده است. اگرچه استفاده از تیمارهای آزمایشی بر ایمونوگلوبولین‌های کل معنادار نبودند، اما بر میزان IgY و Igm سرم خون تأثیر معناداری داشتند ($p < 0.05$). در تیمار دارای ۱/۶ درصد عصاره میزان IgY کمتر و میزان Igm بیشتر از شاهد بود. سطوح دیگر عصاره، نسبت به گروه شاهد تفاوت معناداری

تولیدات دامی

اثر سطوح مختلف عصاره اتانولی تفاله لیموترش بر فراسنجه‌های خونی، پاسخ ایمنی و عملکرد جوجه‌های گوشتی

جدول ۴. اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های مربوط به سیستم ایمنی

تیمار	IgM	IgY	Ig Total	پاسخ به تزریق فیتوهمگلوتینین (میلی متر)
شاهد (بدون عصاره)	۱/۰۷ ^b	۲/۸۹ ^a	۳/۸۸	۰/۱۴۰ ^c
۰/۴ درصد عصاره	۱/۲۰ ^{ab}	۲/۶۰ ^{ab}	۳/۸۰	۰/۱۵۳ ^{ab}
۰/۸ درصد عصاره	۰/۷۱ ^b	۳/۰۰ ^a	۳/۷۱	۰/۱۴۸ ^b
۱/۲ درصد عصاره	۰/۸۳ ^b	۳/۲۳ ^a	۳/۸۳	۰/۱۵۶ ^a
۱/۶ درصد عصاره	۱/۷۱ ^a	۲/۱۴ ^b	۳/۸۵	۰/۱۴۹ ^b
	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۱۱	۰/۰۰۲
	۰/۰۳۸	۰/۰۳۵	۰/۰۹۹	۰/۰۰۰۱
			SEM	
			P-value	

a-c: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف ناهمسان معنادار است ($p < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

جدول ۵. اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت فراسنجه‌های چربی خون (میلی گرم / دسی لیتر) در ۴۲ روزگی

تیمار	کلسترول	تری‌گلیسرید	HDL	LDL	VLDL
شاهد (بدون عصاره)	۹۸/۴۰ ^b	۵۲/۱۰ ^b	۶۳/۸۰	۲۳/۴۰ ^{ab}	۱۰/۴۲ ^b
۰/۴ درصد عصاره	۹۳/۸۰ ^b	۵۰/۰۰ ^b	۶۳/۸۰	۲۱/۲۰ ^{bc}	۱۰/۰۰ ^b
۰/۸ درصد عصاره	۹۰/۳۰ ^b	۴۱/۰۰ ^c	۵۹/۸۰	۱۸/۹۰ ^c	۸/۲۰ ^c
۱/۲ درصد عصاره	۱۰۹/۲۰ ^a	۶۲/۵۰ ^a	۶۷/۳۰	۲۴/۸۰ ^a	۱۲/۵۰ ^a
۱/۶ درصد عصاره	۹۵/۲۰ ^b	۴۱/۶۰ ^c	۶۶/۱۰	۲۰/۴۰ ^c	۸/۳۲ ^c
	۳/۷۰	۲/۲۵	۲/۷۲	۰/۹۴	۰/۴۵
	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۳۶	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۱
					SEM
					P-value

a-c: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف ناهمسان معنادار است ($p < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، HDL: لیپوپروتئین با دانسیته بالا، LDL: لیپوپروتئین با دانسیته کم، VLDL: لیپوپروتئین با دانسیته بسیار کم

فیتوهمگلوتینین، لکتینی جداسازی شده از لوبیای قرمز است. لکتین به N-استیل - گالاکتوزآمین سطح لنفوسیت متصل می‌شود. بنابراین فیتوهمگلوتینین سلول‌های T را تحریک می‌کند، اگر چه اثر جزئی روی سلول‌های B هم می‌گذارد که نتیجه آن حساسیت شدید بازوفیل‌های پوستی بوده و باعث تورم پوست می‌شود [۱]. شاخص التهاب نشانگر آثار تحریکی روی تشکیل کلون‌های لنفوسیت T برای آنتی‌ژن‌های خاص است [۹]. نتایج بدست آمده از این آزمایش نشانگر این است که عصاره تفاله لیمو روی

بیان شده که IgM نخستین کلاس از آنتی‌بادی‌ها است که پس از برخورد با آنتی‌ژن ترشح می‌شود و به واسطه ساختار پتامریک توانایی بالایی در فعال‌سازی مسیر کمپلمان دارد و به واسطه ساختار منحصر به فرد خود نقش زیادی در سلامتی حیوان بازی می‌کند [۱]. احتمالاً افزایش میزان ایمونوگلوبولین M در تیمار ۱/۶ درصد می‌تواند به دلیل افزایش تولید ایترلوکین ۱۲ باشد، همچنین گزارش شده است کاهش میزان ایمونوگلوبولین Y می‌تواند به دلیل کاهش تولید سلول‌های B خاطره در پاسخ ایمنی ثانویه باشد [۱].

تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۶

سیستم ایمنی سلولی بیشتر از سیستم ایمنی هومورال اثرگذار است زیرا وجود عصاره در هر سطحی باعث افزایش پاسخ ایمنی سلولی نسبت به شاهد شده است (جدول ۴).

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های مربوط به چربی خون در جدول ۵ ارائه شده است. افزودن عصاره تفاله لیمو به آب مصرفی جوجه‌های گوشتی تأثیر معناداری بر لیپوپروتئین‌های با چگالی بالای سرم خون نداشت. دیگر فراسنجه‌ها شامل میزان تری‌گلیسریدهای خون، کلسترول و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم به‌طور معناداری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند ($p < 0.05$).

بالاترین میزان تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم مربوط به جوجه‌هایی بود که ۱/۲ درصد عصاره را دریافت کرده بودند. کلسترول خون دیگر تیمارها بطور معناداری از این گروه کمتر بود ولی بین دیگر تیمارها از این نظر اختلاف معناداری مشاهده نشد. میزان تری‌گلیسرید خون تیمارهای شاهد و ۰/۴ درصد عصاره نیز بطور معناداری کمتر از تیماری بود که ۱/۲ درصد عصاره را مصرف کرده بودند.

کمترین میزان تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم مربوط به دو تیمار ۰/۸ و ۱/۶ درصد عصاره بود و بالاترین میزان مربوط به تیمار ۱/۲ درصد بود. هرچند گزارش شده است عصاره گیاهان سطوح کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون طیور را کاهش می‌دهند [۷] ولی نتایج بدست آمده در این آزمایش نشانگر این است که این نتیجه بسته به میزان عصاره مورد استفاده می‌تواند متفاوت باشد. لیموترش به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی عاملی حفاظتی در مایعات خارج سلولی بوده و مولکول‌های LDL را از تجزیه شدن توسط مولکول‌های آزاد حفظ می‌کند و در نتیجه مانع افزایش کلسترول مضر در خون می‌شود [۲۴]. آزمایشات نشان می‌دهد استفاده از

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش میزان HDL و کاهش میزان LDL می‌شود [۱۱]. همچنین از طریق مهار اکسیداسیون چربی‌های غیراشباع موجب کاهش میزان تری‌گلیسرید و کلسترول می‌شود [۱۱]. بعضی پژوهشگران به وجود رابطه بین فعالیت HMG-COA ردکتاز (آنزیمی که استات را به کلسترول تبدیل می‌کند) و LDL و کلسترول کل و عدم وجود رابطه بین فعالیت HMG-COA ردکتاز و HDL اشاره کرده‌اند [۷].

در آزمایشی از فلاونوئیدهای هسپریدین و نارنجین در تغذیه موش به مدت شش هفته با نسبت ۰/۵ و یک گرم در ۱۰۰ گرم استفاده شد. نتایج نشان داد تیمارها اثر معناداری بر غلظت HDL و تری‌گلیسرید نداشتند [۷]. در آزمایشی از پودر خشک لیمو با سطوح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده کردند. نتایج نشان داد پودر لیموترش باعث کاهش چربی سرم خون جوجه‌ها شد و این اثر را به ترکیبات فنولی، لیمونوئیدها، ویتامین C و پکتین موجود در لیموترش نسبت دادند [۳]. لیموترش غنی از فلاونوئید است که خاصیت ضد ویروس، ضد التهاب، ضد آلرژی و آنتی‌اکسیدانی دارد و در پیشگیری از چاقی، دیابت و چربی خون نقش دارد. لیمونوئیدهای موجود در مرکبات دارای آثار آنتی‌اکسیدانی و پایین آورنده کلسترول هستند [۲۳]. تحقیقات نشان داد هسپریدین و نارنجین که جزء فلاونوئیدهای خانواده مرکبات هستند با استفاده از مهار آنزیم‌های آسیل کوآردوکتاز و HMG-COA ردوکتاز سبب کاهش کلسترول کبدی و پلازما می‌شوند [۷]. در مطالعه‌ای به مرغ‌های تخم‌گذار کپسول دارای آلفا-تریپتئول، سیترونلول، لینالول و ژرانیول (ترکیبات موجود در لیموترش) خورانده شد و سطح کلسترول خون آن‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد خوراندن کپسول دارای این مواد اثر معناداری بر میزان کلسترول پلاسمای خون نداشت [۱۴]. پژوهشگران نتیجه بدست آمده را به تجزیه سریع این ترکیبات در کبد مرغ و کافی نبودن میزان مورد

تولیدات دامی

تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و بسیار کم را نسبت به شاهد افزایش و دو سطح ۰/۸ و ۱/۶ درصد عصاره تفاله لیمو میزان تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و بسیار کم را نسبت به شاهد کاهش داد. با توجه به نتایج بدست آمده در این آزمایش استفاده از هر دو سطح ۰/۸ و ۱/۶ درصد عصاره در آب آشامیدنی توصیه می‌شود زیرا میزان تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و خیلی کم را نسبت به شاهد کاهش و ایمنی را بهبود بخشیدند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه یاسوج انجام شده است که بدین وسیله از همه دست‌اندرکاران سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- [۱]. ربانی م و محزونیه م ر (۱۳۸۳) ایمنی شناسی دامپزشکی. چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران. ۱۱۸۱.
- [۲]. صمدیان ف (۱۳۹۲) اثرات برخی اسانس‌های گیاهی بر عملکرد رشد و ایمنی، کیفیت گوشت، ریخت‌شناسی بافت روده و سندرم آسیت در جوجه‌های گوشتی. پایان‌نامه درجه دکتری. دانشگاه تهران.
- [۳]. صمصام شریعت ه (۱۳۷۱) عصاره‌گیری و استخراج مواد مؤثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزیابی آن‌ها. چاپ اول، انتشارات فانی، اصفهان. ۱۴-۱۶.
- [۴]. قدرتی ا و فرهمند پ (۱۳۹۲) ارزیابی اثرات سطوح مختلف پودر لیموترش (Citrus Lemon Burm) و

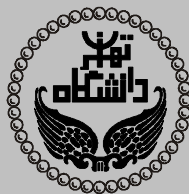
استفاده برای ممانعت از فعالیت آنزیم HMG-COA ردوکتاز نسبت دادند [۱۴]. از اسانس برگاموت که مواد مؤثره عمده این اسانس لیمون بود، در سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم جیره مرغ تخم‌گذار استفاده شد. نتایج نشان داد سطح ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم جیره به‌طور معناداری تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم را کاهش می‌دهد [۷] که با نتایج این پژوهش در برخی سطوح مطابقت دارد. همچنین از فلاونوئید هسپریدین (عمده فلاونوئید پوست لیموترش) در تغذیه جوجه‌های گوشتی استفاده شده و نتایج حاکی از کاهش معنادار کلسترول کل، تری‌گلیسرید و LDL سرم است [۱۶]. در آزمایش حاضر به‌صورت مستمر از عصاره تفاله لیمو استفاده شد و به نظر می‌رسد افزایش معنادار بعضی از فاکتورها در تیماری که از آب دارای ۱/۲ درصد عصاره استفاده کرده‌اند، ناشی از مقدار دوز مصرفی باشد. این دوز ممکن است فعالیت آنزیم‌های کبدی را به گونه‌ای تحت تأثیر قرار دهد که بستری را برای لیپوژنز مهیا کند [۱۰].

هر چند ترکیبات فلاونوئیدی باعث کاهش پراکسیداسیون چربی می‌شود، اما ممکن است در برخی دوزها با پاسخ هموستاتیک، کاهش محتوای چربی توسط هسپریدین و نارنجین جبران شود و یا ژن‌ها به اندازه کافی برای بیان رونویسی تحت تأثیر قرار نگیرند [۱۰]. به کارگیری دوزهای ۰/۸ و ۱/۶ درصد عصاره تفاله لیمو باعث کاهش تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم سرم جوجه‌ها نسبت به دیگر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد شد. به نظر می‌رسد این اثر را بتوان به ترکیبات فلاونوئیدی مانند هسپریدین و نارنجین و لیمونن نسبت داد. این ترکیبات موجود در عصاره اثر آنتی‌اکسیدانی داشته و این توانایی را دارند که آنزیم‌های کلیدی در ساخت کلسترول را مهار و یا فعالیت آن را به تأخیر اندازند. نتایج این آزمایش نشان داد به کارگیری سطح ۱/۲ عصاره تفاله لیمو میزان کلسترول،

تولیدات دامی

- A (2010) The Citrus flavonoids hesperidin and naringin do not affect serum cholesterol in moderately hypercholesterolemic men and women 1-3. *The Journal of Nutrition*, 140: 1615-1620.
- [11]. Garcia-Alonso J, Ros J, Vidal-Guevara ML, Jesu M and Periago S (2006) Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. *Journal of Nutrition*, 26: 330-390.
- [12]. Grasman KA (2010) In vivo functional test for assessing immunotoxicity in birds. *Immunotoxicity testing: Methods and protocols*, Methods in Molecular Biology. Humana Press Product, 98: 387-397.
- [13]. Hardin A, Crandall PG and Stankus T (2010) Essential Oils and Antioxidants Derived From Citrus By-Products in Food Protection and Medicine: An Introduction and Review of Recent Literature. *Journal of Agricultural and Food Information*, 11: 99-122.
- [14]. Hood RL, Bailey WM and Svoronos D (1978) The effect of dietary monoterpenes on the cholesterol level of eggs. *Poultry science*, 57: 304-306.
- [15]. Jamroz D, Wertelecki T and Houszkaandc M (2006) Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90: 255-268.
- [16]. Kamboh AA and Zhu WY (2013) Effect of increasing levels of bioflavonoids in broiler feed on plasma anti-oxidative potential, lipid metabolites and fatty acid composition of meat. *Poultry Science*, 92:454-461.
- مقایسه آن با آنتی بیوتیک آویلامایسین بر لیبیدهای سرمی و چربی محوطه بطنی جوجه‌های گوشتی. *مجله دانش و پژوهش علوم دام*. ۱۳: ۹۹-۱۱۰.
- [۵]. مهرآبادی م، زنگی آبادی م و صادقی رونیزی ب (۱۳۸۷) کاربرد ضایعات کارخانجات آبلوسازی بر عملکرد و بهبود سلامت جوجه‌های گوشتی. سومین همایش یافته‌های پژوهشی کشاورزی و منابع طبیعی. سندج دانشگاه کردستان.
- [۶]. نویخت ع (۱۳۹۲) تأثیرات استفاده از سطوح گوناگون تغاله لیموترش خشک بر عملکرد و متابولیت‌های خون مرغ‌های تخم‌گذار مسن با جیره‌های بر پایه ذرت. *نشریه علوم دامی ایران*. ۴(۴۴): ۳۹۷-۴۰۴.
- [7]. Alcicek A, Bozkurt M and Cabuk M (2004) The effect of an essential oil combination derived from selected herbs growing wild in turkey and broiler. *South African Journal of Animal Science*, 33: 89-94.
- [8]. Botsoglou NA, Christaki E, Florou-Paneri P, Giannenas I, Papageorgiou G and Spais AB (2004) The effect of a mixture of herbal essential oils or alpha-tocopheryl acetate on performance parameters and oxidation of body lipid in broilers. *South African Journal of Animal Science*, 34: 52-61.
- [9]. Chou SH, Chung TK and Yu B (2009) Effects of supplemental 25-hydroxycholecalciferol on growth performance, small intestinal morphology and immune response of broiler chickens. *Poultry Science*, 88: 2333-2341.
- [10]. Demonty I, Lin Y, Zebregs EMP and Mario

- [17].Marin FR, Soler-Rivas F, Benavente-Garcia O, Castillo J and Perez-Alvarez JA (2007) By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry*, 100 (2): 736-741.
- [18].Nair MP, Kandaswami C, Mahajan S, Chadha KC, Chawda R, Nair H, Kumar N, Nair RE and Schwartz SA (2002) The flavonoid, quercetin, differentially regulates Th-1 (IFN gamma) and Th-2 (IL4) cytokine gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells. *Biochimica Biophysica Acta*, 16: 29-36.
- [19].Nazic A, Rezaei M and Sayyazadeh H (2010) Effect of different levels of dried citrus pulp on performance, egg quality, and blood parameters of laying hens in early phase of production. *Tropical Animal Health and Production*, 42: 737-742.
- [20].Nobakht A (2013) Evaluation the effects of different levels of dried lemon (*Citrus aurantifolia*) pulp on performance of broilers and laying hens. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 4 (4): 882- 888.
- [21].Ojabo LD, Adenkola AY and Odaudu GI (2012) The effect of dried sweet orange (*Citrus sinensis*) fruit peel meal on the growth performance and hematology of rabbits. *Veterinary Research*, 5 (2): 26-30.
- [22].Peterson AL, Qureshi MA, Ferket PR and Jr Fuller JC (1999) Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplement ration of β -hydroxy- β -methylbutyrate. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 21: 307-330.
- [23].Sakine Y, Ebru E, Reisli Z and Suzan Y (2006) Effect of Garlic Powder on the Performance, Egg Traits and Blood Parameters of Laying hens. *Journal of Food Science*, 86: 1336-1339.
- [24].Schroder H (2007) Protective mechanisms of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 18: 149-160.
- [25].Zhu QY, Huang Y and Chen ZY (2000) Interaction between flavonoids and α -tocopherol in human Low Density Lipoprotein. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 11: 14-21.



Journal of
Animal Production

(College of Abouraihan – University of Tehran)

Vol. 19 ■ No. 4 ■ Winter 2017

Effect of Lemon (*Citrus aurantifolial*) pulp Ethanolic extract on performance, immune system and blood parameters of broiler chickens

Zahra Daroon¹, Siamak Parsaei^{1*}, Mokhtar Khajavi², Reza Naghiha²

1. M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

Received: February 19, 2017

Accepted: October 10, 2017

Abstract

This experiment was conducted to evaluate the effect of adding Ethanolic lemon pulp extract (ELPE) to drinking water of broiler chickens on performance, immune system and blood serum parameters. We used 450 male and female day-old broiler chicks (Cobb 500) allocated in a completely randomized design with five treatments, five replications and 18 chicks per each. Treatments include no ELPE (control), 0.4, 0.8, 1.2 and 1.6% ELPE in drinking water from 2d until the end of experiment. Adding ELPE to drinking water did not have any effect on feed intake, average daily gain and feed conversion ratio. The highest amount of IgM and the lowest amount of IgY belonged to group that fed 1.6% ELPE. ELPE treatments significantly increased response to Phytohemagglutinin-M (PHA-M) injection compared to control group. The levels of triglyceride, low density lipoprotein and very low density lipoprotein were significantly lower in 0.8 and 1.6% ELPE treatments compared to other groups ($P<0.05$). For treatment with 1.2% of ELPE, the highest levels of cholesterol, triglycerides, low density lipoproteins, and very low-density lipoproteins were observed, which was significantly higher than other treatments ($P<0.05$). Considering to reducing effects of 0.8 and 1.6% extract treatments on blood parameters such as triglyceride, low density lipoprotein and very low-density lipoproteins compared to control, these two levels are recommended.

Keywords: blood serum Lipoproteins, daily gain, feed conversion ratio, flavonoids, immune system.