DOI: 10.22092/vj.2017.114641.1337
شماره ۱۱۸ بهار ۱۳۹۷
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

بافت شناسی روده، برخی فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با عصاره برگ زیتون *(Olea europaea L.)* و روغن کنجد *(Sesamum indicum L.)* تحت تنش گرمایی

• **محمد جواد آگاه (نویسنده مسئول)**
استادیار پژوهشی بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران
• **حسن نصیری مقدم**
استاد گروه آموزشی علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
• **احمد رضا راجی**
دانشیار گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
• **حسن صالح**
استادیار گروه علوم دامی مجتمع آموزش عالی سراوان
• **محمد طاهر میرکزهی**
استادیار گروه علوم دامی مجتمع آموزش عالی سراوان
• **مجید هاشمی**
استادیار پژوهشی، شعبه شیراز، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران
تاریخ دریافت: ۱۶-۰۷-۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: ۱۵-۱۱-۱۳۹۶
Email: m.agah@areo.ir

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی اثرات هم‌کوشی عصاره برگ زیتون و روغن کنجد به‌عنوان منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی در جیره بر بافت شناسی ژژونوم، برخی فراسنجه‌های خونی و پاسخ‌های ایمونولوژیک جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی دوره‌ای انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ در شش تیمار با پنج تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار توزیع شدند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل ۲×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه غلظت عصاره برگ زیتون (صفر، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و دو نوع روغن گیاهی (روغن خام ذرت و کنجد) انجام شد. تنش گرمایی (۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد) به مدت هشت ساعت از سن ۲۹ تا ۴۲ روزگی اعمال شد. جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی روغن خام ذرت و عصاره برگ زیتون تا سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، بلندترین طول پرزهای ناحیه ژژونوم (۱۶۹۹ میکرومتر) و بیشترین واکنش ازدیاد حساسیت پوستی را داشتند ($P<0/05$). کاربرد عصاره برگ زیتون در جیره غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید و اسیداوریک سرم خون را کاهش و فعالیت آنزیم ALP سرم را به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($P<0/05$). نتیجه نهایی این که کاربرد عصاره برگ زیتون تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در جیره ممکن است با افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با منشاء گیاهی منجر به افزایش طول پرز، تعادل فراسنجه‌های خونی، تقویت سیستم ایمنی پرنده و در نتیجه کاهش اثرات منفی تنش‌گرمایی در جوجه‌های گوشتی شود.

کلمات کلیدی: عصاره برگ زیتون، روغن کنجد، بافت‌شناسی ژژونوم، فراسنجه‌های خونی، تنش گرمایی

● Veterinary Researches & Biological Products No 118 pp: 133-143

Histology of jejunum and some blood metabolites of broiler chickens fed with olive (*Olea europaea* L.) leaf extract and sesame (*Sesamum indicum* L.) oil under heat stress

By: Agah, M.J, (Corresponding Author) Assistant Professor of Animal Science Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran. Nassiri Moghadam, H., Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad. Raji, A.R., Associate Professor, Department of Basical Sciences Faculty of Veterinary medicine. Saleh, H., Assistant Professor, Department of Animal Science, Higher Educational Complex of Saravan, Saravan, Sistan and Baluchestan, Iran. Mirakzehi, M.T., Assistant Professor, Department of Animal Science, Higher Educational Complex of Saravan, Saravan, Sistan and Baluchestan, Iran. Hashemi, M., Assistant Professor, Shiraz Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.

Email: m.agah@areo.ir

Received: 2017-08-02 **Accepted: 2017-10-08**

This study was designed to investigate the synergic effects of adding sesame oil (SEO) and olive leaf extract (OLE) as sources of natural antioxidants to the diet on the histology of the jejunum, some blood parameters and immunological responses of broilers under heat stress. Three hundred Ross male broilers were randomly distributed into 30 experimental units and 6 dietary treatments (5 replicates with 10 birds in each). The completely randomized design with factorial arrangement 3×2 with 3 levels of OLE (0, 200 and 400 mg/kg of diet) and 2 types of vegetable oil (crude corn oil (CRO) and SEO) were used. Broilers were exposed to heat stress (33±1°C) for 8 h from 29 to 42 days. Chicks fed with diet containing CRO and supplemented with 200 mg/kg OLE had the highest jejunum villi length (1699 µm) and cutaneous basophil hypersensitivity (CBH) response (0.37mm). The usage of OLP in the diet significantly decreased the serum concentrations of cholesterol, triglyceride and uric acid and increased serum alkaline phosphatase (ALP) activity. These results indicated that the use of OLE up to level of 200 mg by increasing antioxidant compounds in the diet may lead to an increased villus height and balance of blood parameters and thus reduce the negative effects of heat stress in broiler chickens.

Key words: Olive leave extract, Sesame oil, Histology of jejunum, Blood metabolites, Heat stress

مقدمه

اثرات منفی که تنش گرمایی بر مصرف خوراک، افزایش وزن، میزان مرگ و میر، قدرت جوجه درآوری و سایر صفات مهم اقتصادی موثر صنعت طیور دارد، تنش گرمایی را به عنوان عمده نگرانی صنعت پرورش طیور به‌خصوص در مناطق گرمسیری جهان مطرح کرده است. درجه حرارت‌های بالا و پایین محیطی با تحریك محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-فوق کلیه، ترشح کورتیکواستروئیدها در پاسخ به تنش را افزایش داده که در این شرایط ممکن است حساسیت جوجه‌ها به بیماری‌های عفونی تغییرکرده و در نهایت منجر به کاهش تولید شود. تنش گرمایی همچنین با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیژن، ممکن است منجر به بروز تنش اکسیداتیو شود (۱۸). در واقع تنش اکسیداتیو به عنوان عامل برهم زنندهٔ تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد و دفاع‌های آنتی اکسیدانی سلولی تعریف می‌شود(۲). محققان بیان کردند که دستگاه گوارش به‌عوامل تنش‌زا حساس است، که می‌تواند منجر به طیفی از تغییرات شامل تغییرات معمول، جمعیت میکروبی حفاظتی و کاهش سلامت بافت پوششی روده شود. جمعیت باکتریایی هم‌زیست روده‌ای می‌تواند میزبان را از تکثیر پاتوژن‌ها به‌وسیله رقابت برای محل‌های اتصال بافت پوششی و مواد مغذی، تقویت پاسخ ایمنی روده‌ای و به‌وسیله تولید ترکیبات ضد میکروب کشنده باکتری حفاظت کند (۱۴). عوامل تنش‌زای حاد (۲۴ ساعت افزایش دما تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد در سن ۴۴ روزگی) می‌تواند منجر به تغییرات معنی‌دار در جمعیت میکروبی نرمال روده، مورفولوژی روده و نیز میزان حساسیت برون تنی برای اتصال باکتری سالمونلا اینتریتیوس به ایلئوم در جوجه‌ها شود (۶).

بسیاری از اثرات منفی تنش اکسیداتیو می‌تواند با رژیم‌های غذایی

حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ویتامین‌ها و سایر ترکیبات غیرمغذی آنتی‌اکسیدانی از جمله فلاونوئیدها[۱]، کاهش یابد (۲). برگ‌های تازه درخت زیتون به‌عنوان یک پس‌ماند کشاورزی پس از برداشت محصول، حاوی حدود ۱۰ درصد ترکیبات پلی‌فنلی بوده و بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت گیرندگی رادیکال‌های آزاد را در بین بخش‌های مختلف درخت زیتون دارند. ترکیبات عمده عصاره برگ زیتون شامل: اولئوروپسیدها[۲] (اولئوروپین[۳] و ورباسکوسید[۴])، فلاون‌ها[۵]، فلاونول‌ها[۶] ، فلاوان-۳- اول‌ها[۷]، فنل‌ها و توکوفرول[۸] می‌باشد. اولئوروپین به‌عنوان فراوان‌ترین ترکیب عصاره برگ زیتون دارای فعالیت ضد میکروبی برعلیه ویروس‌ها، باکتری‌ها، مخمرها، قارچ‌ها، کپک‌ها و سایر پارازیت‌ها می‌باشد. پس از آن هیدروکسی تیروزول با ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن تا ۱۰ برابر چای سبز و با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی قوی می‌باشد (۵). محققان گزارش کردند پتانسیل عصاره برگ زیتون در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو به مخاط معده در موش‌های صحرایی تحت تنش تغذیه‌ای، احتمالاً به توانایی آن در حفظ یکپارچگی غشای سلولی بوسیله فعالیت ضد پراکسیداسیون چربی مربوط می‌شود (۷).

از بین روغن‌های گیاهی، روغن کنجد نیز حاوی یك دسته بی‌نظیر از ترکیبات شناخته شده تحت عنوان لیگنان‌ها[۹] (سیزامین[۱۰] ، سیزامولین[۱۱] و مقادیر کمی سیزامول[۱۲]) می‌باشد. این ترکیبات وظایف فیزیولوژیکی متنوعی از جمله: کاهش چربی‌خون، کاهش سطح آراشیدونیك اسید[۱۳]، افزایش توانایی آنتی‌اکسیدانی، افزایش قابلیت زیست فراهمی گاما-توکوفرول و فراهم کردن وظایف ضدالتهابی را دارا می‌باشند. همچنین مهارگونه‌های اکسیژن فعال توسط لیگنان‌های کنجد، می‌تواند سلول‌های بدن را از صدمات رادیکال‌های آزاد محافظت کند. روغن کنجد قادر است سم‌زدایی کبد از موادشیمیایی و میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی را افزایش داده و نقش حفاظتی در برابر تنش اکسیداتیو داشته باشد (۱۱). بنابراین هدف از انجام پژوهش حاضر ارزیابی اثرات هم‌کوشی افزودن عصاره برگ زیتون و روغن کنجد به‌عنوان منابع آنتی‌اکسیدان گیاهی در جیره بر بافت شناسی روده، برخی فراسنجه‌های خونی و پاسخ‌های ایمونولوژیک جوجه‌های گوشتی در معرض تنش گرمایی بود.

مواد و روش کار

این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با آزمایش فاکتوریل۲×۳ و با ۳۰۰ قطعه جوجه نرگوشتی سویه راس ۳۰۸ با شش تیمار پنج تکراری از سن ۲۹ تا ۴۲ روزگی در ۳۰ واحد آزمایشی تحت تنش گرمایی انجام شد. جوجه‌ها تا سن ۲۸ روزگی در شرایط دمای معمول (بر روی بستر) با یک جیره پایه تغذیه شدند. از سن ۲۹ روزگی تعداد ۱۰ پرنده در هر واحد آزمایشی به‌گونه‌ای قرارگرفتند که همگی دارای میانگین وزن مشابه (۲۰±۱۲۰۰گرم) بودند. سپس تیمارهای آزمایشی با اعمال تنش‌گرمایی روزانه در اختیار جوجه‌ها قرارگرفتند. تنش گرمایی (۱±۳۳ درجه سانتی‌گراد) به‌صورت تدریجی و دوره‌ای (هشت ساعت در شبانه روز، از ساعت نه صبح تا پنج بعد از ظهر) اعمال شد. در این آزمایش فاکتور اول مورد بررسی شامل: افزودن سه غلظت صفر، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره هیدروالکی برگ زیتون به جیره پایه و فاکتور دوم: مکمل کردن دو نوع روغن گیاهی در جیره شامل، روغن خام ذرت (فاقد آنتی‌اکسیدان افزودنی) و روغن کنجد بود.

جیره‌های آزمایشی (جدول۱) از نظر انرژی و پروتئین مشابه بوده و در قالب شش تیمار زیر و بر پایه ذرت و کنجاله سویا تهیه شدند: ۱- جیره پایه حاوی روغن خام ذرت و بدون عصاره برگ زیتون ۲- جیره پایه حاوی روغن کنجد و بدون عصاره برگ زیتون ۳- جیره پایه حاوی روغن خام ذرت و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون ۴- جیره پایه حاوی روغن کنجد و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون ۵- جیره پایه حاوی روغن خام ذرت و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون ۶- جیره پایه حاوی روغن کنجد و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون. جیره‌های فوق از سن ۲۹ روزگی به مدت دو هفته به جوجه‌ها تغذیه شدند. در طول دوره آزمایش جوجه‌ها به آب و غذا دسترسی آزاد داشته و سیستم نوردهی یک ساعت تاریکی و ۲۳ ساعت روشنایی فراهم شد.

آماده سازی و تهیه عصاره از برگ زیتون به‌منظور دستیابی به بیشترین مقدار ترکیبات فنلی از جمله اولئوروپین مطابق روش Amaral و همکاران (۳) انجام شد. در این روش ابتدا ۶۰ گرم پودر برگ خشك زیتون در یك ارلن مایر ریخته و بر روی آن ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال متانول/ آب (نسبت ۴ به ۱) اضافه شده و به مدت ۲۴ ساعت تحت شرایط تاریکی و تلاطم قرار گرفت. سپس عصاره حاصل با کاغذ صافی واتمن ۰/۴۵ µ mm × ۴۷ فیلتر گردید. در نهایت مواد فیلتر شده در یك تبخیرکننده چرخشی تحت خلاء غلیظ شده و در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشك شد. عصاره خشك حاصل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی برای انجام آزمایشات برون‌تنی ودرون‌تنی (در جیره غذایی جوجه‌ها) نگهداری شد. تعیین ناپدید شدن رادیکال‌های آزاد از جمله ۱، ۱ دی فنیل-۲-پیکرل هیدرازیل[۱۴] (DPPH) یک روش ثابت شده و سریع به‌منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی است (۲۱). بنابراین برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون ابتدا محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه شد. سپس به لوله‌های آزمایش حاوی یك میلی‌لیتر از این محلول متانولی، یک میلی‌لیتر نمونه عصاره هیدروالکلی برگ زیتون و بوتیلیتد هیدروکسی تولوئن[۱۵] (BHT) با غلظت‌های مختلف (۲/۵، ۵ ،۱۰، ۲۰،۴۰ و۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد. لوله‌های آزمایش بعد از ورتکس شدن به مدت یك ساعت در جای تاریك نگهداری شدند و سپس جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۲ نانومتر در برابر شاهد قرائت گردید (جذب شاهد باید حدود ۰/۷۰۰ باشد). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان نرخ ممانعت از رادیکال آزاد DPPH و بر حسب درصد (I درصد) از معادله زیر محاسبه شد (۴). در این فرمول I درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد AC، DPPH و AS به‌ترتیب جذب شاهد و نمونه است. پس از ترسیم نمودار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در برابر غلظت ترکیب آنتی‌اکسیدانی، منحنی مناسب روی داده‌ها برازش داده شد و غلظتی را که ترکیب آنتی‌اکسیدانی قادر به مهار۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد است تحت عنوان[۱۶] IC۵۰ محاسبه گردید.

$$I\,\% = (AC-AS)\,/AC\times 100$$

به‌منظور بررسی بافت شناسی مخاط ژژونوم جوجه‌ها در سن ۴۲ روزگی، در هر واحد آزمایشی یک نمونه بافتی به ابعاد ۰/۵×۰/۵ سانتی‌متر از نقطه میانی ژژونوم یک جوجه تهیه شد و در فرمالین ۱۰

درصد برای مطالعه بافت تثبیت شد. نمونه‌های بافتی در دستگاه آماده سازی خودکار بافت قرار گرفتند و با عبور از محلول فرمالین ۱۰ درصد سه مرحله: آبگیری، شفاف سازی و پارافینه کردن انجام شد. به کمک دستگاه ذوب پارافین و قالب لوکهارت بلوک‌های پارافینی تهیه شد. نمونه‌های بافت روده با ضخامت پنج میکرومتر با استفاده از میکروتوم نیمه خودکار (Model Leica RM 2145) برروی اسلاید شیشه‌ای قرار گرفتند و با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. جهت هیستومورفومتری نمونه‌های بافتی از میکروسکوپ نوری المپیوس (Olympus corporation, BX۴۱ ,۲-XC Model U- TV۰,۵) استفاده گردید. اندازه‌گیری‌های هیستومورفومتری پرزهای روده بر روی ۱۰ پرز سالم انتخاب شده از هر نمونه اندازه‌گیری شد. شاخص‌های بافت شناسی مورد بررسی شامل طول پرز (نوک پرز تا محل اتصال کریپت)، عرض پرز (متوسط عرض پرز در ابتدا، وسط و انتهای پرز)، عمق غدد لیبرکون یا کریپت (پایه پرز تا لایه زیر مخاط) اندازه‌گیری شدند و سطح جذبی پرزها نیز با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد (۲۰).

(۲/ میانگین عرض پرز) × (میانگین طول پرز) ×(π ۲)= سطح جذبی پرزها

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی در پایان دوره (سن ۴۲ روزگی) به وسیله خونگیری از ورید بال دو پرنده در هر واحد آزمایشی در سرنگ‌های فاقد ماده ضد انعقاد و پس از آن جداسازی سرم در میکروتیوب‌های نیم سی‌سی و نگهداری تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انجام شد. مقدار گلوکز، کلسترول[۱۷]، تری‌گلیسرید[۱۸]، اسیداوریک[۱۹]، پروتئین‌تام[۲۰] و سطوح آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز[۲۱] (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز[۲۲] (ALT) و آسپارتات آمینو ترانسفراز[۲۳] (AST) نمونه‌های سرم خون پس از یخ-گشایی توسط دستگاه اتوآنالیزر (Model Selectra E, Vitalab, Spain) و با استفاده از کیت‌های تجاری زیست‌شیمی اندازه‌گیری شد.

برای تعیین پاسخ ایمنی هومورال پرندگان در برابر آنتی ژن گوسفندی[۲۴] (SRBC) یک محلول هفت درصد از گلبول قرمز در بافر فسفات سالین در شرایط استریل تهیه گردید. در سن ۲۸ روزگی ۰/۵ میلی‌لیتر SRBC ۷ درصد در ورید بال راست تزریق شد. هفت روز پس از تزریق، از ورید بال چپ این دو پرنده سه میلی‌لیتر خون جهت تعیین پاسخ آنتی بادی اولیه اخذ شد. سپس تزریق دوم SRBC به‌میزان ۰/۵ میلی‌لیتر در ورید بال سمت راست انجام شد. هفت روز بعد یعنی در سن ۴۲ روزگی نمونه‌های خون جهت تعیین پاسخ‌های آنتی بادی ثانویه اخذ گردید. اندازه‌گیری پاسخ ایمنی سلولی از روش تست ازدیاد حساسیت پوستی[۲۵] (CBH) انجام شد؛ به این ترتیب که در روز ۳۶ دوره پرورش، مقدار ۱۰۰ میکروگرم فیتو هماگلوتینین، در ۰/۱ میلی-لیتر سرم نمکی استریل حل شده و به عنوان محرک تکثیر سلولی به پرده بین پنجه پای راست پرنده و بین انگشت دوم و سوم تزریق گردید (دو پرنده به ازای هر واحد آزمایشی). به همین میزان سرم نمکی استریل به عنوان شاهد به پرده بین پنجه پای مخالف تزریق شد. میزان تورم (التهاب) پوست بعد از گذشت ۲۴ ساعت از زمان تزریق با استفاده از یک میکرومتر بسیار حساس اندازه‌گیری شد و سپس از تفاضل میزان التهاب پوست در دو پا، واکنش CBH به صورت کمّی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مدل آماری

داده‌های حاصل توسط نرم افزار SAS (۲۲) و با رویه مدل خطی عمومی (GLM) در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۵ تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای تعیین تفاوت‌های معنی‌دار بین میانگین از آزمون چند دامنهای دانکن[۲۶] استفاده شد ($P<۰/۰۵$). در فرمول زیر Yijk مقدار هر مشاهده، μ میانگین جامعه، Ai اثر سطح عصاره برگ زیتون، Bj اثر نوع روغن گیاهی، ABij اثر برهم کوشی عصاره برگ زیتون و نوع روغن گیاهی بکاررفته در جیره، eijk اثر خطای آزمایش بود.

$$Yijk = \mu + Ai + Bj + ABij + eijk$$

نتایج و بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد روغن کنجد در مقایسه با روغن خام ذرت از قدرت مهار رادیکال آزاد بیشتری (غلظت IC۵۰ به ترتیب ۷/۵۱ و ۴۹/۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برخوردار است. همچنین اثر مهارکنندگی عصاره متانولی برگ زیتون و BHT بر روی رادیکال آزاد استاندارد DPPH با افزایش غلظت عصاره و BHT افزایش یافت. غلظت IC۵۰ کمتر نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر است. غلظت IC۵۰ عصاره متانولی برگ زیتون و BHT بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر به‌ترتیب ۲۸/۰۲ و ۱۸/۵۱ محاسبه شد. این مسئله بیانگر قدرت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً بالایی عصاره برگ زیتون می‌باشد. رفیعی و همکاران (۱۷) نیز نشان دادند که عصاره‌های متانولی ۸۰ درصد برگ زیتون در مقایسه با عصاره‌های آبی و یا استونی آن از نظر مهار رادیکال DPPH، دارای بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی بوده و با افزایش غلظت عصاره، افزایش در قدرت مهار رادیکال DPPH مشاهده شد.

مطابق نتایج جدول ۲ تأثیر غلظت عصاره مصرفی در مورد اکثر صفات بافت شناسی مورد بررسی معنی‌دار نشد ($P>۰/۰۵$). اما کاربرد عصاره برگ زیتون تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره منجر به کاهش معنی دار عرض پرز روده کوچک جوجه-های گوشتی تحت تنش گرمایی شد ($P<۰/۰۵$). اثر نوع روغن مکمل‌سازی شده در جیره نیز در مورد صفات ضخامت اپیتلیوم و نسبت طول پرز به عمق کریپت معنی‌دار شد ($P<۰/۰۵$) و در مورد سایر صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. به-طوری که در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با روغن کنجد در مقایسه با روغن خام ذرت نسبت طول پرز به عمق کریپت کاهش (به‌ترتیب ۵/۵۹ در برابر ۶/۴۲) و ضخامت اپیتلیوم افزایش (به‌ترتیب ۵۵/۹ در برابر ۴۹/۳) یافت.

در پژوهش حاضر گرچه اثر هم‌کنشی معنی‌داری بین عصاره برگ زیتون و نوع روغن مکمل‌سازی شده در جیره در مورد هیچ یک از فاکتورهای بافت شناسی روده مشاهده نشد. اما مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن بیشترین طول پرز (۱۶۹۹ میکرومتر)، ضخامت لایه مخاطی و زیر مخاطی (۱۹۷۹/۶ میکرومتر) و کمترین عرض پرز (۱۲۱/۶ میکرومتر) را جیره مکمل‌سازی شده با روغن خام ذرت و حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون نشان داد. گزارش‌های متناقضی در رابطه با اثرات تنش گرمایی بر بافت شناسی روده منتشر شده است. در یک پژوهش

ایجاد آسیب‌های معدی-روده‌ای و کاهش عمق کریپت در ناحیه ایلئوم روده جوجه‌هایی که تحت تنش حرارتی حاد (۳۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت) قرارگرفتند، گزارش شد، اما آن‌ها تفاوت معنی‌داری در ارتفاع پرزها و نسبت طول پرز به عمق کریپت مشاهده نکردند (۶). سایر پژوهشگران نیز با اعمال تنش‌گرمایی تغییر معنی‌داری در ساختار پرزها و عمق کریپت مشاهده نکردند (۱۶). نتیجه اخیر با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد. اما برخی از محققان کاهش ارتفاع پرزها به میزان ۱۹درصد را گزارش کردند(۱۵).

مشاهده این تفاوت‌ها در نتایج تحقیقات ارائه شده، ممکن است در ارتباط با سرعت بازسازی بالای اپیتلیوم مخاط روده باشد، مشخص شده که ساختار اپیتلیال روده در کمتر از ۳۶ ساعت بعد از وضعیت تنش جایگزین می‌شود. از طرفی در مورد گیاهان دارویی، اثر مشخص و ثابتی در منابع موجود، مشاهده نشده است. به‌طوری که گزارشاتی مبنی بر افزایش، عدم تغییر و همچنین کاهش در طول و عمق کریپت پرزهای روده در قسمت ژژونوم و روده بزرگ جوجه‌های گوشتی در زمان استفاده از گیاهان دارویی، وجود دارد (۸). از جمله در پژوهشی با مصرف تفاله انگور قرمز در جیره بچه خوک‌ها یک اثر مهاری بر رشد پرزهای ژژونوم مشاهده شد(۲۳). کاهش در اندازه پرزها با افزودن عصاره هسته انگور در خوراک انسان گزارش شد (۱۳). اما نتایج پژوهشی دیگر تفاوت معنی‌داری بین ارتفاع پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز و عمق کریپت در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی پودر زرد چوبه به‌عنوان یک افزودنی گیاهی پیش و بعد از تنش گرمایی نشان نداد (۹).

مواد موثره عصاره‌های گیاهی را ترکیبات فنلی مختلف تشکیل می‌دهد که فعالیت بیولوژیکی این مواد به زیست فراهمی آن-ها بستگی داشته و می‌تواند در هر دو محل روده و شرایط سیستمی اعمال اثر کند. به‌طور کلی پذیرفته شده که قابلیت دسترسی ترکیبات پلی‌فنلی نسبتاً پایین است. این قابلیت دسترسی می‌تواند در مورد ترکیبات فنلی با وزن مولکولی بالاتر(تانن‌های متراکم) کمتر نیز باشد. بنابراین سطح قابل توجه از فنل‌های باقیمانده در روده و متابولیت‌های آن‌ها ممکن است نقش کلیدی در حفظ شرایط مناسب روده با اصلاح الگوی جمعیت میکروبی روده داشته باشند (۲۴).

در مجموع به نظر می‌رسد اثرات گیاهان دارویی بر روی مخاط روده کوچک وابسته به تعادل بین شرایط مطلوب و نامطلوب ماده موثره گیاه بر بافت مورد نظر باشد. اگرچه ممکن است بخشی از تغییرات در فعالیت آنزیم‌های گوارشی که در زمان استفاده از گیاهان دارویی بوجود می‌آید، به‌خاطر افزایش میزان ترشحات آنزیمی باشد که در طی تنش روده‌ای تحت تأثیر برخی از اجزای این افزودنی‌های خوراکی تولید می‌شوند (۸).

نتایج جدول۳ نشان داد اگرچه آنالیز واریانس تفاوت معنی‌داری را بین کاربرد غلظت‌های مختلف عصاره برگ زیتون در جیره بر میزان کلسترول سرم خون جوجه‌ها نشان نداد (P=۰/۰۹۳)، اما مطابق آزمون دانکن استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون در مقایسه با عدم استفاده از آن در جیره منجر به کاهش کلسترول سرم خون (به‌ترتیب ۱۱۱/۷ در برابر ۱۲۳/۸ میلی‌گرم بر دسی لیتر) جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی شد.

اثرات هم‌کوشی غلظت عصاره برگ زیتون و نوع روغن مکمل‌سازی شده در جیره بیانگر آن است که کمترین سطح کلسترول سرم خون را جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با روغن خام ذرت و حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون داشتند. در جیره‌های مکمل شده با روغن کنجد اثر غلظت عصاره برگ زیتون در کاهش غلظت کلسترول خون معنی‌دار نشد (P>۰/۰۵). تأثیر غلظت عصاره برگ زیتون بر مقدار تری‌گلیسرید سرم نشان دهنده کاهش مقدار تری-گلیسرید با افزایش غلظت عصاره برگ زیتون در جیره جوجه‌های گوشتی بود (P=۰/۰۷۱). به‌طوری که کمترین مقدار تری-گلیسرید (۴۰/۶ میلی‌گرم بر دسی لیتر) در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون در جیره مشاهده شد. اثرات هم‌کوشی غلظت عصاره برگ زیتون و نوع روغن مکمل سازی شده در جیره بر مقدار تری‌گلیسرید سرم جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی معنی‌دار بود. به‌طوری که در جیره‌های مکمل‌سازی شده با روغن خام ذرت استفاده از ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون منجر به کاهش معنی‌دار سطح تری‌گلیسرید سرم خون شد (P<۰/۰۵).

مشابه نتایج پژوهش حاضر گاواژ (تغذیه از طریق لوله معده) عصاره برگ زیتون در موش‌های صحرایی دیابتی شده با تزریق استرپتوزوتوسین (Sterptozotocin) در بین صفاق، منجر به کاهش گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول و لیپوپروتئین با چگالی کم خون[۲۷] (LDL) گردید (۱). همچنین استفاده از عصاره‌های سرشار از اولئوروپین و هیدروکسی تیروزول به‌طور معنی‌داری میزان گلوکز و کلسترول سرم را کاهش داد (۱۰). محققان اثرات ضد فشار خونی و کاهندگی کلسترول خون مشاهده شده در روغن و میوه زیتون و عصاره برگ زیتون در انسان و موش صحرایی را به توانایی اولئوروپین و ترکیبات فنلی روغن و عصاره برگ زیتون با قدرت مهار رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال نسبت می‌دهند که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند (۵). پژوهشگران بیان کردند مکانیزم کاهندگی کلسترول خون عصاره برگ زیتون ممکن است ناشی از ممانعت جذب کلسترول جیره از طریق روده و یا ممانعت از تولید آن در کبد و یا تحریک ترشحات صفراوی کلسترول و دفع آن از طریق فضولات باشد (۱۲).

در پژوهش حاضر(جدول ۳) تأثیر سطح عصاره برگ زیتون و نیز اثرات هم‌کنشی سطح عصاره با نوع روغن مکمل‌سازی شده در جیره بر مقدار اسیداوریک پلاسمای خون جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). به‌طوری که در جیره‌های مکمل سازی شده با روغن خام ذرت استفاده از سطوح ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون منجر به کاهش معنی‌دار سطح اسیداوریک پلاسمای خون شد. سایر پژوهشگران نیز در جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در معرض تنش گرمایی، افزایش در غلظت اسیداوریک، تری‌گلیسرید و کلسترول سرم خون را در مقایسه با جیره شاهد مشاهده کردند. مکمل-کردن غلظت‌های مختلف آلفا-توکوفریل‌استات[۲۸] (۶۲/۵ تا ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره) به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش معنی‌دار غلظت فراسنجه‌های خونی مذکور در سرم خون و در نتیجه کاهش اثرات منفی تنش گرمایی شد (۱۹).

نتایج جدول ۳ نشان داد که اثر هم‌کنشی غلظت عصاره برگ زیتون و نوع روغن مکمل شده در جیره بر میزان فعالیت آنزیم ALT معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). در غلظت صفر استفاده از عصاره برگ زیتون مکمل‌کردن روغن کنجد در مقایسه با روغن خام ذرت به‌طور معنی‌داری باعث کاهش فعالیت آنزیم ALT (۱۸/۶ دربرابر ۲۵/۸ واحد برلیتر)گردید. مکمل سازی پودر زردچوبه به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان گیاهی در سطوح ۰/۴ و ۰/۸ درصد باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های ترانسفرازی ALT و AST در پلاسما گردید. کاهش میزان فعالیت این آنزیم‌ها نمایانگر اثر منفی کمتر برکبد و متابولیزم بهتر در ماهیچه اسکلتی می‌باشد (۹).

در پژوهش حاضر (جدول۳) فعالیت آنزیم ALP سرم با افزودن عصاره برگ زیتون در هر دو غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره در مقایسه با جیره فاقد عصاره افزایش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). در پژوهش‌های دیگر نیز مکمل کردن آلفا-توکوفریل‌استات در جیره در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌دار غلظت ALP و همچنین فسفر و کلسیم سرم خون جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی را به همراه داشت (۱۹).

مطابق نتایج جدول ۴ اثر سطح عصاره برگ زیتون، نوع روغن مکمل شده در جیره و اثر هم‌کنشی سطح عصاره مصرفی و نوع روغن بر پاسخ‌های اولیه و ثانویه به تولید آنتی بادی تام، IgG و IgM و نیز بر واکنش حساسیت پوستی جوجه‌های گوشتی معنی‌دار نبود. اما در جیره‌های مکمل شده با روغن خام ذرت استفاده از عصاره برگ زیتون تا سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره منجر به تقویت واکنش ازدیاد حساسیت پوستی جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی شد. پتانسیل تعدیل سیستم ایمنی بوسیله داروهای گیاهی در پژوهش‌های مختلفی گزارش شده است. این اثرات در دامنه تغییرات مقدار mRNA به‌عنوان یک ژن نشان‌گر ضدالتهابی در میزان پادتن سلول‌های مختلف B و T می‌باشد. با این حال مکانیسم دقیق عمل گیاهان دارویی در این زمینه مشخص نیست و نیازمند انجام تحقیقات بیشتری می‌باشد (۸).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج آزمایش‌های برون‌تنی پژوهش حاضر بیانگر آن است که عصاره برگ زیتون و روغن کنجد از قدرت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً بالایی برخوردار می‌باشند. همچنین بر اساس آزمایش درون‌تنی در شرایط تنش گرمایی استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون در جیره جوجه‌های گوشتی، احتمالاً به‌دلیل افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با منشاء گیاهی در جیره منجر به افزایش طول پرز و تعادل فراسنجه‌های خونی (کاهش گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و اسیداوریک خون) پرنده و در نتیجه کاهش اثرات منفی تنش گرمایی می‌شود.

پاورقی‌ها

1 - Flavonoids
2 - Oleuropeosides
3 - Oleuropein
4 - Verbascoside
5 - Flavones
6 - Flavonols
7 - Flavan-3-ols
8 - Tocopherol
9 - Lignans
10 - Sesamin
11 - Sesamolin
12 - Sesamol
13 - Arachidonic acid
14 - 1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)
15 - Butylated hydroxytoluene (BHT)
16 - Half maximal inhibitory concentration (IC50)
17 - Cholesterol
18 - Triglyceride
19 - Uric acid
20 - Total protein
21 - Alkaline Phosphatase (ALP)
22 - Alanine Aminotransferase (ALT)
23 - Aspartate Aminotransferase (AST)
24 - Sheep Red Blood Cells (SRBC)
25 - Coutaneous Basophil Hypersensitivity(CBH)
26 - Duncan test
27- Low-density lipoprotein (LDL)
28 - α-tocopheryl acetate

منابع مورد استفاده

1. Abo Ghanema, I. I. and K. M. Sadek. 2012. Olive leaves extract restored the antioxidant perturbations in red blood cells hemolysate in streptozotocin induced diabetic rats. *World Academy of Science, Engineering and Technology,* 64: 159-165.

2. Al-Azzawie, H. F. and M. S. Alhamdani. 2006. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Science*, 78 (12): 1371-1377.

3. Amaral, J. S., R. M. Seabra, P. B. Andrade, P. Valentao, J. A. Pereira and F. Ferreres. 2004. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves. Food Chemistry, 88 (3): 373–379.

4. Banerjee, A., N. Dasgupta and B. De. 2005. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. Food Chemistry, 90 (4): 727-733.

5. Benavente-García, O., J. Castillo, J. Lorente, A. Ortuño and J. A. Del Rio. 2000. Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L. leaves. Food Chemistry, 68 (4): 457-462.

6. Burkholder, K. M., K. L. Thompson, M. E. Einstein, T. J. Applegate and J. A. Patterson. 2008. Influence of stressors on normal intestinal microbiota, intestinal morphology, and susceptibility to

Salmonella enteritidis colonization in broilers. *Poultry Science*, 87: 1734-1741.

7. Dekanski, D., S. Ristić and D. M. Mitrović. 2009. Antioxidant effect of dry olive (*Olea europaea* L.) leaf extracton ethanol-induced gastric lesions in rats. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 2: 205-211.

8. Golian, A., A. Akbarian, and H. Saleh. 2011. Medicinal herbs in animal nutrition. Ferdowsi University of Mashhad Publication, Mashhad. (In Farsi).

9. Hosseini-Vashan, S. J. 2012. Evaluation of natural antioxidant in diet contained vegetable oils and tallow on performance, immune system, skeletal parameters and antioxidant systems in Arian broiler chickens under heat stress. PhD thesis. Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad, Iran. (In Farsi).

10. Jemai, H., A. El Feki and S. Sayadi. 2009. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 8798 -8804.

11. Kanu, P. J., J. Z. Bahsoon, J. B. Kanu and J. B. A. Kandeh. 2010. Nutraceutical importance of sesame seed and oil: a review of the contribution of their lignans. *Sierra Leone Journal of Biomedical Research*, 2 (1): 4-16.

12. Krzeminski, R., S. Gorinstein, H. Leontowicz, M. Leontowicz, M. Gralak, J. Czerwinski, A. Lojek, M. Ciz, O. Martin-Belloso, N. Gligelmo-Miguel and S. Trakhtenberg. 2003. Effect of different olive oils on bile excretion in rats fed cholesterol-containing and cholesterol-free diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 5774-5779.

13. Laurent, C., P. Besancon and B. Caporiccio. 2005. Ethanol and polyphenolic free wine matrix stimulate the differentiation of human intestinal Caco-2 cells. Influence of their association with a procyanidin-rich grape seed extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 5541-5548.

14. MacDonald, T. T. and G. Monteleone. 2005. Immunity, inflammation, and allergy in the gut. *Science*. 307:1920-1925.

15. Mitchell, M. A. and A. J. Carlisle. 1992. The effects of chronic exposure to elevated environmental temperature on intestinal morphology and nutrient absorption in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: *Physiology*, 101: 137-142.

16. Quinteiro-Filho, W. M., A. Ribeiro, V. Ferraz-de-Paula, M. L. Pinheiro, M. Sakai, L. R. M. Sa, A. J. P. Ferreira and J. Palermo-Neto. 2010. Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens. *Poultry Science*, 89: 1905-1914.

17. Rafiee, Z., S. M. Jafari, M. Khomeiri and M. Alami. 2011. Effect of variety and method of extraction on antioxidant and antimicrobial activity of olive leaf extracts. *Iranian Food Science and Technology Research Journal,* 6 (4): 297-307. (In Farsi)

18. Sahin, K. and, O. Kucuk. 2003. Heat stress and dietary vitamin supplementation of poultry diets. Nutrition Abstracts and Reviews Series B: Livestock Feeds and Feeding, 73: 41–50.

19. Sahin, K., O. Kucuk, N. Sahin and M. F. Gursu. 2002. Optimal dietary concentration of vitamin E for alleviating the effect of heat stress on performance, thyroid status, ACTH and some serum metabolite and mineral concentrations in broilers. *Veterinary Medicine - Czech,* 47:110-116.

20. Sakamoto, K., H. Hirose, A. Onizuka, M. Hayashi, N. Futamura, Y. Kawamura and T. Ezaki. 2000. Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats. *Journal of Surgical Research,* 94: 99-106.

21. Samarth, R. M., M. Panwar, M. Kumar, A. Soni, M. Kumar and A. Kumar. 2007. Evaluation of antioxidant and radical scavenging activities of certain radioprotective plant extracts. *Food Chemistry*. 106: 868-873.

22. SAS Institute. 2008. SAS Stat User's Guide. Version 9.2 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

23. Sehm, J., H. Lindermayer, C. Dummer, D. Treutter and M. W. Pfaffl. 2007. The influence of polyphenol rich apple pomace or red-wine pomace diet on the gut morphology in weaning piglets. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 91: 289-296.

24. Selma, M. V., J. C. Espin and F. A. Tomas-Barberan. 2009. Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 6485-6501.

جدول۱- درصد ترکیبات و مواد مغذی جیره پایه بر اساس کاتالوگ سویه راس ۳۰۸

اجزای خوراکی	۱ تا ۱۰ روزگی	۱۱ تا ۲۴ روزگی	۲۵ تا ۴۲ روزگی
ذرت	۵۲/۵۵	۵۳/۰۵	۵۴/۱۲
کنجاله سویا	۳۴/۰۰	۳۴/۶۷	۳۴/۸۶
گلوتن ذرت	۵/۶۳	۳/۰۰	۱/۵۰
سنگ آهک	۱/۳۲	۱/۰۸	۱/۰۴
دی کلسیم فسفات	۱/۷۶	۱/۵۵	۱/۴
نمک	۰/۳۶	۰/۴۷	۰/۴۲
ترئونین	۰/۱۰	۰/۰۶	۰
لیزین	۰/۴۲	۰/۲	۰
متیونین	۰/۳۲	۰/۲۵	۰/۱۹
روغن ذرت فاقد آنتی اکسیدان [۱]	۳/۰۴	۵/۱۷	۵/۹۷
مکمل ویتامینی و معدنی [۲]	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
ترکیب محاسباتی			
انرژی قابل سوخت وساز ظاهری (kcal/kg)	۳۰۲۵/۰۸	۳۱۵۰/۱۱	۳۲۰۰/۰۵
پروتئین خام(٪)	۲۳/۵۲	۲۲/۰۰	۲۱/۰۰
کلسیم (٪)	۱/۰۵	۰/۹	۰/۸۵
فسفرقابل دسترس (٪)	۰/۵۰	۰/۴۵	۰/۴۲
متیونین+ سیستین (٪)	۱/۰۷	۰/۹۵	۰/۸۶
متیونین (٪)	۰/۷۱	۰/۶۰	۰/۵۳
لیزین (٪)	۱/۴۴	۱/۲۵	۱/۰۹
سدیم (٪)	۰/۱۶	۰/۲۰	۰/۱۸
تعادل کاتیون آنیون جیره [۴] (mEq kg–1)	۲۳۱	۲۴۵	۲۵۶

شش جیره غذایی تهیه شده در هر دوره زمانی عبارت بودند از: ۱) جیره پایه حاوی روغن خام ذرت و بدون مکمل عصاره برگ زیتون ۲) جیره پایه حاوی روغن کنجد و بدون مکمل عصاره برگ زیتون ۳) جیره پایه حاوی روغن خام ذرت و با افزودن ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون ۴) جیره پایه حاوی روغن کنجد و با افزودن ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون ۵) جیره پایه حاوی روغن خام ذرت و با افزودن ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون ۶) جیره پایه حاوی روغن کنجد و با افزودن ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون. ۱ در جیره‌های آزمایشی ۲، ۴ و ۶ روغن کنجد جایگزین روغن خام ذرت شد. ۲ هرکیلوگرم جیره حاوی: ویتامین A، ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله کلسیفرول، ۲۳۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۱۲۱ واحد بین‌اللملی؛ ویتامین K۳، ۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B۱۲، ۰/۰۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۴ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین؛ ۴ میلی‌گرم؛ اسید فولیك، ۱ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۰۳ میلی‌گرم؛ پیرودوکسین، ۴ میلی‌گرم؛ کولین کلراید، ۸۴۰ میلی‌گرم؛ اتوکسی کوئین، ۰/۱۲۵ میلی‌گرم؛ سولفات منگنز، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم (سلنات سدیم)، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۱ میلی‌گرم؛ سولفات مس، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ آهن، ۵۰ میلی‌گرم می باشد. ۳ تعادل کاتیون آنیون جیره =Dietary cation-anion balance (DCAB) Na+K-Cl.

جدول ۲- تأثیرافزودن عصاره برگ زیتون و روغن کنجد به جیره پایه بر بافت‌شناسی ژژونوم جوجه‌های نر گوشتی تحت تنش گرمایی در سن ۴۲ روزگی

تیمار	صفات بافت شناسی						
	طول پرز (µm)	عرض پرز (µm)	عمق کریپت (µm)	ضخامت اپیتلیوم (µm)	ضخامت لایه مخاطی و زیر مخاطی (µm)	سطح جذبی پرز (۲µm)	نسبت طول پرز به عمق کریپت
اثرات اصلی							
غلظت عصاره برگ زیتون (mg/kg)							
۰	۱۵۹۶/۴	۱۳۶/۱ a	۲۵۷/۸	۵۲/۸	۱۸۵۴/۲	۶۷۷۱۲۲	۶/۳۲
۲۰۰	۱۶۶۹/۹	۱۲۵/۲ b	۲۷۳/۵	۵۲/۹	۱۹۴۳/۵	۶۵۴۶۱۶	۶/۲۴
۴۰۰	۱۴۴۹/۴	۱۳۹/۷ a	۲۶۷/۷	۵۲/۱	۱۷۱۷/۲	۶۳۷۹۹۲	۵/۴۵
P-value	۰/۱۱۸	۰/۰۲۴	۰/۷۸۰	۰/۹۶۹	۰/۱۶۷	۰/۷۳۱	۰/۱۲۹
نوع روغن گیاهی							
روغن خام ذرت	۱۶۳۰/۴	۱۳۲/۰	۲۶۱/۵	۴۹/۳ b	۱۸۹۲/۱	۶۷۴۲۴۲	۶/۴۲ a
روغن کنجد	۱۵۱۳/۳	۱۳۵/۳	۲۷۱/۱	۵۵/۹ a	۱۷۸۴/۵	۶۳۸۹۱۱	۵/۵۹ b
P-value	۰/۱۷۹	۰/۴۳۲	۰/۶۰۵	۰/۰۳۱	۰/۲۶۸	۰/۳۸۹	۰/۰۳۳
اثرات همکنشی							
بدون عصاره برگ زیتون+ روغن خام ذرت	۱۵۸۳/۸ ab	۱۳۵/۴ ab	۲۸۴/۴	۵۰/۲	۱۸۲۶/۰ ab	۶۶۵۸۵۶	۶/۷۵ a
بدون عصاره برگ زیتون + روغن کنجد	۱۶۰۸/۶ ab	۱۳۶/۸ ab	۲۷۶/۰	۵۵/۴	۱۸۸۲/۴ ab	۶۸۸۳۸۸	۵/۸۹ ab
۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن خام ذرت	۱۶۹۹/۰ a	۱۲۱/۶ b	۲۸۰/۶	۴۸/۸	۱۹۷۹/۶ a	۶۴۹۹۳۶	۶/۲۹ a
۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن کنجد	۱۶۴۰/۸ a	۱۲۸/۸ ab	۲۶۶/۴	۵۷/۰	۱۹۰۷/۴ ab	۶۵۹۲۹۶	۶/۱۹ a
۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن خام ذرت	۱۶۰۸/۴ ab	۱۳۹/۰ a	۲۶۲/۰	۴۹/۰	۱۸۷۰/۶ ab	۷۰۶۹۳۴	۶/۲۳ a
۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن کنجد	۱۲۹۰/۴ b	۱۴۰/۴ a	۲۷۳/۴	۵۵/۲	۱۵۳۶/۸ b	۵۶۹۰۴۹	۴/۶۸ b
SEM	۴۲/۳۳	۲/۰۹	۹/۱۴	۱/۴۲	۴۷/۳۸	۲۰۱۲۳	۰/۱۸
P-value	۰/۲۴۶	۰/۸۰۸	۰/۵۹۸	۰/۹۰۹	۰/۳۰۲	۰/۲۱۶	۰/۲۹۶

a-b : میانگین‌های هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < ۰/۰۵$).

جدول۳- تأثیرافزودن عصاره برگ زیتون و روغن کنجد به جیره پایه بر برخی فراسنجه‌های سرم خون جوجه‌های نرگوشتی در شرایط تنش گرمایی در سن ۴۲ روزگی

تیمار	صفات بافت شناسی							
	گلوکز (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	تری گلیسرید (mg/dl)	اسید اوریک (mg/dl)	پروتئین تام (g/dl)	آسپارتات آمینوترانسفراز (U/l)	آلانین آمینوترانسفراز (U/l)	آلکالین فسفاتاز (U/l)
اثرات اصلی								
غلظت عصاره برگ زیتون (mg/kg)								
۰	۳۱۷/۵	۱۲۳/۸ a	۴۷/۵ a	۷/۲۷ a	۳/۰۲	۲۶۷/۰	۲۲/۲	۲۵۹۱/۱ b
۲۰۰	۲۹۴/۳	۱۱۱/۷ b	۴۱/۵ ab	۵/۸۷ b	۲/۹۸	۲۴۸/۸	۲۱/۸	۳۱۰۳/۷ a
۴۰۰	۳۱۳/۸	۱۱۹/۱ ab	۴۰/۶ b	۵/۵۲ b	۳/۲۲	۲۶۷/۴	۲۲/۳	۳۰۵۰/۷ a
P-value	۰/۲۰۸	۰/۰۹۳	۰/۰۷۱	۰/۰۰۵	۰/۳۵۱	۰/۴۷۱	۰/۹۴۳	۰/۰۲۷
نوع روغن گیاهی								
روغن خام ذرت	۳۱۴/۸	۱۱۶/۶	۴۰/۹	۵/۸۷	۳/۰۵	۲۶۳/۱	۲۳/۱	۳۰۴۱/۲
روغن کنجد	۳۰۲/۳	۱۱۹/۸	۴۵/۵	۶/۵۷	۳/۰۹	۲۵۹/۱	۲۱/۱	۲۷۸۹/۱
P-value	۰/۲۷۱	۰/۴۶۹	۰/۰۸۵	۰/۱۰۴	۰/۷۷۴	۰/۷۷۶	۰/۱۱۳	۰/۱۲۵
اثرات همکنشی								
بدون عصاره برگ زیتون+ روغن خام ذرت	۳۳۲/۸	۱۲۶/۶ a	۵۲/۲ a	۸/۰۰ a	۲/۵۵	۲۷۴/۸	۲۵/۸ a	۲۶۱۶/۸ b
بدون عصاره برگ زیتون + روغن کنجد	۳۰۲/۲	۱۲۱/۰ ab	۴۲/۸ ab	۶/۵۳ ab	۳/۱۶	۲۵۹/۲	۱۸/۶ b	۲۵۶۵/۴ b
۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن خام ذرت	۲۹۰/۸	۱۰۴/۸ b	۳۶/۶ b	۵/۳۶ bc	۳/۰۶	۲۴۴/۰	۲۲/۰ ab	۳۱۴۴/۴ ab
۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن کنجد	۲۹۷/۸	۱۱۸/۶ ab	۴۶/۴۶ a	۶/۳۷ b	۲/۹۰	۲۵۳/۶	۲۱/۶ ab	۳۰۶۳/۰ ab
۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن خام ذرت	۳۲۰/۸	۱۱۸/۴ ab	۳۴/۰ b	۴/۲۴ c	۳/۲۲	۲۷۰/۴	۲۱/۶ ab	۳۳۶۲/۴ a
۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن کنجد	۳۰۶/۸	۱۱۹/۸ ab	۴۷/۲ a	۶/۸۰ ab	۳/۲۲	۲۶۴/۴	۲۳/۰ ab	۲۷۳۹/۰ b
SEM	۵/۵۶	۲/۱۷	۱/۲۶	۰/۲۱	۰/۰۷	۶/۹۶	۰/۶۳	۷۹/۳۸
P-value	۰/۳۹۸	۰/۲۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۴۴۷	۰/۷۵۹	۰/۰۲۵	۰/۲۷۳

a-b : میانگین‌های هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p < ۰/۰۵).

جدول ۴- تأثیرافزودن عصاره برگ زیتون و روغن کنجد به جیره پایه بر تیتراولیه و ثانویه تولید آنتی بادی در پاسخ به تزریق آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفندی (بر حسب Log ۲) و تست ازدیاد حساسیت پوستی در شرایط تنش گرمایی

تیمار	پاسخ اولیه			پاسخ ثانویه			ازدیاد حساسیت پوستی
	آنتی بادی تام	ایمونو گلوبولین G	ایمونو گلوبولین M	آنتی بادی تام	ایمونو G گلوبولین	ایمونو گلوبولین M	میلی متر
اثرات اصلی							
غلظت عصاره برگ زیتون (mg/kg)							
۰	۷/۴	۶/۰	۱/۴	۶/۹	۵/۰	۱/۹	۰/۲۶
۲۰۰	۸/۲	۶/۹	۱/۳	۷/۶	۵/۵	۲/۱	۰/۳۳
۴۰۰	۷/۶	۶/۲	۱/۴	۷/۰	۵/۴	۱/۶	۰/۳۰
P-value	۰/۲۰۸	۰/۱۵۷	۰/۸۷۶	۰/۴۹۶	۰/۷۰۲	۰/۳۴۴	۰/۲۴۱
نوع روغن گیاهی							
روغن خام ذرت	۷/۹	۶/۵	۱/۴	۶/۸	۴/۹	۱/۹	۰/۳۰
روغن کنجد	۷/۶	۶/۳	۱/۳	۷/۵	۵/۷	۱/۸	۰/۲۹
P-value	۰/۴۷۹	۰/۶۰۹	۰/۷۱۸	۰/۱۶۷	۰/۱۰۲	۰/۶۳۲	۰/۵۵۳
اثرات همکنشی							
بدون عصاره برگ زیتون+ روغن خام ذرت	۷/۴	۵/۸	۱/۶	۶/۲	۴/۴	۱/۸	۰/۲۴ b
بدون عصاره برگ زیتون + روغن کنجد	۷/۴	۶/۲	۱/۲	۷/۶	۵/۶	۲/۰	۰/۲۸ ab
۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن خام ذرت	۸/۶	۷/۲	۱/۴	۷/۴	۵/۲	۲/۲	۰/۳۷ a
۲۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن کنجد	۷/۸	۶/۶	۱/۲	۷/۸	۵/۸	۲/۰	۰/۲۸ ab
۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن خام ذرت	۷/۶	۶/۴	۱/۲	۶/۸	۵/۰	۱/۸	۰/۳۱ ab
۴۰۰ میلی‌گرم عصاره برگ زیتون + روغن کنجد	۷/۶	۶/۰	۱/۶	۷/۲	۵/۸	۱/۴	۰/۲۹ ab
SEM	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۰۹	۰/۲۶	۰/۲۵	۰/۱۴	۰/۰۲
P-value	۰/۶۰۳	۰/۵۴۳	۰/۱۹۸	۰/۶۶۲	۰/۸۸۸	۰/۶۶۷	۰/۲۳۹

a-b : میانگین‌های هر ستون که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < ۰/۰۵$).