14(2) 83-92, Summer 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The effect of Protexin and vitamin C on blood immune cells, lymphoid organ's weight and blood antioxidant concentrations of broilers under heat stress

Ali Keikhosrokiani [1], Mohammad Chamani [1], Farhad Froudi [2], Ali Asghar Sadeghi [1], Mehdi Animafshar [1]*

[1] *Department of Animal science, Science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[2] *Department of Animal science, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran*

Key Words
Antioxidant
Broiler
Immune system
Probiotics
Vitamins

Abstract

Introduction: This study was aimed to investigate the effect of Protexin and vitamin C on blood-immune cells, lymphoid organs' weight, and blood antioxidant concentrations of broiler chickens under heat stress (HS).

Materials & Methods: A total of 400 one-day-old broiler chickens were used in a completely randomized design. Experimental groups included a negative control (without additive, no HS), positive control (without additive, HS), vitamin C, Protexin, and the combination of Protexin and vitamin C groups. Birds were exposed to chronic HS (35±1˚C, humidity: 65-70%) for 7 hours daily from days 14 to 35. Eight birds from each treatment were slaughtered on days 14 and 28 and the relative weight of lymphoid organs including the spleen, Bursa of Fabricius, and thymus were calculated. The number of immune cells was assessed weekly. The blood antioxidants concentration was evaluated weekly.

Results: According to the results, VitC+Protexin group showed the highest Bursa spleen and thymus weight during HS (P≤0.05). Also, protexin group showed a higher thymus and spleen weight during HS than the positive control (P≤0.05). HS reduced the ratio of heterophils to lymphocytes (P≤0.05). However, the addition of vitamin C and Proteoxin reduced the count of heterophils compared to the positive control during HS. The results showed that vitamin C significantly increased the concentration of superoxide dismutase and catalase and decreased the concentration of glutathione peroxidase in the broiler's blood during HS (P≤0.05). According to the results of this study, the VitC+Protexin showed a better performance than other groups. the concentration of glutathione peroxidase in the broilers blood during HS (P≤0.05).

Conclusion: According to the obtained results, VitC+Protexin treatment showed the best performance compared to other treatments.

* Corresponding Author's email: m.chamani@srbiau.ac.ir
Received: 1 April 2021; Reviewed: 8 May 2021; Revised: 11 July 2021; Accepted: 15 August 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.297895.2598

مقاله پژوهشی

اثر پروتکسین و ویتامین C برسلول‌های ایمنی خون، وزن اندام‌های لنفوئیدی و غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان خون جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی

علی کیخسروکیانی[۱]، محمد چمنی*[۱]، فرهاد فرودی[۲]، علی‌اصغر صادقی[۱]، مهدی امین‌افشار[۱]

[۱] گروه علوم دامی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۲] گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

کلمات کلیدی

آنتی‌اکسیدان
پروبیوتیک
سیستم ایمنی
طیور گوشتی
ویتامین‌ها

چکیده

مقدمه: هدف این پژوهش بررسی اثر پروتکسین و ویتامین C برسلول‌های ایمنی، وزن اندام‌های لنفوئیدی وغلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان خون جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ٤۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. گروه‌های آزمایشی شامل گروه شاهد منفی (بدون افزودنی، بدون تنش گرمایی)، شاهد مثبت (بدون افزودنی، با تنش گرمایی)، گروه‌های ویتامین C، پروتکسین و ترکیب پروتکسین و ویتامین C بودند. پرندگان روزانه به مدت ۷ ساعت، از ١٤ تا ۳۵ روزگی در معرض تنش گرمایی مزمن ($۳۵\pm۱^{\circ}C$، رطوبت ٦۵ تا ۷۰٪) قرار گرفتند. وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی شامل طحال، بورس فابریسیوس و تیموس ۸ قطعه پرنده از هر تیمار در روزهای ١٤ و ۲۸ محاسبه گردید. هم‌چنین تعداد سلول‌های ایمنی جوجه‌ها پس ازخونگیری اندازه‌گیری‌شد. غلظت آنتی‌اکسیدان‌های خون نیز به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج این آزمایش نشان داد که گروه ویتامینC+پروتکسین بیش‌ترین وزن اندام‌های بورس، طحال و تیموس در حین تنش حرارتی را دارد. هم‌چنین گروه دریافت‌کننده پروتکسین نسبت به گروه شاهد مثبت وزن بورس و طحال بیش‌تری را در حین تنش حرارتی داشت ($P\leq۰/۰۵$). تنش حرارتی سبب افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد ($P\leq۰/۰۵$)، اما افزودن ویتامین C و پروتکسین سبب کاهش تعداد هتروفیل‌ها شد ($P\leq۰/۰۵$). نتایج نشان داد که ارایه ویتامین C سبب افزایش غلظت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و کاهش میزان گلوتاتیون پراکسیداز خون جوجه‌های گوشتی طی تنش حرارتی شده است ($P\leq۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به‌دست آمده، تیمار ویتامین C+پروتکسین بهترین عملکرد را نسبت به سایر تیمارها نشان داد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: m.chamani@srbiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۲ فروردین ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۱۸ اردیبهشت ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۲۰ تیر ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۲٤ مرداد ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.297895.2598

مقدمه

تنش گرمایی (HS) یک مشکل اساسی در صنعت طیور به‌ویژه در خاورمیانه و مناطق گرمسیری است. این مورد بیش‌تر زمانی اتفاق می‌افتد که پرندگان طی فصل تابستان در شرایطی با تراکم بالا پرورش می‌یابند. تنش گرمایی تاثیر نامطلوب برپرندگان و طیور صنعتی دارد، در شرایطی که دمای زیاد محیط با رطوبت زیاد همراه باشد، له له زدن، افزایش دمای بدن و مصرف آب در پرندگان افزایش (۱). مرغ‌های امروزی به‌دلیل رشد سریع به دمای بالای محیطی حساس هستند و در پاسخ به تنش گرمایی دچار تغییرات فیزیولوژیکی مانند تنش اکسیداتیو سلولی، بی‌نظمی سیستم ایمنی، کاهش رشد، کاهش عملکرد و هم‌چنین اختلال در عملکرد سد روده‌ای و افزایش مرگ و میر ناشی از آن می‌شوند (۲، ۳، ۴). بنابراین تنش گرمایی می‌تواند ضرر اقتصادی هنگفتی به صنعت طیور وارد نماید. در راستای اثرات منفی تنش حرارتی بر عملکرد طیور مطالعاتی قبلاً انجام شده است. پرورش طیور یکی از مهم‌ترین و سودآوردترین فعالیت‌های تجاری در سطح دنیا می‌باشد. این سوددهی اقتصادی به موارد بسیاری ازجمله توانایی پرندگان در تبدیل هرچه بهتر مواد خوراکی به پروتئین بستگی دارد. تعامل بیوشیمیایی بین پرندگان و میکروارگانیسم‌های موجود در دستگاه گوارش سبب استخراج مواد مغذی خوراک می‌گردد (۵). بنابراین، حضور باکتری‌های مفید در دستگاه گوارش پرندگان نقش بسیار مهمی در بهبود تولید و عملکرد، تنظیم سیستم ایمنی و محافظت در برابر باکتری‌های بیماری‌زا دارد (۶). امروزه افزایش جمعیت و ضرورت دستیابی به منابع سالم و بهداشتی پروتئینی، موجب رونق هر چه بیش‌تر صنعت طیور گشته است. پرورش متراکم طیور احتمال ابتلا به انواع عفونت‌های میکروبی نظیر سالمونلا، کمپیلو باکتر و کلستریدیوم پرفرنژنس را افزایش می‌دهد. به‌منظور بهبود ضریب رشد و هم‌چنین پیشگیری و درمان انواع عفونت‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها به‌میزان زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرند. از طرف دیگر حضور باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی در گوشت و تخم‌مرغ و به‌دنبال آن بروز انواع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی موجب تهدید سلامت مصرف‌کنندگان می‌شود. با توجه به روند رو به گسترش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و شیوع روزافزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی امروزه تلاش می‌شود از ترکیبات جایگزین نظیر پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها استفاده شود. به‌دلیل اثرات سلامت بخش این ترکیبات نظیر افزایش رشد، بهبود تولید تخم‌مرغ، تقویت سیستم ایمنی و بهبود وضعیت سلامتی، مصرف آن‌ها به‌عنوان مکمل غذایی در جیره طیور رو به گسترش است (۷، ۸). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های حاوی باکتری‌های مفید زنده‌ای هستند، که از طریق بالانس جمعیت میکروبی روده، اثرات سودمندی بر حیوان میزبان می‌گذارند. پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یک افزودنی میکروبی زنده در طی مراحل استرس مانند گرما، تراکم بالا، عفونت و.... سبب بهبود عملکرد و تنظیم سیستم ایمنی پرنده می‌شوند. مهم‌ترین ویژگی پروبیوتیک‌ها ضمن کاهش بیماری و بهبود ضریب تبدیل غذایی در دام و طیور، این است که هیچ‌گونه باقی‌مانده بافتی نداشته و برخلاف آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت میکروبی ایجاد نمی‌نمایند (۹). پروبیوتیک‌ها از طریق تحریک انتخابی، رشد و یا فعال نمودن یک یا تعداد محدودی از باکتری‌ها در دستگاه گوارش که عمدتاً تولید کننده اسیدهای چرب کوتاه زنجیر هستند، اثرات مثبتی بر روی میزبان می‌گذارند. در مطالعات مختلف گزارش شده است که استفاده از پروبیوتیک‌ها باعث افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش رادیکال‌های آزاد می‌گردد. پروبیوتیک‌ها وقتی در شرایط مناسب دستگاه گوارش قرار می‌گیرند تکثیر شده و اثرات مضر تنش گرمایی در طیور را کاهش می‌دهند که ممکن است این عمل را از طریق نگه‌داری یا افزایش عملکرد سد روده‌ای اعمال کنند (۵، ۸). هم‌چنین گزارش شده است که به‌نظر می‌رسد پروبیوتیک‌ها باعث افزایش هضم و جذب پروتئین‌های جیره می‌شوند. پروبیوتیک‌ها این عمل را به‌وسیله کنترل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و تحت تاثیر قرار دادند باکتری‌های تجزیه کننده پروتئین، تحریک پروتئازهای و فعالیت پپتیدازی دستگاه گوارش میزبان، رهاسازی آنزیم‌های خارجی دخیل در هضم پروتئین، بهبود جذب پپتیدهای ریز و اسیدهای آمینه، بهبود قابلیت جذب اپیتلیوم روده و در نهایت کاهش تخمیر پروتئین‌های مضر و کاهش اثرات سمی متابولیت‌های ثانویه انجام می‌دهند (۱۰). پروتکسین یک پروبیوتیک است که حاوی گونه‌های مختلف از باکتری‌های مفید (شامل *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Bifidobacterium bifidum, Enterococcus faecium, Lactobacillus rhamnoses*) و گونه‌های قارچی (شامل *Aspergillus oryzae* و *Candida pintolopesii*) می‌باشد (۱۰، ۱۱). گزارش شده است که این محصول با کنترل شرایط فلور میکروبی دستگاه گوارش، می‌تواند نقش بسیار مهمی در کنترل بیماری‌ها و تقویت سیستم ایمنی داشته باشد (۱۲). اسیدآسکوربیک یا ویتامین C یک ویتامین محلول در آب است که ppm ۴۰-۲۰۰ آن پارامترهای رشد در جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی را بهبود می‌دهد. مصرف مکمل ویتامین C در رژیم غذایی جوجه‌های تحت تنش گرمایی موجب افزایش وزن بدن و بهبود عملکرد جوجه‌ها می‌شود هم‌چنین اسید اسکوربیک با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی تنش گرمایی را خنثی می‌کند (۱۳، ۱۴). اسیداسکوربیک در واکنش‌های بیوشیمیایی بی‌شماری شرکت می‌کند. در تنش گرمایی، پرندگان قادر به تولید مقدار کافی اسیداسکوربیک نیستند، که دلیل آن درتنش گرمایی کاهش خوراک مصرفی و متعاقباً کاهش مواد مغذی و کاهش

خون‌رسانی به دستگاه گوارش و به‌هم خوردن تعادل یونی در خون و نارسایی در قشر آدرنال کلیه است. غلظت بالای ویتامین C در آدرنال مرتبط با نقش مهم آن در سنتز هورمون‌های اصلی مربوط به تنش یعنی اپی‌نفرین، نوراپی‌نفرین و کورتیکوسترون می‌باشد. وظیفه این هورمون‌ها بسیج انرژی برای وظایف ضروری بدن همانند جریان خون، دفع حرارت بدن و تنفس می‌باشد (۱۵). بنابراین مکمل اسید اسکوربیک می‌تواند به‌طور قابل توجهی دمای بدن را کاهش دهد. با عنایت به‌موارد ارایه شده، هدف از اجرای این پژوهش، بررسی اثر تنش حرارتی بر وزن اندام‌های لنفوئیدی و غلظت آنتی‌اکسیدان‌های خون جوجه‌های گوشتی و نقش احتمالی پروبیوتیک پروتکسین و ویتامین C در کاهش این اثرات بود.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی و گروه‌ها: این آزمایش در تابستان سال ۱۳۹۷ به‌مدت چهل و دو روز در یکی از فارم‌های پرورش طیور واقع در استان البرز، در شهرستان هشتگرد اجرا گردید. در این پژوهش ترکیب جیره پایه براساس دو دوره پرورشی آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی) و دوره پایانی (۲۲ تا ۴۲ روزگی) محاسبه گردید. مبنای محاسبه اجزای جیره براساس احتیاجات انرژی و پروتئین و سایر مواد مغذی جوجه‌ها که در دفترچه راهنمای تغذیه‌ای این سویه بود (Ross 308). این پژوهش به‌منظور بررسی اثر مصرف ویتامین C و پروبیوتیک پروتکسین در زمان تنش گرمایی؛ به‌منظور کاهش اثرات مضر تنش گرمایی در طیور و تاثیرگذاری این ویتامین و افزودنی بر سیستم ایمنی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون جوجه‌های گوشتی انجام گرفت. به‌منظور ایجاد ۵ تیمار غذایی ویتامین C محلول در آب و پروبیوتیک پروتکسین (شامل میکروارگانیسم‌های *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Bifidobacterium bifidum, Enterococcus faecium, Lactobacillus rhamnoses*) به‌میزان (۲×۱۰^{۹} CFU/g) از شرکت نیکوتک (نماینده شرکت Probiotics International در تهران، ایران) درهفته اول ۱گرم در هر لیتر و در هفته‌های سوم تا انتهای پرورش به‌میزان ۲،۵ گرم درهر لیتر آب به پرندگان ارایه شد. گروه‌های آزمایشی شامل گروه شاهد منفی (-) (بدون افزودنی و بدون تنش گرمایی)، شاهد مثبت (+) (بدون افزودنی ولی در معرض تنش گرمایی)، گروه دریافت‌کننده مکمل ویتامین C، گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک پروتکسین و گروه دریافت کننده مخلوطی از پروبیوتیک و ویتامین C بودند. جوجه‌ها به‌صورت تصادفی در پن‌ها قرارگرفتند و پرنده‌ها در حد اشتها تغذیه شدند. پرندگان روزانه به‌مدت ۷ ساعت، از روز ۱۴ تا ۳۵ روزگی در معرض تنش گرمایی مزمن با درجه حرارت ۱،۵±۳۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

حیوانات و طراحی آزمایش: در این آزمایش هر تیمار دارای ۴ تکرار با ۲۰ قطعه جوجه گوشتی در هر تکرار بود و در مجموع ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. در این آزمایش ۲۰ عدد پن با ابعاد ۱متر×۱/۳متراستفاده شد و از ابتدا تا انتهای آزمایش، جوجه‌ها در داخل پن‌ها و بر روی بستری ازجنس پوشال پرورش داده شدند. آب و خوراک نیز به‌صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار گرفت. واکسیناسیون جوجه‌ها مطابق برنامه استاندارد سویه اجرا شد. شدت نور از هفته اول تا روز ۴۲ پرورش به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی در هفته اول و در هفته دوم تا انتهای دوره ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت خاموشی لحاظ شد. درجه حرارت سالن در هفته اول ۳۲ الی ۳۳ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی حداقل ۶۵ الی ۷۰ درصد تنظیم شد و پس از آن هر هفته ۲ الی ۳ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد اعمال گردید. قبل از شروع آزمایش ترکیب شیمیایی و محتوای کل اسیدآمینه قابل هضم تمام اقلام خوراک مورد آنالیز قرار گرفت و جیره‌ها براساس مقادیر اسید آمینه قابل هضم (SID) و ترکیبات شیمیایی اقلام مورد استفاده در جیره‌ها از جداول استاندارد استخراج و تنظیم گردید. ترکیبات و اجزای جیره در طول دوره پرورشی در جداول ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱: ترکیبات جیره آغازین و پایانی جوجه‌های گوشتی

ردیف	ترکیبات جیره (٪)	دوره آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی)	دوره پایانی(۲۱ تا ۴۲ روزگی)
۱	ذرت ۷،۵ ٪	۵۶،۶۷	۶۷،۰۷
۲	سویا ۴۳٪	۳۷	۲۷
۳	روغن سویا	۲	۲
۴	دی‌کلسیم‌فسفات (DCP)	۱،۹	۱،۶
۵	کربنات کلسیم	۰،۹	۰،۸
۶	نمک	۰،۲	۰،۲
۷	جوش شیرین	۰،۲۵	۰،۲۵
۸	متیونین	۰،۲۸	۰،۲
۹	لیزین هیدروکلراید	۰،۱۳	۰،۱۳
۱۰	ترئونین	۰،۰۷	۰،۰۵
۱۱	مکمل ویتامینه	۰،۳	۰،۲۵
۱۲	مکمل معدنی	۰،۳	۰،۲۵

هر کیلوگرم پرمیکس ویتامین حاوی: ۱۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۰۰۰ واحد ویتامین D3، ۵۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۳،۲ میلی‌گرم ویتامین B1، ۸،۶ میلی‌گرم ویتامین B6، ۰،۱۷ میلی‌گرم ویتامین B12، ۶۵ میلی‌گرم اسید فولیک، ۲،۲ میلی‌گرم پنتوتنیک اسید. هر کیلوگرم پرمیکس معدنی شامل: ۴۰۰ میلی‌گرم مس، ، ۱۶ میلی‌گرم کولین کلراید ، ۲۰ میلی‌گرم اهن ، ۱۲۰ میلی‌گرم منگنز ، ۱۱۰ میلی‌گرم روی، ۱،۲۵ میلی‌گرم ید و ۰،۳ میلی‌گرم سلنیوم.

جدول ۲: غلظت مواد مغذی جیره آغازین و پایانی جوجه‌های گوشتی

ردیف	اجزای جیره	دوره آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی)	دوره پایانی(۲۱ تا ۴۲ روزگی)
۱	انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)	۲۹۳۰	۳۰۳۰
۲	پروتئین خام (٪)	۲۱,۲	۱۷,۸
۳	میتوینین+سیستئین قابل هضم (٪)	۰,۷۳	۰,۷۳
۴	لیزین (٪)	۱,۱۳	۰,۹۳
۵	ترئونین/لیزین	۰,۶۴	۰,۶۴
۶	والین/لیزین	۰,۷۵	۰,۷۵
۷	کلسیم (٪)	۰,۹	۰,۷۷
۸	فسفر قابل جذب (٪)	۰,۴۵	۰,۳۸

ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون: جهت تعیین متابولیت‌های خونی جوجه‌های گوشتی در تیمارهای مختلف، درروزهای ۱۴ و ۲۸ از هر واحد آزمایشی ۲ قطعه جوجه (ازهر تکرار یک پرنده و درکل ۲۴ پرنده از هر تیمار) به‌صورت تصادفی و نزدیک به میانگین وزنی هر پن انتخاب شد. هم‌چنین برای ارزیابی آنزیم آنتی‌اکسیدانی هر هفته یک‌بار خونگیری انجام شد. خونگیری با استفاده از سوزن با قطر ۱۹ از ورید بال انجام و در مجموع حدود ۶ میلی‌لیتر خون جمع‌آوری شد که ۳ میلی‌لیتر آن به آرامی در لوله‌های شیشه‌ای حاوی هپارین ریخته شد. هر لوله به‌مدت دو دقیقه به آرامی با وارونگی مکرر مخلوط شد. جهت اخذ سرم خون پرنده‌ها، میزان ۳ میلی‌لیتر باقی‌مانده نمونه، در لوله‌های غیر هپارین تزریق و به‌صورت کج در زاویه ۴۵ درجه در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس، نمونه‌ها برای تجزیه و تحلیل به آزمایشگاه ارسال شدند. در آزمایشگاه، برای به‌دست آوردن سرم خون، نمونه‌هایی که در لوله های غیرهپارین شده قرار داشتند به‌مدت ۱۵ دقیقه با شتاب ۳۰۰۰×g در دقیقه سانتریفیوژ شده و تا زمان انجام ارزیابی‌ها در فریزر منفی ۴۰ نگه‌داری شدند. غلظت آنتی‌اکسیدان‌های سوپراکسیددسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز سرم خون به‌روش کالریمتریک با کیت‌های شرکت پارس آزمون تحت لیسانس کمپانی دیاکنوستیک سیستمز آلمان (DiaSys Diagnostic Systems) اندازه‌گیری شد (۱۶).

اندازه‌گیری وزن اندام‌های تیموس، طحال و بورس فابرسیوس: جهت ارزیابی اندام‌های لنفوئیدی در روزهای ۱۴ (قبل از شروع تنش گرمایی) و ۲۸ (درحین تنش گرمایی) از هر پن دو عدد پرنده و در مجموع ۸ پرنده که متوسط وزن آن‌ها، به میانگین آن واحد آزمایشی نزدیک‌تر بود به‌ازای هر تیمار انتخاب و پس از کشتار، اندام‌های تیموس، طحال و بورس فابرسیوس جدا و پاک‌سازی شدند. سپس این اندام‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰,۰۰۱ توزین شده و با توجه به وزن پرندگان، به‌صورت نسبتی از وزن زنده پرنده مورد آنالیز قرار گرفتند (۱۷).

ارزیابی تعداد سلول‌های ایمنی خون: تعداد سلول‌های سفید خون در روزهای ۱۴ (قبل از شروع تنش گرمایی) و ۳۵ (حین تنش حرارتی) ارزیابی شد. برای این ارزیابی از هر تیمار ۲ پرنده با میانگین وزنی نزدیک به میانگین هر گروه انتخاب و پس از خونگیری، حدود یک میلی‌لیتر از خون بروی هرکدام از لام‌ها (n=2) ریخته و با کمک لام دیگری گسترش ایجاد شد. سپس اسلایدها به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شده و سلول‌های سفید با میکروسکوپ نوری شمارش شدند. میانگین دو اسلاید به‌عنوان عدد هرکدام از سلول‌ها مد نظر قرار گرفت. نسبت هتروفیل به لمفوسیت هم بر همین اساس ارزیابی گردید (۱۳).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از آمایش‌های این پژوهش در قالب رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شدند. پیش از تجزیه و تحلیل آماری، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از روش UNIVARIATE چک شده و درصورتی‌که داده‌ها نرمال نبودند از تبدیل داده‌ها برای نرمال‌سازی استفاده گردید (۱۸). با وزن اندام‌های ایمنی و شمار سلول‌های ایمنی خون از معادله ۱ و برای تجزیه و تحلیل داده‌های مرتبط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خون از مدل ۲ استفاده شد. در مدل ۲ اثر زمان نیز در معادله مدل آورده شده و داده‌های مرتبط با اثر متقابل تیمار و زمان در بخش نتایج آورده شده است. هم‌چنین برای مقایسات میانگین داده‌های مرتبط از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. و مدل آماری زیر برای تجزیه داده‌هامورد استفاده قرارگرفت. مقایسه‌هایی که P-Valueها کوچک‌تر از ۰,۰۵ بود به‌عنوان مقایسات معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

مدل آماری ۱): $Y_{ij}= \mu+ T_i +e_{ij}$

مدل آماری ۲): $Y_{ijk}= \mu+ t_i + T_j +e_{ijk}$

در این رابطه‌ها Y_{ij} و Y_{ijk} نشان‌دهنده اندازه هر مشاهده از آزمایش، μ نشان‌دهنده میانگین جامعه، T_i و T_j نشان‌دهنده اثر تیمار، t_i نشان دهنده‌اثر تکرار و e_{ij} و e_{ijk} نشان‌دهنده اثر باقی‌مانده یا اشتباه آزمایشی است.

نتایج

نتایج مربوط به اثر مصرف پروتکسین بر وزن اندام‌های لنفوئیدی، تعداد سلول‌های سفید و غلظت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی سرم خون جوجه‌های گوشتی در جداول ۳ تا ۵ ارایه شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که تنش حرارتی از نظر عددی سبب کاهش وزن نسبی ارگان‌های دخیل در سیستم ایمنی پرنده نظیر بورس و طحال گردید. گروه ویتامینC+پروبیوتیک بیش‌ترین وزن اندام‌های بورس، طحال و تیموس در حین تنش حرارتی نبست به گروه‌های شاهد مثبت و منفی

نشان‌داد (P≤۰/۰۵). گروهی که فقط پروتکسین دریافت کرده بود نسبت به گروه شاهد (+) وزن بورس و وزن طحال بیش‌تری را در حین تنش حرارتی نشان داد (P≤۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان داد که قبل از تنش حرارتی وزن اندام‌های لنفوئیدی بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشتند (p>۰/۰۵). هم‌چنین نتایج این پژوهش نشان داد که تنش حرارتی سبب افزایش تعداد هتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل خون پرندگان می‌شود. اما براساس نتایج ارایه شده در جدول ۴ تعداد لمفوسیت‌ها در شرایط تنش حرارتی کاهش می‌یابد. افزایش هتروفیل‌ها و کاهش تعداد لمفوسیت‌ها سبب کاهش نسبت هتروفیل به لمفوسیت‌ها شده است (P≤۰/۰۵). گروه‌هایی که تحت تنش حرارتی بودند، بیش‌ترین تعداد هتروفیل‌ها را در حین تنش نسبت به گروه شاهد (–) نشان دادند. اما افزودن ویتامین C و پروتکسین سبب کاهش تعداد هتروفیل‌ها نسبت به گروه شاهد (+) در حین تنش حرارتی شده است (P≤۰/۰۵). از طرفی دیگر تنش حرارتی سبب کاهش تعداد لمفوسایت‌ها خون شده است (P≤۰/۰۵) که با ارایه ویتامین C و پروتکسین، این میزان تا حدی افزایش پیدا کرده و با گروه شاهد (+) تفاوت معنی‌دار ایجاد کرده است (P≤۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان‌داد که بیش‌ترین میزان لمفوسیت‌ها و بازوفیل‌ها در گروه شاهد (–) مشاهده شد که هیچ‌گونه تنش حرارتی را متحمل نشده بود (p>۰/۰۵). براساس نتایج ارایه شده در جدول ۵ افزودن ویتامین C و پروتکسین به‌صورت انفرادی یا توام سبب بروز تغییر معنی‌دار در تعداد مونوسیت‌های خون جوجه‌های گوشتی نشده است (p>۰/۰۵). هم‌چنین نتایج نشان داد که در کلیه پارامترها قبل از تنش حرارتی، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تیماری مشاهده نشد. نتایج غلظت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در طی دوره آزمایشی به‌عنوان مهم‌ترین اجزای سیستم آنتی‌اکسیدانی خون در جدول ۵ ارایه شده است (اثر متقابل تیمار و زمان). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که بروز تنش حرارتی اثر معنی‌داری بر کاهش غلظت سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز خون جوجه‌های گوشتی در حین تنش گرمایی نداشت (p>۰/۰۵). اما ارایه ویتامین C سبب افزایش معنی‌دار غلظت سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز در خون جوجه‌های گوشتی طی تنش حرارتی شده است (P≤۰/۰۵). افزودن پروتکسین به جیره جوجه‌های گوشتی به تنهایی اثر معنی‌داری بر غلظت سوپراکسید دسموتاز در هفته دوم و سوم و غلظت کاتالاز در هفته دوم نداشته است (p>۰/۰۵). براساس نتایج ارایه شده در جدول ۵، تنش حرارتی سبب کاهش شدید و معنی‌دار میزان گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود (P≤۰/۰۵). بر این اساس غلظت این آنزیم در گروه شاهد (+) کم‌تر از همه گروه‌های تیماری طی تنش حرارتی بود (P≤۰/۰۵). افزودن ویتامین C و پروتکسین سبب افزایش غلظت گلوتاتیون پراکسیداز خون جوجه‌های گوشتی شده و نسبت به گروه شاهد (+) تفاوت آماری معنی‌داری نشان دادند (P≤۰/۰۵). در طی هفته دوم و سوم که جوجه‌ها تحت تنش حرارتی بودند، ارایه ویتامین C به‌صورت تنها یا توام با پروتکسین سبب افزایش معنی‌دار غلظت گلوتاتیون پراکسیداز گردید (P≤۰/۰۵).

جدول ۳: اثر متقابل افزودن پروتکسین و ویتامین C بر وزن اندام‌های لنفوییدی وسیستم ایمنی پرندگان در دوره قبل (روز ۱۴) و حین تنش حرارتی (روز ۲۸) (Means ± SE)

وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی (گرم)	تیمارهای آزمایشی					*p*-Value
	شاهد (–)	شاهد (+)	ویتامین C	پروتکسین	ویتامین C+پروتکسین	
وزن بورس (قبل از تنش)	۰,۵۸ ± ۰,۰۲	۰,۵۹ ± ۰,۱۰	۰,۶۸ ± ۰,۰۵	۰,۶۵ ± ۰,۰۵	۰,۶۴ ± ۰,۱۳	۰,۹۱
وزن بورس (حین تنش)	۰,۲۳ ± ۰,۰۱^{bc}	۰,۲۰ ± ۰,۰۱^{c}	۰,۲۰ ± ۰,۰۱^{c}	۰,۲۶ ± ۰,۰۱^{ab}	۰,۳۱ ± ۰,۰۳^{a}	۰,۰۱
وزن تیموس (قبل از تنش)	۰,۷۱ ± ۰,۱۵	۰,۶۱ ± ۰,۰۶	۰,۵۳ ± ۰,۰۵	۰,۷۶ ± ۰,۱۴	۰,۶۸ ± ۰,۰۵	۰,۵۹
وزن تیموس (حین تنش)	۰,۱۶ ± ۰,۰۱^{b}	۰,۱۷ ± ۰,۰۲^{b}	۰,۲۸ ± ۰,۰۳^{a}	۰,۲۴ ± ۰,۰۳^{ab}	۰,۲۹ ± ۰,۰۳^{a}	۰,۰۱
وزن طحال (قبل از تنش)	۰,۲۲ ± ۰,۰۳	۰,۲۲ ± ۰,۰۱	۰,۲۴ ± ۰,۰۱	۰,۲۳ ± ۰,۰۱	۰,۲۴ ± ۰,۰۲	۰,۹۳
وزن طحال (حین تنش)	۰,۱۲ ± ۰,۰۱^{bc}	۰,۱۰ ± ۰,۰۱^{c}	۰,۱۱ ± ۰,۰۶^{bc}	۰,۱۴ ± ۰,۰۱^{ab}	۰,۱۶ ± ۰,۰۱^{a}	۰,۰۱

a-c: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ستون از نظر آماری معنی‌دار است (P≤۰/۰۵).

جدول ۴: اثر افزودن ویتامین C و پروتکسین بر تعداد سلول‌های ایمنی (در یک قطره ۱۰ میکرولیتری از خون) و نسبت هتروفیل به لمفوسیت خون پرندگان در دوره قبل (روز ۱۴) و حین تنش حرارتی (روز ۲۸) (Means ± Se)

سلول‌های ایمنی خون	تیمارهای آزمایشی					*p*-Value
	شاهد (–)	شاهد (+)	ویتامین C	پروتکسین	ویتامین C+پروتکسین	
هتروفیل (قبل از تنش)	۲۷,۹۸ ± ۰,۲۲	۲۷,۵۶ ± ۰,۷۴	۲۸,۳۸ ± ۰,۲۲	۲۸,۰۷ ± ۰,۴۳	۲۸,۰۱ ± ۰,۰۷	۰,۷۰
هتروفیل (حین تنش)	۲۸,۵۳ ± ۰,۱۷^{d}	۴۰,۸۲ ± ۰,۶۹^{a}	۳۷,۷۹ ± ۰,۵۰^{bc}	۳۸,۵۱ ± ۰,۲۷^{b}	۳۶,۸۱ ± ۰,۴۴^{c}	۰,۰۱
لمفوسایت (قبل از تنش)	۶۴,۰۹ ± ۰,۳۷	۶۳,۷۵ ± ۰,۷۷	۶۲,۸۰ ± ۰,۳۳	۶۳,۵۳ ± ۰,۶۵	۶۴,۰۸ ± ۰,۲۱	۰,۴۲
لمفوسایت (حین تنش)	۶۳,۷۶ ± ۰,۳۲^{a}	۴۹,۶۰ ± ۰,۶۶^{d}	۵۲,۹۹ ± ۰,۳۵^{bc}	۵۱,۹۷ ± ۰,۲۸^{c}	۵۴,۰۶ ± ۰,۴۴^{b}	۰,۰۱
بازوفیل (قبل از تنش)	۲,۷۴ ± ۰,۲۲	۲,۹۳ ± ۰,۱۴	۲,۹۹ ± ۰,۱۵	۲,۷۸ ± ۰,۰۶	۲,۶۸ ± ۰,۲۶	۰,۷۳
بازوفیل (حین تنش)	۲,۷۲ ± ۰,۱۱^{c}	۴,۵۱ ± ۰,۱۵^{a}	۳,۸۱ ± ۰,۰۳^{b}	۴,۲۶ ± ۰,۰۸^{a}	۳,۵۴ ± ۰,۱۳^{b}	۰,۰۱
مونوسیت (قبل از تنش)	۱,۸۶ ± ۰,۱۳	۲,۰۰ ± ۰,۱۰	۲,۱۸ ± ۰,۰۳	۲,۰۷ ± ۰,۱۹	۱,۸۱ ± ۰,۰۵	۰,۲۶
مونوسیت (حین تنش)	۱,۸۳ ± ۰,۱۰	۱,۷۴ ± ۰,۰۶	۱,۷۰ ± ۰,۰۶	۱,۶۷ ± ۰,۰۵	۱,۶۴ ± ۰,۰۵	۰,۳۷
ائوزینوفیل (قبل از تنش)	۳,۳۷ ± ۰,۱۱	۳,۷۴ ± ۰,۱۱	۳,۶۴ ± ۰,۰۳	۳,۵۵ ± ۰,۲۲	۳,۴۱ ± ۰,۱۳	۰,۳۶
ائوزینوفیل (حین تنش)	۳,۱۴ ± ۰,۰۳^{d}	۳,۳۲ ± ۰,۱۰^{cd}	۳,۶۹ ± ۰,۱۴^{ab}	۳,۵۷ ± ۰,۱۲^{bc}	۳,۹۳ ± ۰,۰۱^{a}	۰,۰۱
هتروفیل/لنفوسیت (قبل از تنش)	۰,۴۳ ± ۰,۰۲	۰,۴۳ ± ۰,۰۱	۰,۴۵ ± ۰,۰۱	۰,۴۴ ± ۰,۰۱	۰,۴۳ ± ۰,۰۱	۰,۶۴
هتروفیل/لنفوسیت(حین تنش)	۰,۴۴ ± ۰,۰۱^{d}	۰,۸۲ ± ۰,۰۲^{a}	۰,۷۱ ± ۰,۰۱^{bc}	۰,۶۸ ± ۰,۰۱^{b}	۰,۷۴ ± ۰,۰۱^{c}	۰,۰۱

a-d: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ستون از نظر آماری معنی‌دار است (P≤۰/۰۵).

جدول ۵: اثر افزودن ویتامین C و پروتکسین بر سطح آنزیم‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی تحت تنش حرارتی (اثر متقابل تیمار و زمان) (Means ± Se)

فراسنجه	تیمارهای آزمایشی					*p*-Value
	شاهد (–)	شاهد (+)	ویتامین C	پروتکسین	ویتامین C+پروتکسین	
سوپراکسید دسموتاز (U/g Hb)						
(هفته ۱)	۴۰,۰۳ ± ۱,۱۸	۴۱,۱۷ ± ۰,۶۵	۴۳,۳۰ ± ۲,۴۲	۴۰,۷۳ ± ۰,۷۸	۴۳,۳۶ ± ۲,۳۹	۰,۵۴
(هفته ۲)	۴۱,۷۶ ± ۱,۲۷^{c}	۳۶,۸۹ ± ۰,۳۰^{c}	۶۷,۰۶ ± ۳,۴۲^{b}	۴۲,۸۲ ± ۱,۳۷^{c}	۷۷,۲۶ ± ۲,۵۱^{a}	۰,۰۱
(هفته ۳)	۳۹,۰۲ ± ۱,۰۱^{b}	۳۶,۲۰ ± ۱,۳۰^{b}	۷۷,۶۸ ± ۳,۱۷^{a}	۴۴,۲۷ ± ۱,۳۹^{b}	۸۱,۳۵ ± ۴,۶۰^{a}	۰,۰۱
(هفته ۴)	۳۹,۶۸ ± ۱,۰۶^{b}	۳۶,۸۴ ± ۱,۱۵^{b}	۴۷,۹۸ ± ۱,۷۶^{a}	۴۰,۶۳ ± ۲,۴۰^{b}	۴۷,۴۰ ± ۲,۵۸^{a}	۰,۰۱
کاتالاز (U/g of Hb)						
(هفته ۱)	۴,۰۳ ± ۰,۰۹	۴,۲۲ ± ۰,۲۳	۴,۰۳ ± ۰,۰۵	۴,۵۱ ± ۰,۰۷	۴,۳۱ ± ۰,۰۷	۰,۱۰
(هفته ۲)	۴,۵۵ ± ۰,۳۳^{b}	۴,۲۸ ± ۰,۲۵^{b}	۶,۹۹ ± ۰,۱۰^{a}	۴,۸۸ ± ۰,۳۸^{b}	۶,۹۲ ± ۰,۳۷^{a}	۰,۰۱
(هفته ۳)	۴,۱۴ ± ۰,۱۰^{c}	۴,۱۳ ± ۰,۱۰^{c}	۶,۹۰ ± ۰,۰۹^{a}	۵,۳۶ ± ۰,۲۸^{b}	۷,۲۴ ± ۰,۲۳^{a}	۰,۰۱
(هفته ۴)	۳,۸۳ ± ۰,۰۷	۴,۰۹ ± ۰,۲۴	۳,۹۷ ± ۰,۰۷	۴,۱۶ ± ۰,۰۲	۴,۵۴ ± ۰,۳۶	۰,۲۱
گلوتاتیون پراکسیداز (U/g of Hb)						
(هفته ۱)	۳۳۱,۰۵ ± ۱۹,۰۱	۳۳۲,۴۲ ± ۱۶,۶۲	۳۴۰,۴۱ ± ۲۱,۰۸	۳۴۰,۰۰ ± ۷,۴۱	۳۱۹,۸۳ ± ۱۲,۶۲	۰,۸۹
(هفته ۲)	۳۴۴,۶۲ ± ۲۵,۰۵^{b}	۲۹۵,۰۱ ± ۴,۱۶^{d}	۵۰۱,۵۹ ± ۸,۷۶^{a}	۳۹۳,۶۶ ± ۵,۴۳^{b}	۴۹۵,۱۶ ± ۱۰,۵۱^{a}	۰,۰۱
(هفته ۳)	۳۲۸,۷۷ ± ۲,۸۲^{c}	۲۸۳,۸۸ ± ۵,۰۱^{d}	۵۲۶,۸۹ ± ۷,۸۲^{a}	۴۱۶,۵۸ ± ۱۳,۳۴^{b}	۵۶۵,۰۳ ± ۲۳,۳۱^{a}	۰,۰۱
(هفته ۴)	۳۱۵,۷۱ ± ۵,۵۷^{a}	۲۶۹,۸۶ ± ۴,۷۲^{b}	۳۲۲,۸۲ ± ۱۱,۹۴^{a}	۳۲۵,۵۴ ± ۹,۳۴^{a}	۳۰۱,۵۴ ± ۸,۲۱^{a}	۰,۰۱

a-d: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ستون از نظر آماری معنی‌دار است (P≤۰/۰۵).

بحث

مصرف پروبیوتیک‌ها در گونه‌های مختلف، طیف وسیعی از اثرات مفید را ایجاد می‌کند (۹). براساس گزارش‌های مختلف، نشان داده شده است که اضافه کردن پروبیوتیک‌های مختلف به جیره سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی (شامل افزایش وزن و بازدهی خوراک مصرفی) (۱۹، ۲۰). مطابق با نتایج این آزمایش در مطالعه‌ای که توسط Siadati و همکاران انجام شد، گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک

به‌میزان ۱،۵ گرم در یک تن جیره سبب کاهش باکتری‌های مضر اشریشیاکلی شده و در مقابل باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک را در دستگاه گوارش بلدرچین ژاپنی افزایش می‌دهد (۲۱). آن‌ها گزارش دادند که افزایش وزن گروه دریافت‌کننده پروتکسین احتمالاً به‌دلیل همین افزایش جمعیت باکتری‌های مفید و کاهش باکتری‌های مضر دستگاه گوارش باشد. این روند سبب بهبود فرآیند هضم و جذب خوراک از دستگاه گوارش پرندگان می‌شود (۲۱). پروبیوتیک‌ها طیف وسیعی از اثرات را بر جانداران مختلف دارند. مکانیسم‌های پیشنهادی زیادی برای توجیه توانایی پروبیوتیک‌ها در محافظت میزبان در برابر اختلالات گوارشی وجود دارد. مجموع کلیه فرآیندهایی که باکتری‌ها از طریق آن کولونیزه شدن (اسـتقرار) سایر گونه‌های باکتریایی را در بدن مهار می‌کنند مقاومت در برابر کولونیزه شدن نامیده می‌شود. گونه‌های مختلف بیفیدوباکتریا به‌عنوان عوامل مقاومت در برابر کولونیزه شدن باکتری‌های پاتوژن در روده‌بزرگ شناخته شده‌اند. پروبیوتیک‌ها با سه سازوکار می‌توانند جمعیت باکتری‌های پاتوژن را کنترل کنند و از این طریق پروبیوتیک‌ها با تولید ترکیبات مهارکننده‌ای نظیر اسیدهای آلی (استات، پروپیونات و بوتیرات)، H_2O_2 و ترکیبات باکتریوسین می‌توانند هم بر روی باکتری‌های گرم مثبت و هم بر روی گرم منفی‌ها اثر مهارکننده داشته باشند. این مواد نه تنها تعداد سلول‌های زنده پاتوژن‌ها را کم می‌کنند، بلکه ممکن است سوخت و ساز باکتری‌ها یا تولید سموم توسط آن‌ها را نیز تحت‌تاثیر قرار دهند (۲۲). هم‌چنین این باکتری‌های مفید می‌توانند با رقابت برای جایگاه‌های اتصال، رقابت برای مواد غذایی، از بین بردن گیرنده‌های سموم و تقویت سیستم ایمنی سبب از بین رفتن باکتری‌های پاتوژن در دستگاه گوارش شوند (۲۳، ۲۴). در مطالعه حاضر در گروه کنترل مثبت (تحت تنش گرمایی بدون مصرف مکمل اضافی ویتامینی) کاهش وزن بیش‌تری نسبت به خوراک مصرفی مشاهده شد که منجر به افزایش ضریب تبدیل خوراک شد و با مطالعه Tawfeek و همکاران، (۴) موافقت دارد که می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که کاهش وزن فقط به‌واسطه کاهش خوراک مصرفی نیست بلکه به تاثیر مستقیم دمای محیط بر فیزیولوژی و متابولیسم مرغ گوشتی نیز است (۴). تنش گرمایی بر گیرنده‌های حرارتی محیطی تاثیر می‌گذارد و موجب انتقال تکانه‌های عصبی می‌شود و فعالیت مرکز اشتها در هیپوتالاموس را سرکوب می‌کند و در نتیجه موجب کاهش اشتها و کاهش میزان خوراک مصرفی می‌شود. بنابراین ملکول‌ها و مواد مغذی کم‌تری برای فعالیت آنزیم ها و تولید هورمون‌ها در دسترس قرار می‌گیرد (۱۳). به‌نظر می‌رسد تنش گرمایی با تاثیر بر میزان مواد مغذی دریافتی بدن جوجه‌ها بر سیستم ایمنی و تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تاثیرگذار است. در تنش گرمایی غلظت ACTH افزایش می‌یابد که سبب افزایش غلظت گلوکز خون می‌گردد. این درحالی است که ویتامین C موجب کاهش تولید کورتیکواسترون از طریق اثرات مهاری ویتامین C بر سنتز گلوکوکورتیکوئید می‌شود. گلوکوکورتیکوئیدها با ایجاد اثرات عمده بر متابولیسم، تحریک گلوکونئوژنسیز از پروتئین‌های بافت ماهیچه برعهده دارند (۴). بنابراین فرض بر این است که حضور ویتامین C سبب بهبود عملکرد طیور از طریق کاهش گلوکونئوژنز منابع پروتئینی می‌شود. افزایش غلظت گلوکز ممکن است به‌دلیل افزایش گلوکوکورتیکوئید باشد که به‌نوبه خود موجب افزایش گلوکوژنسیز می‌شود. ویتامین C ممکن است این تغییرات را از طریق کاهش تولید یا ترشح گلوکوکورتیکوئیدها معکوس کند (۱۴). در راستای این نتایج گزارش شده است که تنش گرمایی با افزایش تولید کورتیکواسترون‌ها می‌تواند اثرات بسیار منفی بر سیستم ایمنی طیور داشته باشد (۲۵). در مقاله مروری که اخیرا Wang و Ji منتشر کرده‌اند، نویسندگان نقش پروبیوتیک‌ها در تجزیه و جذب پروتئین‌ها را نشان داده‌اند. به‌نظر می‌رسد پروبیوتیک‌ها باعث افزایش هضم و جذب پروتئین‌های جیره می‌شود پروبیوتیک‌ها این عمل را به‌وسیله کنترل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و تحت تاثیر قرار دادند باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین، تحریک پروتئازهای و فعالیت پپتیدازی دستگاه گوارش میزبان، رهاسازی آنزیم‌های خارجی دخیل در هضم پروتئین، بهبود جذب پپتیدهای ریز و اسیدهای آمینه، بهبود قابلیت جذب اپیتلیوم روده و در نهایت کاهش تخمیر پروتئین‌های مضر و کاهش اثرات سمی متابولیت‌های ثانویه انجام می‌دهند (۲۶). پروبیوتیک‌ها با کنترل شمار باکتری‌های بیماری‌زا نظیر سالمونلا و اشریشیاکلای و کاهش واسطه‌های پیش‌التهابی نقش بسیار مهمی در ایمنی پرندگان نیز بازی می‌کنند. هم‌چنین پروبیوتیک‌ها با بهبود عملکرد میکروبیوم سبب بهبود تنظیم محور HPA می‌شوند. در مطالعه‌ای دیگر Kanjilal و همکاران، گزارش کردند که پروتکسین علاوه بر تنظیم جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، با تاثیر بر آنزیم‌های کبدی، هموگلوبین خون و غلظت کلسیم خون سبب بهبود وضعیت ایمنی کلی جوجه‌های گوشتی شده و در نتیجه عملکرد کلی آن‌ها را بهبود می‌بخشد (۲۷). در مقابل این نتایج برخی از پژوهشگران نیز گزارش کرده‌اند که پروتکسین نقش سودمندی در افزایش عملکرد جوجه‌های گوشتی نداشته است (۲۸). هم‌چنین در پژوهشی دیگر، Jabbari و همکاران، گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک پروتکسین اثر مهمی در بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی به‌جز وزن لاشه نداشت (۲۹). به‌نظر می‌رسد که استفاده از پروبیوتیک‌ها بیش‌تر موجب تنظیم سیستم ایمنی می‌شود تا فعال‌سازی آن. برخی از پروبیوتیک‌ها می‌توانند با تقویت پاسخ‌های ایمنی به‌طور مستقیم (افزایش لوکوسیت‌ها)، افزایش عملکرد سد اپیتلیال روده و ممانعت از رشد عوامل بیماری‌زا، به

نگه‌داری هومئوستازی ایمنی روده کمک کنند. هم‌چنین گاهی باعث تحریک سلول‌های مولد ایمنی می‌شوند (۳۰). Mohiti Asl و همکاران، در یک آزمایش تاثیر پروبیوتیک‌ها، مخمر، ویتامین E و ویتامین C بر روی عملکرد و پاسخ ایمنی در مرغان تخم‌گذار تحت شرایط استرس گرمایی را مورد بررسی قرار دادند. این آزمایش برروی ۶۰ مرغ تخمگذار سویه‌های لاین انجام گرفت. در آزمایش اشاره شده پاسخ سیستم ایمنی در مرغان تخم‌گذار با استفاده از پروبیوتیک حاوی چند گونه باکتریایی و هم‌چنین استفاده از مخمر نسبت به سایر گروه‌ها بیش‌تر بود (۳۱). جوجه‌های گوشتی می‌توانند اسید اسکوربیک مورد نیاز خود را سنتز کنند اما در شرایط تنش گرمایی مقدار آن برای مقابله با رادیکال‌های آزاد تولید شده کافی نمی‌باشد (۳۲). اسید اسکوربیک در واکنش‌های بیوشیمیایی بی‌شماری شرکت می‌کند. در تنش گرمایی، پرندگان قادر به تولید مقدار کافی اسید اسکوربیک نیستند، بنابراین مکمل اسیداسکوربیک می‌تواند به‌طور قابل توجهی دمای بدن را کاهش دهد (۱۵). Rahimi و همکاران، اثر پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی را بررسی کردند. نتایج نشان داد که افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره غذایی در مقایسه با گروه شاهد و گروه‌های مصرف‌کننده پروبیوتیک تاثیر معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید، نسبت هتروفیل به لنفوسیت، پادتن ضد گلبول قرمز گوسفند و پادتن نیوکاسل نداشت. افزودن ۰/۱٪ پروبیوتیک به جیره به‌طور معنی‌داری تعداد گلبول‌های سفید را نسبت به گروه شاهد افزایش و نسبت هتروفیل به لنفوسیت را کاهش داد (۳۳). هم‌چنین در راستای نتایج مطالعه پیش‌رو Alkhalf و همکاران، گزارش کردند که تغذیه پروبیوتیک‌ها سبب افزایش وزن اندام‌های لنفوئیدی نظیر بورس، طحال و تیموس شده است (۲۰). در مطالعه‌ای دیگر Kabir و همکاران، گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک‌ها سبب افزایش وزن طحال و تیموس در جوجه‌های گوشتی شده است که با نتایج مطالعه پیش‌رو تطابق دارد (۳۴). در این پژوهش افزودن ویتامین C به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی، سبب بهبود عملکرد سیستم ایمنی جوجه‌ها شده و هم‌چنین نقش مثبتی بر غلظت آنتی‌اکسیدان‌های خون داشت. در راستای نتایج پژوهش پیش‌رو، گزارش شده است که پاسخ لنفوسیت‌های B و T با جیره‌های حاوی ppm۱۰۰۰ مکمل ویتامین C افزایش می‌یابد. هم‌چنین در مطالعه‌ای دیگر، Hesabi Nameghi و همکاران، مکمل ویتامین C را جهت افزایش توان مقابله جوجه‌ها در مقابل بیماری نیوکاسل بررسی نمودند و دریافتند که مصرف ppm۱۰۰۰ ویتامین C به‌طور قابل توجهی مقاومت جوجه‌ها را بر علیه بیماری نیوکاسل افزایش و باعث بهبود عملکرد تولیدی جوجه‌های گوشتی می‌شود. تعداد گلبول‌های سفید در اثر استفاده از ویتامین C در جیره جوجه های گوشتی افزایش می‌یابد که احتمالاً به دلیل محافظت ویتامین C می‌تواند از لنفوسیت‌ها محافظت کرده و از صدمه دیدن آن‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد تولید شده در شرایط تنش گرمایی جلوگیری نماید (۳۵). هم‌چنین مطابق با نتایج پژوهش پیش‌رو، Rafiee و همکاران، گزارش کردند که افزودن ویتامین C به جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت به شده و از طرفی دیگر سبب افزایش غلظت گلوتاتیون پراکسیداز خون جوجه‌های گوشتی شده است (۳۶). براساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش به‌نظر می‌رسد پروبیوتیک پروتکسین و ویتامین C در کاهش خسارات ناشی از تنش حرارتی با افزایش توان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش بسیار مهمی در افزایش عملکرد و سلامتی و هم‌چنین تقویت سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی داشته و از این طریق سبب بهبود شرایط اقتصادی مزارع پرورشی می‌گردد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، تیمار ویتامین C+پروتکسین بهترین عملکرد را نسبت به سایر تیمارها نشان داد.

منابع

1. **Siddiqui, S.H., Kang, D., Park, J., Khan, M. and Shim, K., 2020.** Chronic heat stress regulates the relation between heat shock protein and immunity in broiler small intestine. Scientific reports. 10(1): 1-11.
2. **Lian, P., Braber, S., Garssen, J., Wichers, H.J., Folkerts, G., Fink-Gremmels, J. and Varasteh, S., 2020.** Beyond heat stress: Intestinal integrity disruption and mechanism-based intervention strategies. Nutrients. 12(3): 734.
3. **Cheng, Y.F., Chen, Y.P., Chen, R., Su, Y., Zhang, R.Q., He, Q.F. and Zhou, Y.M., 2019.** Dietary mannan oligosaccharide ameliorates cyclic heat stress-induced damages on intestinal oxidative status and barrier integrity of broilers. Poultry science. 98(10): 4767-4776.
4. **Tawfeek, S.S., Hassanin, K.M.A. and Youssef, I.M.I., 2014.** The effect of dietary supplementation of some antioxidants on performance, oxidative stress, and blood parameters in broilers under natural summer conditions. Journal of World's Poultry Research. 4(1): 10-19.
5. **Tsega, K.T., Maina, J.K. andTesema, N.B., 2019**. Probiotics and Poultry Gut Microflora. J. World Poult. Res. 9(4): 217-223.
6. **Clavijo, V. and Flórez, M.J.V., 2018.** The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. Poultry science. 97(3): 1006-1021.
7. **Ghasemi-Sadabadi, M., Ebrahimnezhad, Y., Shaddel Tili, A., Bannapour-Ghaffari, V., Kozehgari, H. and Didehvar, M., 2019**. The effects of fermented milk

products (kefir and yogurt) and probiotic on performance, carcass characteristics, blood parameters, and gut microbial population in broiler chickens. Archives animal breeding. 62(1): 361-374.

8. **Kafshdouzan, K., Rouzbehan, B. and Moslemy, M., 2013.** Reviewing the role of probiotics used in poultry feeding on health promotion of chicken meet. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology. 7(5): 821-828. (In Persian)

9. **Hashemi, S.R., Zulkifli, I., Davoodi, H., Zunita, Z. and Ebrahimi, M., 2012**. Growth performance, intestinal microflora, plasma fatty acid profile in broiler chickens fed herbal plant (*Euphorbia hirta*) and mix of acidifiers. Animal Feed Science and Technology. 178(3-4): 167-174.

10. **Vakili, M., Chamani, M., Nehzati, G. andsadeghi, A., 2020**. Impact of Protexin® on digestibility of corn starch by honey bee, Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae). Journal Of Entomological Society Of Iran (JESI). 40(2): 135-149.

11. **Borges, D., 2015.** Control of the intestinal parasite *Nosema ceranae* in *Apis mellifera* using nutraceuticals, prebiotics and probiotics. University of Guelph (M.Sc thesis).

12. **Klassen, S., 2018**. Effects of Prebiotics and Probiotics on the Parasitic Microsporidium Nosema ceranae and Honey Bee (*Apis mellifera*) Health at the Individual and lolony Levels. University of Guelph (MSc thesis).

13. **Attia, Y.A., Al-Harthi, M.A., El-Shafey, A.S., Rehab, Y.A. and Kim, W.K., 2017.** Enhancing tolerance of broiler chickens to heat stress by supplementation with vitamin E, vitamin C and/or probiotics. Annals of Animal Science. 17(4): 1155.

14. **Ghazi, S., Amjadian, T. and Norouzi, S., 2015.** Single and combined effects of vitamin C and oregano essential oil in diet, on growth performance, and blood parameters of broiler chicks reared under heat stress condition. International Journal of Biometeorology. 59(8): 1019-1024.

15. **Ismail, I.B., Al-Busadah, K.A. and El-Bahr, S.M., 2013.** Oxidative stress biomarkers and biochemical profile in broilers chicken fed zinc bacitracin and ascorbic acid under hot climate. American Journal of Biochemistry and Molecular Biology. 3(2): 202-214.

16. **Cramer, T.A., Kim, H.W., Chao, Y., Wang, W., Cheng, H.W. and Kim, Y.H.B., 2018**. Effects of probiotic (*Bacillus subtilis*) supplementation on meat quality characteristics of breast muscle from broilers exposed to chronic heat stress. Poultry science. 97(9): 3358-3368.

17. **Mora, Z.V.D., Macías-Rodríguez, M.E., Arratia-Quijada, J., Gonzalez-Torres, Y.S., Nuño, K. and Villarruel-López, A., 2020.** Clostridium perfringens as foodborne pathogen in broiler production: pathophysiology and potential strategies for controlling necrotic enteritis. Animals. 10: 1718-1720.

18. **Seifi Jamadi, A., Kohram, H., Zhandi, M. and Van Soom, A., 2020.** Effect of artificial heat stress on Belgian blue bull's semen quality after thawing. Journal of Animal Environment. 12(4): 85-94. (In Persian)

19. **Kheiri, F., Rostami, M.J. and Hajiabadi, S.M.A.J., 2015.** The effects of protexin probiotic and chicoridin supplementation on performance and some hematological parameters in Japanese quail (*Coturnix japonica*). Cluj Veterinary Journal. 25(1/2): 65-71.

20. **Alkhalf, A., Alhaj, M. andAl-Homidan, I., 2010**. Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens. Saudi journal of biological sciences. 17(3): 219-225.

21. **Siadati, S.A., Ebrahimnezhad, Y., Salehi Jouzani, G.H. and Shayegh, J., 2017.** Evaluation of probiotic potential of some native *Lactobacillus* strains on the growth performance and serum biochemical parameters of Japanese quails (*Coturnix Coturnix japonica*) during rearing period. Brazilian Journal of Poultry Science. 19: 399-408.

22. **Vodjani, R. and Zali, M.R., 2004.** Probiotics and their mechanism of action in the prevention and treatment of human diseases. Research in medicine. 27(4): 319-330. (In Persian)

23. **Mack, DR., Michail, S., Wei, S., McDougall, L. and Hollingsworth, M.A., 1999.** probiotics inhibit enteropathogenic E. coli adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. Am J Physiol. 276: 941-950.

24. **Wilson, K.H. and Prini F., 1998.** Role of competition for nutrients in suppression of Clostridium difficile by the colonic microflora. Infect Immun. 56: 2610-2614.

25. **Quinteiro-Filho, W.M., Calefi, A.S., Cruz, D.S.G., Aloia, T.P.A., Zager, A., Astolfi-Ferreira, C.S., Ferreira, J.A.P., Sharif, S. and Palermo-Neto, J., 2017.** Heat stress decreases expression of the cytokines, avian β-defensins 4 and 6 and Toll-like receptor 2 in broiler chickens infected with Salmonella Enteritidis. Vet Immunol Immunopathol. 186: 19-28.

26. **Wang, J. and Ji, H., 2019.** Influence of Probiotics on Dietary Protexin Digestion and Utilization in the Gastrointestinal Tract. Current Protexin and Peptide Science. 20(2): 125-131.

27. **Kanjilal, G., Akanda, M.R., Hasan, M.M.I., Chowdhury, M.R., Islam, M.S., Howlader, M.M.R. and Hossain, M.A., 2014.** Potency of Protexin® (Mixed Probiotics) on hemato biochemical alteration of commercial broiler. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics. 2: 650-659.

28. **Azadegan-mehr, M., Sams, S.M., Dastar, B., Hasani, S. and Akbarim, M.R., 2007.** Effect of different levels of Protexin and Protexin on Broiler Performance.

International Journal of Poultry Science. 6(8): 573-577.

29. **Jabbari, N., Fattah, A. and Shirmohammad, F., 2016.** Effects of Protexin Probiotic and Aquablend Avian Antibody on Performance and Immune System of Broiler Chickens. Iranian Journal of Applied Animal Science. 6(4): 951-956.

30. **Matsuzaki, T., Nagata, Y., Kado, S., Uchida, K., Kato, I., Hashimoto, S. and Yokokura, T., 1997.** Prevention of onset in an insulin-dependent diabetes mellitus model, NOD mice, by oral feeding of Lactobacillus casei. Apmis. 105(7-12): 643-649.

31. **Mohiti Asli, M., Hosseyni, S.A., Lotfollahian, H. and Shariatmadari, F., 2007.** Effect of Probiotics, Yeast, Vitamin E and Vitamin C Supplements on Permormance and Immune Response of Laying hen During High Enviromental Temperature. International journal of poultry science. 6(12): 895-900.

32. **Jahejo, A.R., Rajput, N.M., Pirzado, A., Nizamani, Z.A., Tarique, M. and Memon, A.A., 2016.** Effect of ascorbic acid in heat stressed broiler chickens of sindh zone. Science international. 28: 4089-4093.

33. **Rahimi, Sh., Khak Sefidi, A. and Mousavi, T., 2003.** Comparison of the effect of probiotics and antibiotics on the immune system of broiler chickens. Journal of Veterinary Research. 58(2): 159-162. (In Persian)

34. **Kabir, S.L., Rahman, M.M., Rahman, M.B., Rahman, M.M. and Ahmed, S.U., 2004.** The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. International Journal of Poultry Science. 3(5): 361-364.

35. **Hesabi Nameghi, A., Nasiri Moghaddam, H. and Tavakol Afshari, J., 2009.** Effect of Vitamin C Supplementation on Performance and Immune Response of Broiler Chicks. Iranian Journal of Animal Science. 39(1): 1-10. (In Persian)

36. **Rafiee, F., Mazhari, M., Ghoreishi, M. and Esmaeilipour, O., 2016**. Effect of lemon verbena powder and vitamin C on performance and immunity of heat-stressed broilers. Journal of animal physiology and animal nutrition. 100(5): 807-812.