نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۷ شماره ۴/ سال۱۳۹۶/ صفحات ۷۷ تا ۹۰

اثر بذر خار مریم خام و حرارت‌دیده بر عملکرد رشد و برخی از فراسنجه‌های خونی و ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی

منصوره مظفرپورتوبکانلو[۱]، میرداریوش شکوری[۲*] و حسین جانمحمدی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۵/٤/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹٦/۳/۲۸

[۱] دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

[۲] دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی

[۳] استاد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: mdshakouri@uma.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: گیاهان دارویی به دلیل اثرات مفید بر عملکرد طیور، به عنوان افزودنی‌های طبیعی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. **هدف**: تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر سطوح مختلف بذر خار مریم (*Silybum marianum* L.) خام و حرارت‌دیده بر صفات تولیدی، برخی از فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شد. **روش کار**: تعداد ۲٥٦ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه تجاری راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی به ٤ تیمار با ٤ تکرار و ١٦ قطعه پرنده در هر تکرار اختصاص یافتند. تیمارهای آزمایشی شامل مقادیر صفر درصد (شاهد)، ۰/٤ درصد بذر خام، ۰/٤ درصد بذر حرارت‌دیده و ۰/۸ درصد بذر حرارت‌دیده خار مریم طی یک دوره ٤۲ روزه به پرندگان تغذیه شدند. **نتایج**: طی دوره آغازین (۰-۱۰ روزگی)، افزودن ۰/٤ درصد بذر خارمریم حرارت‌دیده موجب کاهش وزن و افزایش ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها شد (P<۰/۰۱). اما در کل دوره آزمایش (۰-٤۲ روزگی) هیچ یک از صفات عملکرد رشد جوجه‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. افزودن ۰/٤ درصد خارمریم حرارت دیده موجب افزایش معنی‌دار غلظت آلبومین (P<۰/۰٥) و پروتئین کل (P<۰/۰۱) سرم شد. فعالیت آلانین آمینوترانسفراز در اثر سطوح بذر خار مریم حرارت‌دیده و آسپارتات آمینوترانسفراز در اثر سطوح ۰/٤ درصد بذر خام و ۰/۸ درصد بذر حرارت‌دیده کاهش یافت (P<۰/۰۱). استفاده از تمام سطوح بذر خار مریم، تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC (P<۰/۰۱) و تیتر IgG (P<۰/۰٥) را افزایش داد ولی بر تیتر IgM تأثیری نداشت. **نتیجه‌گیری کلی**: نتایج نشان داد که استفاده از بذر خار مریم در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر مثبتی بر عملکرد ندارد ولی موجب بهبود عملکرد کبد و تقویت سیستم ایمنی هومورال شد.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های کبدی، SRBC، ماریتیغال، آلبومین سرم، جوجه گوشتی

مقدمه

افزودنی‌های خوراکی مجموعه‌ای از ترکیبات شیمیایی و بیولوژیکی یا طبیعی هستند که با اهداف مختلفی از جمله افزایش بازدهی خوراک مصرفی و بهبود رشد به جیره طیور افزوده می‌شوند. در بین افزودنی‌های طبیعی، امروزه گیاهان دارویی و فرآورده‌های حاصل از آنها به دلیل سالم بودن و در عین حال داشتن اثرات مفید بر فیزیولوژی طیور بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (کریشان و نارانگ ۲۰۱٤).

خار مریم گیاهی است دارویی از تیره کاسنی (Compositae) با نام علمی *Silybum marianum*، که با اسامی دیگری نظیر ماریتیغال، خار خلیص و عکوب نیز در منابع فارسی و عربی شناخته می‌شود. این گیاه بومی اروپای غربی، مرکزی و شمال هند بوده و امروزه به طور خودرو در خیلی از مناطق دنیا می‌روید (زرگری ۱۹۹٦). در ایران هم مناطق شمال، شمال غربی، غرب، جنوب غربی و جنوب کشور از رویشگاه‌های طبیعی این گیاه محسوب می‌شوند (حسنلو و همکاران ۲۰۰۱). در مقایسه با دیگر گیاهان دارویی، اطلاعات زیادی در مورد این گیاه بخصوص راجع به اثرات دارویی آن در انسان وجود دارد. مواد موثره اصلی خار مریم را مخلوطی از فلاونولیگنان‌ها با نام کلی سیلی‌مارین تشکیل می‌دهد. سیلی‌مارین در انسان برای درمان بیماری‌های مختلف کبدی مصرف می‌شود که می‌تواند از نکروزه شدن سلول‌های کبدی ممانعت کرده و سلول‌های آسیب‌دیده را ترمیم نماید (لوپر ۱۹۹۸). فلاح حسینی و همکاران (۲۰۰٤) با مرور منابع مختلف به ویژگی‌های مهمی نظیر آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، افزایش دهنده گلوتاتیون سلولی، مهار کننده سرطان‌های کبد و پروستات، مصون سازی کلیه در برابر مسمومیت‌های داوریی و کاهش دهنده قند خون در دیابت نوع ۲ برای سیلی‌مارین اشاره کرده‌اند. مقدار ترکیب فلاونوییدی سیلی‌مارین در بذور جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور متفاوت بوده و در دامنه ٦/۹ تا ۲۷/۱ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بذر گزارش شده است (حسنلو و همکاران ۲۰۰۱). امروزه سیلی‌مارین مخلوط استاندارد شده‌ای از دیاسترومرهای فلاونولیگنانی شامل سیلی‌بین (ایزومرهای A و B)، ایزوسیلی‌بین (ایزومرهای A و B)، سیلی‌دیانین، سیلی‌کریستین و چندین ترکیب کم مقدار دیگر است (سالر و همکاران ۲۰۰۷). مقادیر تقریبی چهار ماده شاخص موجود در عصاره متانولی بذر این گیاه شامل سیلی‌بین ۵۰ تا ٦۰ درصد، ایزوسیلی‌بین ۵ درصد، سیلی‌کریستین ۲۰ درصد و سیلی‌دیانین ۱۵ درصد و مابقی شامل تاکسی‌فولین ۵ درصد گزارش شده است (دینگ و همکاران ۲۰۰۱ و سالر و همکاران ۲۰۰۷).

بذر (میوه) گیاه خار مریم ۵ تا ۷ میلی‌متر طول و ۲ تا ۳ میلی‌متر پهنا و ۱/۵ میلی‌متر ضخامت داشته و در رنگ‌های مختلف قهوه‌ای تیره تا قهوه‌ای متمایل به خاکستری دیده می‌شود (آبناولی و همکاران ۲۰۱۰). اندازه این بذر مشابه دانه گندم بوده و همانند آن به راحتی می‌توان به صورت خام یا فرآوری شده در جیره طیور استفاده نمود. انرژی قابل متابولیسم بذر خار مریم ۳۰۸۰ کیلوکالری بر کیلوگرم، پروتئین خام آن ۱۷ درصد، چربی خام آن ۱۳ درصد و فیبر خام آن نیز ۲٦ درصد گزارش شده است (شلایی و حسینی ۲۰۱۵). استفاده از بذر این گیاه (ساچی و همکاران ۲۰۰۸ و رشیدی و همکاران ۲۰۱۵) و یا سیلی‌مارین (اسچیاون و همکاران ۲۰۰۷) در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر منفی بر عملکرد رشد نداشته است. البته کاهش مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها با استفاده از سیلی‌مارین نیز گزارش شده است (مجاهد طلب و همکاران ۲۰۱۳). اما افزودن بذر خار مریم و یا مهمترین ماده موثره آن به جیره‌های آلوده جوجه‌های گوشتی با آفلاتوکسین B_1 موجب تحریک سیستم ایمنی شده و به خوبی توانسته از آسیب‌های ناشی از این سم قارچی ممانعت نماید (تدسکو و همکاران ۲۰۰٤، جمشیدی و همکاران ۲۰۰۷، چاند و همکاران ۲۰۱۱). سیلی‌مارین دارای نقش ضد التهابی بوده و به عنوان تنظیم کننده سیستم ایمنی عمل می‌کند که مکانیسم عمل آن بر سیستم ایمنی با جزئیات بیشتر توسط آبناولی و همکاران (۲۰۱۰) بیان شده است. در مطالعه صورت گرفته در جوجه‌های گوشتی هیچ تأثیری از مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بذر خار مریم بر فراسنجه‌های سیستم ایمنی مشاهده نشد (فانی مکی و همکاران ۲۰۱۳). اما مصرف همین مقدار سیلی‌مارین موجب بهبود پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی شد (مجاهدطلب و همکاران ۲۰۱۳). استفاده از سطوح بالاتر خار مریم (تا ۲ درصد جیره) موجب کاهش

کلسترول (ساچی و همکاران ۲۰۰۸ و رشیدی و همکاران ۲۰۱۵)، افزایش کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (رشیدی و همکاران ۲۰۱۵) و کاهش فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز (ساچی و همکاران ۲۰۰۸) سرم جوجه‌های گوشتی شد. مصرف سیلی‌مارین در جیره جوجه‌های گوشتی همچنین با کاهش چربی، افزایش ثبات اکسیداتیو (اسچیاون و همکاران ۲۰۰۷)، افزایش ماده خشک و پروتئین خام گوشت تولیدی (لوتسنکو و همکاران ۲۰۰۸) بهبود کیفیت آن را در پی داشته است.

علیرغم داشتن ارزش دارویی بالا و سهولت دسترسی به آن، بذور این گیاه در رویشگاه‌های طبیعی کشور بدون توجه پرت می‌شوند. بنابراین ضرورت انجام پژوهش‌های متعدد در خصوص آن احساس می‌شود. در مطالعه انجام شده قبلی استفاده از بذر خار مریم در جیره جوجه‌های گوشتی با کاهش قابلیت هضم مواد مغذی موجب کاهش وزن آنها شد (خاتمی ۲۰۱۵). دلیل احتمالی این کاهش به حضور مواد ضدتغذیه‌ای ربط داده شد و چنین گمان رفت که چه بسا با فرآوری می‌توان اثر آنها را از بین برد. از این‌رو، در این مطالعه کوشش می‌شود تا تأثیر سطوح مختلف بذر گیاه خار مریم خام و حرارت‌دیده بر عملکرد رشد و برخی فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش از تعداد ۲۵٦ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه تجاری راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، چهار تکرار و شانزده قطعه پرنده با نسبت جنسی مساوی در هر تکرار استفاده شد. تعیین جنسیت جوجه‌ها از روی پر آنها و پس از ورود به سالن پرورش صورت گرفت. توزیع جوجه‌ها به واحدهای آزمایشی (پن) با وزن گروهی مشابه انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل مقادیر صفر (شاهد)، ۰/٤ درصد بذر خار مریم خام، ۰/٤ درصد بذر خار مریم حرارت‌دیده و ۰/۸ درصد بذر خار مریم حرارت‌دیده در جیره بودند و از همان روز اول تا پایان ٤۲ روزگی در اختیار جوجه‌ها قرار داده شدند. بذر گیاه خار مریم مورد استفاده در این مطالعه در سال ۱۳۹۳ از منطقه مغان استان اردبیل جمع‌آوری شد. پس از تهیه بذر گیاه یادشده، برای از بین بردن عوامل ضد تغذیه‌ای احتمالی آن‌ها از تیمار حرارتی استفاده شد. اعمال تیمار حرارتی به کمک آون (۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت) صورت گرفت. مقادیر مورد استفاده بذر خار مریم آسیاب شده جایگزین کنجاله سویا جیره‌های غذایی جوجه‌های گوشتی شد. جیره‌های آزمایشی برپایه ذرت و کنجاله سویا و با هدف تامین احتیاجات توصیه شده توسط شرکت راس برای دوره‌های آغازین (۰ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲٤ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ٤۲ روزگی) تنظیم شدند (جدول ۱). اطلاعات مربوط به ترکیب شیمیایی مواد خوراکی نیز از جداول انجمن ملی تحقیقات آمریکا (NRC ۱۹۹٤) اخذ شد.

طی دوره آزمایش پرندگان روی بستر پوشال پرورش یافتند و به جز در مواقع وزن‌کشی به آب و خوراک سالم دسترسی آزاد داشتند. به منظور تشویق جوجه‌ها به مصرف خوراک بیشتر از برنامه نوری ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی استفاده شد. دیگر شرایط میکروکلیمایی سالن مطابق برنامه مدیریتی سویه راس ۳۰۸ انجام شد. برنامه واکسیناسیون هم طبق توصیه دامپزشکی استان اردبیل صورت گرفت.

جدول ۱- ترکیب جیره‌های پایه مورد استفاده طی دوره‌های آغازین (۰-۱۰ روزگی)، رشد (۱۱-۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)

Table 1- Composition of basal diets during the starter (0-10 day), grower (11-24 day) and finisher (25-42 day) phases

اقلام خوراکی (درصد) Ingredients (percent)	آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher
ذرت Corn	48.91	51.26	55.65
کنجاله سویا (پروتئین خام ٤٤٪) Soybean meal	42.33	39.27	35.21
روغن سویا Soybean oil	3.87	4.84	4.82
پودر صدف Oyster shell	2.08	1.95	1.83
دی کلسیم فسفات Dicalcium Phosphate	1.31	1.12	1.09
نمک Common salt	0.47	0.47	0.44
ال لیزین هیدروکلرید L-Lysine HCl	0.30	0.27	0.23
دی ال متیونین DL-methionine	0.23	0.32	0.23
مکمل ویتامینی Vitamine Permix[1]	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی Mineral Permix[2]	0.25	0.25	0.25
کل Total	100	100	100
مواد مغذی (محاسبه شده) Nutrients composition (calculated)			
انرژی متابولیسمی (kcal/kg) ME (kcal/kg)	2950	3050	3100
پروتئین خام (٪) CP (%)	23.19	22.07	20.57
لیزین (٪) Lys (%)	1.50	1.40	1.27
آرژنین (٪) Arg (%)	1.51	1.42	1.37
متیونین (٪) Met (%)	0.58	0.65	0.55
متیونین+سیستین (٪) Met+Cys (%)	0.88	0.94	1.00
کلسیم (٪) Ca (%)	1.11	1.00	0.94
فسفر غیر فیتاته (٪) Available P (%)	0.53	0.50	0.47
سدیم (٪) Na (%)	0.20	0.20	0.19

[1] تأمین شده به ازای هر کیلوگرم جیره: ویتامین A ۹۰۰۰IU، ویتامین D_3 ۲۰۰۰IU، ویتامین E ۱۸ میلی گرم، ویتامین K_3 ۲ میلی‌گرم، ویتامین B_1 ۱/۷۵ میلی‌گرم، ویتامین B_2 ٦/٦ میلی‌گرم، ویتامین B_3 ۹/۸ میلی‌گرم، ویتامین B_5 ۲۹/٦٥ میلی‌گرم، ویتامین B_6 ۲/۹٤ میلی‌گرم، ویتامین B_9 ۱ میلی‌گرم، ویتامین B_{12} ۰/۰۱۵ میلی‌گرم، بیوتین ۰/۱ میلی‌گرم، کلرید کولین ۲۵۰ میلی‌گرم و آنتی‌اکسیدان ۱ میلی‌گرم.

[1]Supplied per kg of diet: vitamin A 9000 IU, vitamin D_3 2000 IU, vitamin E 18 mg, vitamin K_3 2 mg, vitamin B_1 1.75 mg, vitamin B_2 6.6 mg, vitamin B_3 9.8 mg, vitamin B_5 29.65 mg, vitamin B_6 2.94 mg, vitamin B_9 1 mg, vitamin B_{12}, 0.015 mg, coline chloride 250 mg, antioxidant 1 mg.

[2] تأمین شده به ازای هر کیلوگرم جیره:، Mn ۹۹/۲ میلی‌گرم، Zn ۸٤/۷ میلی‌گرم، Fe ۵۰ میلی‌گرم، Cu ۱۰ میلی‌گرم، I ۰/۹۹ میلی‌گرم و Se ۰/۲ میلی‌گرم.

[2]Supplied per kg of diet: Mn 99.2 mg, Zn 84.7 mg, Fe, 50 mg, Cu 10 mg, I 0.99 mg, Se, 0.2 mg.

میانگین مصرف خوراک و افزایش وزن پرندگان مربوط به هر تکرار به صورت دوره‌ای (آغازین، رشد و پایانی) اندازه‌گیری شد. سپس براساس داده‌های به دست‌آمده، ضریب تبدیل خوراک آن ها محاسبه گردید. طی دوره‌های آزمایشی وزن و تعداد جوجه‌های تلف شده و یا حذفی یادداشت گردید و خوراک مصرفی و همچنین ضریب تبدیل خوراک بر اساس آن‌ها تصحیح شد. برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی سرم خون شامل آسپارتات

آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز(ALT) و نیز برخی فراسنجه های خونی نظیر آلبومین، پروتئین کل، کلسترول کل و تری‌گلیسرید، در سن ۳۵ روزگی جوجه‌ها از هر تکرار دو قطعه پرنده (یک نر و یک ماده) انتخاب و از سیاهرگ بال آنها خونگیری صورت گرفت. سرم نمونه‌های جمع‌آوری شده خون از طریق سانتریفیوژ کردن (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه) جدا شد و سپس تا انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت آنزیم‌های کبدی سرم خون با استفاده از کیت‌های تشخیصی شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico ۲۱۰۰، ساخت آمریکا) در طول موج ۵۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. تعیین غلظت سرمی آلبومین، پروتئین کل، کلسترول کل و تری‌گلیسرید و گلوکز نیز با استفاده از کیت های تشخیصی شرکت یادشده صورت گرفت.

جهت ارزیابی پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی از گلبول قرمز گوسفند (SRBC) به عنوان آنتی‌ژن استفاده شد. برای این منظور، پس از خونگیری از گوسفند با استفاده از سرنگ حاوی ماده ضد انعقاد هپارین، گلبول‌های قرمز سه بار به کمک بافر فسفات شستشو داده شد. سپس ۱۰ سی‌سی سوسپانسیون ۲/۵ درصد گلبول قرمز گوسفند در بافر فسفات تحت شرایط استریل تهیه شد. در روز ۳۵ آزمایش به ۲ قطعه پرنده انتخابی (یک نر و یک ماده) از هر تکرار، از طریق عضله سینه ۰/۲ سی سی محلول سوسپانسیون تهیه شده تزریق گردید. هفت روز بعد از تزریق، از سیاهرگ بال پرندگان یاد شده نمونه‌های خون جمع‌آوری شد تا سرم خون آنها جدا شود. این نمونه‌ها هم تا انجام آزمایش‌های مربوطه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تعیین تیتر آنتی‌بادی تام (علیه گلبول قرمز گوسفند) و آنتی بادی مقاوم به ۲-مرکاپتواتانول (IgG) با روش هماگلوتیناسیون انجام شد (چیما و همکاران ۲۰۰۳). به طور خلاصه پس از یخ گشایی، جهت غیرفعال کردن آنزیم‌ها سرم‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٥٦ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به دو بخش تقسیم شدند. بخش اول جهت تیتر آنتی‌بادی تام و بخش دوم جهت تیتر IgG مورد استفاده قرار گرفتند. پس از کسر تیتر IgG از تیتر آنتی‌بادی تام، تیتر IgM به دست آمد. گزارش داده‌ها بر اساس لگاریتم بر مبنای ۲ صورت گرفت.

داده‌های به دست آمده با استفاده از رویه مدل عمومی خطی نرم افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها هم با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. مدل آماری مورد استفاده مطابق زیر بود:

$$Y_{ik} = \mu + a_i + \varepsilon_{ik}$$

y_{ik}: متغیّر وابسته (مقدار هر مشاهده)، μ: میانگین جمعیت، α_i: اثر تیمار، ε_{ik}: اثر خطای آزمایشی، i: تعداد تیمار و k: تعداد تکرار

نتایج

اثر سطوح مختلف بذر خار مریم بر فراسنجه های عملکرد رشد طی دوره‌های مختلف آزمایشی در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده است. طی دوره آغازین (۱۰-۰ روزگی) مصرف خوراک جوجه‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، اما با مصرف ۰/٤ درصد بذر خار مریم حرارت‌دیده افزایش وزن آنها کاهش (P<۰/۰۱) و ضریب تبدیل خوراک آنها افزایش یافت (P<۰/۰۱). در این دوره، جوجه‌های تغذیه شده با ۰/۸ درصد بذر خار مریم حرارت‌دیده، افزایش وزن بهتری نسبت به پرندگان تغذیه شده با ۰/٤ درصد بذر خام حرارت‌دیده داشتند (P<۰/۰۱). در دوره‌های رشد، پایانی و نیز کل دوره آزمایشی هیچ‌یک از فراسنجه‌های عملکرد رشد جوجه‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

جدول۲- تأثیر سطوح مختلف بذر خار مریم خام و حرارت‌دیده بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی طی دوره‌های آغازین و رشد

Table 2- The effect of different levels of crude and heated milk thistle seed on growth performance of broiler chickens during starter and grower phases

	دوره آازین (۰-۱۰ روزگی) Starter phase (0-10 days))			دوره رشد (۱۱-۲٤روزگی) Grower phase (11-24 days)		
تیمار غذایی Dietary treatment	مصرف خوراک Feed intake (g)	افزایش وزن Weight gain (g)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	مصرف خوراک Feed intake (g)	افزایش وزن Weight gain (g)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
شاهد Control	188.3	137.2[ab]	1.37[b]	1060.5	638.2	1.66
۰/٤ درصد بذر خام 0.4% crude seed	182.7	131.5[bc]	1.39[b]	1052.3	624.3	1.68
۰/٤ درصد بذر حرارت‌دیده 0.4% heated seed	182.1	126.7[c]	1.43[a]	1046.4	583.0	1.71
۰/۸ درصد بذر حرارت‌دیده 0.8% heated seed	196.2	143.6[a]	1.36[b]	1000.5	598.1	1.63
SEM	3.65	2.93	0.008	18.09	18.49	0.03
P-value	0.0622	0.0088	0.0003	0.1397	0.1977	0.5410

SEM: خطای معیار میانگین‌ها

a,b,c: در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

[a, b,c] mean value in a column not sharing a superscript are significantly different (P<0.05).

جدول۳- تأثیر سطوح مختلف بذر خار مریم خام و حرارت‌دیده بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی طی دوره‌های پایانی و کل دوره آزمایشی

Table 3- The effect of different levels of crude and heated milk thistle seed on growth performance of broiler chickens during finisher and whole experimental periods

	دوره پایانی (۲۵-٤۲ روزگی) Finisher phase (25-42 days)			کل دوره (۰-٤۲ روزگی) Whole experimental period (0-42 days)		
تیمار غذایی Dietary treatment	مصرف خوراک Feed intake (g)	افزایش وزن Weight gain (g)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	مصرف خوراک Feed intake (g)	افزایش وزن Weight gain (g)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio
شاهد Control	3396.4	1966.1	1.72	4645.2	2741.4	1.69
۰/٤ درصد بذر خام 0.4% crude seed	3515.6	1957.2	1.79	4750.2	2713.1	1.75
۰/٤ درصد بذر حرارت‌دیده 0.4% heated seed	3360.2	1814.9	1.85	4588.8	2524.6	1.82
۰/۸ درصد بذر حرارت‌دیده 0.8% heated seed	3376.8	1866.3	1.81	43573.5	2608.0	1.75
SEM	60.24	42.70	0.045	73.32	59.47	0.047
P-value	0.2995	0.0770	0.2764	0.3526	0.0849	0.2497

SEM: خطای معیار میانگین‌ها

همانطور که در جدول ٤ مشاهده می‌شود، غلظت گلوکز و کلسترول کل سرم جوجه‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. مصرف ۰/٤ درصد بذر خار مریم حرارت‌دیده غلظت‌های سرمی آلبومین (P<۰/۰۵) و پروتئین کل (P<۰/۰۱) را به طور معنی‌داری افزایش داد، اما بین دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری با

گروه شاهد دیده نشد. اختلاف موجود بین غلظت تری-گلیسرید سرم خون جوجه‌ها در اثر تیمارهای آزمایشی با گروه شاهد معنی‌دار نبود، ولی مصرف ۰/٤ درصد خار مریم حرارت‌دیده در جیره باعث افزایش غلظت این فراسنجه در مقایسه با ۰/٤ درصد خار مریم خام و ۰/۸ درصد خار مریم حرارت‌دیده شد (P<۰/۰۵).

جدول۴- تأثیر سطوح مختلف بذر خار مریم خام و حرارت‌دیده بر فراسنجه‌های سرمی جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی (بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر)

Table 4- The effect of different levels of crude and heated milk thistle seed on serum parameters of broiler chickens at 35 days of age (mg/dl)

تیمار غذایی Dietary treatment	گلوکز Glucose	آلبومین Albumin	پروتئین کل Total protein	کلسترول کل Total cholesterol	تری‌گلیسرید Triglyceride
شاهد Control	63.68	1.41[b]	2.86[b]	91.29	90.02[ab]
۰/٤ درصد بذر خام 0.4% crude seed	59.50	1.56[ab]	3.16[b]	96.61	81.15[b]
۰/٤ درصد بذر حرارت‌دیده 0.4% heated seed	62.49	1.68[a]	3.98[a]	96.05	99.55[a]
۰/۸ درصد بذر حرارت‌دیده 0.8% heated seed	63.02	1.38[b]	3.20[b]	93.77	82.91[b]
SEM	2.904	0.072	0.126	5.485	4.456
P-value	0.7676	0.0318	0.0002	0.6937	0.0334

SEM: میانگین خطای معیار

a,b,c: در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

[a, b,c] mean value in a column not sharing a superscript are significantly different (P<0.05).

فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم خون جوجه‌ها در اثر تیمارهای آزمایشی در جدول ۵ ارائه شده است. فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در اثر سطوح مختلف بذر خار مریم حرارت‌دیده نسبت به تیمار شاهد به صورت معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۱). مصرف ۰/٤ درصد بذر خار مریم خام و ۰/۸ درصد بذر خار مریم حرارت‌دیده فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (P<۰/۱۵) ولی اختلاف معنی‌داری در فعالیت سرمی این آنزیم در اثر مصرف ۰/٤ درصد بذر خارمریم حرارت‌دیده با گروه شاهد مشاهده نشد.

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف بذر خار مریم خام و حرارت‌دیده بر میانگین تیترهای آنتی‌بادی تام علیه SRBC، IgG و IgM در سن ۳۵ روزگی جوجه‌ها نشان داد که مصرف همه سطوح بذر خار مریم تیتر آنتی‌بادی تام علیه SRBC را به طور معنی‌داری افزایش داد (P<۰/۰۱). بیشترین تیتر مشاهده شده مربوط به تیمار ۰/۸ درصد خار مریم حرارت‌دیده بود، هرچند که اختلاف آن با ۰/٤ درصد خارمریم خام معنی‌دار نبود. تیتر IgG در اثر ۰/٤ درصد خار مریم خام و ۰/۸ درصد خار مریم حرارت‌دیده به طور معنی‌داری افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). اما اختلاف معنی‌داری در تیتر IgM سرم خون جوجه‌ها در اثر تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول۵- تأثیر سطوح مختلف بذر خار مریم خام و حرارت‌دیده بر فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم خون جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی (بر حسب واحد در لیتر)

Table 5- Effect of different levels of crude and heated milk thistle seed on liver enzyme activity in serum of broiler chickens at 35 days of age (U/l)

تیمار غذایی Dietary treatment	آلانین آمینوترانسفراز Alanine aminotrasferase	آسپارتات آمینوترانسفراز Aspartate aminotransferase
شاهد Control	35.30[a]	108.78[a]
۰/٤ درصد بذر خام 0.4% crude seed	36.25[ab]	9510[b]
۰/٤ درصد بذر حرارت‌دیده 0.4% heated seed	33.21[b]	107.50[a]
۰/۸ درصد بذر حرارت‌دیده 0.8% heated seed	29.40[c]	84.60[b]
SEM	1.435	3.574
P-value	0.0008	0.0007

SEM: خطای معیار میانگین‌ها

a,b,c: در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

[a, b,c] mean value in a column not sharing a superscript are significantly different (P<0.05).

جدول۶- تأثیر سطوح مختلف بذر خار مریم خام و حرارت‌دیده بر فراسنجه‌های سیستم ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی (بر حسب لگاریتم بر مبنای ۲)

Table 5- The effect of different levels of crude and heated milk thistle seed on humoral immunity parameters of broiler chickens at 42 days of age (log_2)

تیمار غذایی Dietary treatment	SRBC	IgG	IgM
شاهد Control	3.64[c]	2.64[c]	1.00
۰/٤ درصد بذر خام 0.4% crude seed	4.76[ab]	3.51[ab]	1.24
۰/٤ درصد بذر حرارت‌دیده 0.4% heated seed	4.26[b]	3.01b[c]	1.25
۰/۸ درصد بذر حرارت‌دیده 0.8% heated seed	4.89[a]	3.76[a]	1.12
SEM	0.184	0.231	0.312
P-value	0.0018	0.0226	0.9301

SEM: خطای معیار میانگین‌ها

a,b,c: در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

[a, b,c] mean value in a column not sharing a superscript are significantly different (P<0.05).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از ۰/٤ درصد خار مریم حرارت‌دیده در مقایسه با ۰/٤ درصد خار مریم خام باعث افزایش ضریب تبدیل خوراک و در مقایسه با گروه شاهد علاوه بر افزایش ضریب تبدیل خوراک موجب کاهش وزن جوجه‌ها طی دوره آغازین شد. مشاهده چنین نتایجی در کنار مصرف خوراک یکسان می‌تواند گویای این مطلب باشد که احتمالاً اعمال حرارت موجب شده تا در این دوره هضم و جذب مواد مغذی در دستگاه گوارش صدمه دیده و به دنبال آن

خوراک مصرفی با بازدهی پایینی مورد استفاده قرار گیرد (جدول ۲). با مصرف سطح بالاتر بذر حرارت‌دیده، افزایش عددی مصرف خوراک (۱۹۶/۲ در مقابل ۱۸۲/۱ گرم) از کاهش وزن و افزایش ضریب تبدیل خوراک ممانعت کرده است. بنابراین به نظر می‌رسد طی دوره آغازین، پاسخ عملکرد رشد پرنده به مصرف بذر خار مریم وابسته به سطح مصرفی آن می‌باشد. نبود گزارشی در خصوص مصرف خار مریم حرارت‌دیده در جیره، مقایسه نتایج به دست آمده را امکان‌پذیر نمی‌کند. اما عدم مشاهده تغییر معنی‌دار در فراسنجه‌های عملکرد رشد جوجه‌ها طی دوره آزمایشی در اثر سطوح مختلف بذر خار مریم جیره با یافته‌های محققین دیگر همخوانی دارد (ساچی و همکاران ۲۰۰۸ و رشیدی و همکاران ۲۰۱۵). البته در مقابل، کاهش مصرف خوراک روزانه و بهبود ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها با استفاده از سطوح افزایشی سیلی‌مارین به عنوان مهمترین ماده موثره بذر خار مریم نیز گزارش شده است (مجاهد طلب وهمکاران ۲۰۱۳).

برخلاف یافته این آزمایش، کاهش گلوکز سرم خون جوجه‌ها با مصرف ۰/۵ و ۱ درصد بذر خار مریم توسط فانی مکی و همکاران (۲۰۱٤) گزارش شده است. اما مصرف سیلی‌مارین همانند این مطالعه بر سطح سرمی گلوکز تأثیری نداشت (تدسکو و همکاران ۲۰۰٤). در مطالعات انسانی، شواهدی مبنی بر کاهش قند خون در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ در اثر سیلی مارین و کاهش نیاز به تجویز انسولین با منشاء خارجی وجود دارد (فلاح حسینی و همکاران ۲۰۰٤، آبناولی و همکاران ۲۰۱۰). مشابه یافته‌های پژوهش حاضر، عدم تغییر غلظت پروتئین کل و آلبومین سرم خون جوجه‌ها در اثر مصرف بذر خار مریم خام توسط فانی مکی و همکاران (۲۰۱۳) هم نشان داده شده است. کاهش غلظت آلبومین و پروتئین کل سرم خون معمولاً به عنوان شاخصی از آسیب‌دیدگی بافت کبد مطرح است. به طوری‌که با مصرف سمومی نظیر آفلاتوکسین B_1 (تدسکو و همکاران ۲۰۰٤) و تتراکلرید کربن (سوذکاسیل و همکاران ۲۰۱۱) در جوجه‌های گوشتی افت این شاخص‌ها در اثر آسیب کبدی مشاهده می شود. با این استدلال، افزایش غلظت سرمی آلبومین و پروتئین کل در اثر ۰/٤ درصد خار مریم حرارت‌دیده می‌تواند به عنوان یک تأثیر مثبت در راستای حفاظت از کبد در نظر گرفته شود. نتیجه‌ای که لوتسنکو و همکاران (۲۰۰۸) نیز با مشاهده افزایش سطح پروتئین کل و آلبومین سرم خون جوجه‌ها در اثر مصرف ۰/٦ میلی‌گرم سیلی‌مارین در کیلوگرم جیره به آن اذعان داشتند. عدم مشاهده چنین پاسخی با سطح ۰/۸ درصد خار مریم حرارت‌دیده ممکن است به وابسته بودن این پاسخ‌های فیزیولوژیکی به مقدار مصرف این گیاه و به تبع آن سیلی‌مارین مربوط باشد (سالر و همکاران ۲۰۰۷). عدم تأثیر سطوح مختلف خار مریم بر سطح کلسترول سرم با یافته‌های برخی از پژوهشگران دیگر روی جوجه گوشتی (فانی مکی و همکاران ۲۰۱۳) و مرغ تخمگذار (شلایی و حسینی ۲۰۱۵) موافق ولی با گزارش برخی دیگر که کاهش سطح سرمی کلسترول جوجه‌ها را با مصرف بذر خار مریم مشاهده کردند (ساچی و همکاران ۲۰۰۸، رشیدی و همکاران ۲۰۱۵)، مغایر است. دلیل این اختلاف می‌تواند مصرف سطوح بالای بذر خار مریم در گزارش‌های اخیر باشد. چه اینکه این نتیجه با مصرف سطوح بالای ۱ درصد بذر این گیاه در جیره دیده شده است. در آزمایش‌های صورت گرفته، غلظت تری‌گلیسرید سرم خون جوجه‌ها به طور متفاوتی تحت تأثیر بذر خار مریم قرار گرفته است. به طوری‌که همانند یافته این مطالعه عدم تأثیر این فراسنجه در جوجه گوشتی (فانی مکی و همکاران ۲۰۱۳) و مرغ تخمگذار (شلایی و حسینی ۲۰۱۵) مشاهده شده است. اما در مقابل، کاهش غلظت آن نیز با مصرف سطوح ۰/۵، ۱/۵ و ۲ درصد بذر خار مریم در جیره گزارش شده است (رشیدی و همکاران ۲۰۱۵).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز در سرم از مهمترین شاخص‌های بررسی آسیب کبدی است. آسپارتات آمینوترانسفراز به جزء کبد، در بافت‌های دیگر از جمله قلب و عضله اسکلتی به میزان زیاد و در مغز، پانکراس، شش و گلبول‌های سفید و قرمز به میزان کمتری یافت می‌شود. درحالی که آلانین آمینوترانسفراز در مقادیر زیاد فقط در کبد یافت می‌شود و از این‌رو معیار حساس-تر و اختصاصی‌تری برای آسیب سلولی کبد می‌باشد (لین و همکاران، ۲۰۰۸). فعالیت سرمی این آنزیم‌ها در اثر مصرف سموم توسط جوجه‌ها و صدمه بافت کبد آن‌ها افزایش می‌یابد (سونکاسیل و همکاران ۲۰۱۱، فانی مکی و همکاران ۲۰۱٤). در مطالعه حاضر، برخی از سطوح مصرفی بذر خار مریم کاهش فعالیت این دو آنزیم کبدی را در پی داشت. این مشاهده با گزارش ساچی و همکاران (۲۰۰۸) و در مورد آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز با گزارش فانی مکی و همکاران (۲۰۱٤) همخوانی دارد. با این حال عدم تغییر فعالیت این آنزیم‌ها در اثر بذر خار مریم (فانی مکی و همکاران ۲۰۱۳) و سیلی‌مارین (لوتسنکو و همکاران ۲۰۰۸) توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است. مشاهده کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و افزایش غلظت آلبومین و پروتئین کل سرم خون جوجه‌ها (جدول ٤) توسط برخی از سطوح مصرفی بذر خار مریم می‌تواند بر نقش بالقوه این گیاه برای محافظت از کبد گواه باشد. موضوعی که قبلاً هم توسط محققین دیگر به آن اذعان شده است (فلاح حسینی و همکاران ۲۰۰٤، سالار و همکاران۲۰۰۷ و آبناولی و همکاران ۲۰۱۰). به طوری‌که سالار و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی بیش از ۷۰۰ مقاله نشان دادند که سیلی‌مارین خار مریم با مکانیسم پیچیده‌ای در غشاء سلولی با تأثیر بر پروتئین‌های حامل و گیرنده‌های روی آن، در سیتوپلاسم با ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد سمی و نیز به واسطه DNA و RNA با دخالت در سنتز پروتئین‌ها نقش خود را ایفاء می‌کند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی این ماده با کاهش رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها، مسدود کنندگی سموم آن با ممانعت از اتصال سموم به غشاء سلول‌های کبدی و آنتی فیبروتیک نیز موجب مصون ماندن این سلول‌ها از آسیب می‌شود (آبناولی و همکاران ۲۰۱۰). علاوه بر آن، نقش این ماده در ترمیم سلول‌های صدمه دیده کبدی نیز نشان داده شده است (لوپر ۱۹۹۸).

مشابه نتایج به دست آمده، مجاهد طلب و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از سطوح افزایشی سیلی‌مارین در جیره جوجه‌های گوشتی افزایش تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC و تیتر IgG و عدم تغییر تیتر IgM را مشاهده کردند. اما در مقابل فانی مکی و همکاران (۲۰۱۳) با مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم بذر خارمریم در کیلوگرم جیره تغییر معنی‌داری را در فراسنجه‌های یاد شده مشاهده نکردند. نقش بذر خار مریم به عنوان عامل تقویت کننده سیستم ایمنی در حضور عامل تضعیف کننده این سیستم (آفلاتوکسین B_1) در جوجه‌های گوشتی هم نشان داده شده است (چاند و همکاران ۲۰۱۱). در آن مطالعه استفاده از بذر خار مریم در جیره توانست از کاهش اوزان نسبی اندام‌های سیستم ایمنی شامل بورس فابریسیوس، تیموس و طحال در اثر آفلاتوکسین ممانعت نماید. افزایش آنتی‌بادی تولیدی در آزمایش حاضر به دنبال تزریق آنتی‌ژن SRBC نشان می‌دهد که مواد موثره بذر خار مریم دارای قابلیت تأثیرگذاری بر گلبول‌های سفید هستند که این نقش تحت تأثیر اعمال حرارت قرار نمی‌گیرد (جدول ٦). البته گزارش‌هایی هم در خصوص تأثیر سیلی‌مارین بر گلبول‌های سفید وجود دارد. به طوری‌که در مطالعه آزمایشگاهی انجام شده افزایش محسوس بیان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در لمفوسیت‌های بیماران مبتلا به سیروز الکلی با دز درمانی سیلی‌مارین مشاهده شده (پرادهان و گیریش ۲۰۰٦) و یا وابسته بودن فعالیت لمفوسیت‌ها به دز مصرفی سیلی‌مارین هم با مشاهده مهار فعالیت لمفوسیت‌های T در دز پایین و تحریک فرآیند التهابی در دز بالا نشان داده شده است

(جانسون و همکاران، ۲۰۰۳). وابسته بودن پاسخ‌های فیزیولوژیکی به دز مصرفی سیلی‌مارین و نیز اثرات دو گانه این ترکیب توسط ساللر و همکاران (۲۰۰۷) نیز اذعان شده است. آبناولی و همکاران (۲۰۱۰) با مرور منابع مختلف به نقش تعدیل کننده سیستم ایمنی و ضد التهابی سیلی‌مارین در سلول اشاره کرده است. علاوه بر تأثیر مستقیم سیلی‌مارین روی گلبول‌های سفید، ممکن است بخشی از اثرات مفید این ترکیب بر سیستم ایمنی به نقش آنتی‌اکسیدانی آن مربوط باشد. تصور بر این است که ساختار فنلی سیلی‌مارین موجب می‌شود تا ترکیبات پایداری از رادیکال‌های آزاد هیدروکسیلی و اکسیژنی تشکیل شود (داس و واسودوان ۲۰۰٦). بنابراین سیلی‌مارین می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاهای بیولوژیکی و افزایش قوام غشاها به تقویت سیستم دفاعی بدن کمک کند.

نتیجه گیری کلی

با توجه به اثرات مشابه بذرهای خام و حرارت‌دیده خار مریم به نظر می‌رسد که مواد موثره این گیاه به اعمال حرارت ۸۰ درجه سانتی‌گراد مقاوم می‌باشند. استفاده از بذر خار مریم حرارت‌دیده و یا خام در جیره، به جزء تأثیر سوء ۰/٤ درصد بذر حرارت دیده در دوره آغازین، بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری نشان نداد. مشاهده افزایش غلظت سرمی آلبومین و پروتئین کل به موازات کاهش آنزیم‌های کبدی در اثر برخی از سطوح مصرفی خار مریم، نقش حمایتی این گیاه را بر عملکرد کبد نشان داد. همچنین نقش تقویت کنندگی سیستم ایمنی در اثر بذر خار مریم با بهبود شاخص‌های سیستم ایمنی هومورال مشاهده شد.

منابع مورد استفاده

Abenavoli L, Capasso R, Milic N and Capasso F, 2010. Milk thistle in liver diseases: past, Present, future. Phytotherapy Research 24: 1423–1432.

Chand N, Muhammad D, Durrani FR, Subhan Qureshi M and Ullah SS, 2011. Protective effects of milk thistle (*Silybum marianum*) against aflatoxin B_1 in broiler chicks. Asian-Australian Journal of Animal Science 24: 1011–1018.

Cheema MA, Qureshi MA and Havenstein GB, 2003. A comparison of the immune response of 2001 commercial broiler with a 1957 random bred broiler strain when fed representative1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science 82: 1519-1529.

Das SK and Vasudevan DM, 2006. Protective effects of silymarin, a milk thistle (*Silybum marianum*) derivative on ethanol-induced oxidative stress in liver. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics 43: 306–311.

Ding TM, Tian SJ, Zhang ZX, Gu DZ, Chen YF, Shi YH and Sun ZP, 2001. Determination of active component in silymarin by RP-LC and LC/MS. Journal of Pharmaceutical and Biochemical Analysis 26: 155-161.

Fallah Hosseini H, Hemmati Moghaddam AR and Alijani SM, 2004. A review on medicinal plant, milk thistle. Journal of Medicinal Plants 11: 14-24 (In Persian).

Fani Makki O, Ebrahimzadeh A, Ansaari Nik H and Ghazghi M, 2013. Effect of milk thistle (*Silybum marianum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) herbs on immunity and some blood metabolites in broiler chicks. Veterinary Clinical Pathology 26: 1836-1843 (In Persian).

Fani Makki O, Omidi A, Afzali N, Sarir H, Frouzanmehr M and Shibak A, 2014. Efficacy of *Silybum marianum* seeds in ameliorating the toxic effects of aflatoxin B_1 in broilers. Iranian Journal of Toxicology 24: 977-982.

Hassanloo T, Khavarinejad R and Majidi A, 2001. The study on morphological characteristics and storage of different flavonolignans in harvested and endemic milk thistle of Iran. Journal of Medicinal Plants 22: 77-90 (In Persian).

Jamshidi AH, Ahmadi Ashtiani HR, Ghamhosseini B and Bokaei S, 2007. The effect of oral administration of milk thistle extract (silymarin) on tissue and biochemical changes caused by aflatoxin in broiler chickens. Journal of Medicinal Plants 24: 92-100 (In Persian).

Johnson VJ, He Q, Osuchowski MF and Sharma RP, 2003. Physiological responses of a natural antioxidant flavonoid mixture, silymarin, in BALB/c mice: III. Silymarin inhibits T-lymphocyte function at low doses but stimulates inflammatory processes at high doses. Planta Medica 69: 44–49.

Khatami SA, 2015. The effect of milk thistle (*Silybum marianum* L.) fruit on growth performance, nutrients digestibility, some blood parameters, intestinal morphology and meat quality of broiler chickens. MSc thesis, University of Mohaghegh Ardabili (In Persian).

Krishan G and Narang A, 2014. Use of essential oils in poultry nutrition: A new approach. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research 1: 156-162.

Lin HM, Tseng HC, Wang CJ, Lin JJ, Lo CW and Chou FP, 2008. Hepatoprotective effects of *Solanum nigrum* Linn extract against CCl_4-iduced oxidative damage in rats. Chemico-Biological Interactions 171: 283-293.

Luper S, 1998. A review of plants used in the treatment of liver disease: Part I. Alternative Medicine Review 3: 410–421.

Lutsenko SV, Kashnikova TV, Khmyrov AV, Druz EA, Ledeshkova ON, Fel'dman NB, Luzhnov ND and Lutsenko EV, 2008. Study of the effect of a liposomal form of silymarin on biochemical indices of the blood serum and productivity of broiler chicks. Russian Agricultural Science 34: 415-417.

Mojahedtalab AR, Mohammadi M, Roostaei-Ali Mehr M and Asadi M, 2013. Effect of silymarin on performance and immune responses of broilers. Animal Production Research 2:49-58 (In Persian).

National Research Council, 1994. Nutrient Requirements for Poultry. National Academy Press, Washington DC.

Pradhan SC and Girish C, 2006. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. Indian Journal of Medical Research 124: 491–504.

Rashidi N, Bujarpoor M, Chaji M and Aghaei A, 2015. Effect of *Silybum marianum* seed on performance, carcass characteristics and blood parameters of broiler chickens. Animal Production Research 3: 11-21 (In Persian).

Saller R, Melzer J, Reichling J, Brignoli R and Meier R, 2007. An updated systematic review of the pharmacology of silymarin. Forschende Komplementärmedizin 14: 70–80.

SAS Institute, 2002. SAS/STAT User's guide: Statistics, Version 9.1, 4th ed, SAS Inst, Inc, Cary, NC.

Schiavone F, Righi A, Quarantelli A, Bruni R, Serventi P and Fusari A, 2007. Use of *Silybum marianum* fruit extract in broiler chicken nutrition: influence on performance and meat quality. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 91: 256-262.

Shalaei M and Hosseini SM, 2015. Effect of adding different levels of milk thistle and purslane seed to the diet on performance, egg quality traits and composition of serum and egg yolk lipids in laying hens. Journal of Aniamal Science Researches 25: 163-178 (In Persian).

Sonkusale P, Bhandarker AG, Kurkare NV, Ravikanth K, Maini S and Sood D, 2011. Hepatoprotective activity of superliv liquid and repchol in CCl_4 induced FLKS syndrome in broilers. International Journal of Poultry Science 10: 49-55.

Suchý Jr P, Straková E, Kummer V, Herzig I, Písaříková V, Blechová R and Mašková J, 2008. Hepatoprotective effects of milk thistle (*Silybum marianum*) seed cakes during the chicken broiler fattening. Acta Veterinaria Brno 77: 31-38.

Tedesco D, Steidler S, Galletti, S, Tameni M, Sonzogni O and Ravarotto L, 2004. Efficacy of silymarin-phospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B_1 in broiler chicks. Poultry Science 83: 1839–1843.

Zargari A, 1996. Medicinal plants (5 printing). Vol 3. Tehran University publishing, Tehran, Iran. pp 34-38 (In Persian).

Effect of crude and heated milk thistle seed on performance and some blood and humoral immunity parameters of broiler chickens

M Mozaffarpour Toubkanlou[1], M D Shakouri[2*] and H Janmohammadi[3]

Received: July 5, 2016 Accepted: June 18, 2017

[1]Former MSc student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[3]Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author: Email: mdshakouri@uma.ac.ir

Abstract

Introduction: Milk thistle (MT) (*Silybum marianum* L.), as one of the famous medicinal plant, belongs to *Compositae* family and is native for west and central Europe, and north of India (Zargari 1996). The plant is endemic for Iran too, and is grown in different parts of the country (Hassanloo et al. 2001). A mix of flavonolignans called silymarin forms the main bioactive component of this plant (Luper 1998). The content of silymarin in MT seeds collected from different zones of Iran varies from 6.9 to 27.1 mg/g of dry matter (Hassanloo et al. 2001). Supplementation of MT seed (Suchý et al. 2008, Rashidi et al. 2015) or silymarin (Schiavone et al. 2007) to the diet had no adverse effect on broilers performance. However, adding the seed and silymarin to aflatoxin contaminated diets prevented the deleterious effect of the toxin on broilers (Jamshidi et al. 2007, Chand et al. 2011). Silymarin has anti inflammatory and immunomodulatory effects which its mechanisms of action has been reviewed by Abenavoli et al. (2010). Addition of 200 mg/kg silymarin improved humoral immune response of broiler (Mojahedtalab et al. 2013). Reduction of cholesterol, increase of HDL-cholesterol (Rashidi et al. 2015), and decrease of alanin aminotransferas and aspartate amino transferase (Suchý et al. 2008) in broilers serum have been also revealed. In a previous study, MT seed, probably due to the presence of anti nutritional factors, decreased nutrients digestibility and performance of broilers (Khatami 2015). Hence, in this study the heated and crude MT seed was tested on broilers performance, some blood and humoral parameters.

Material and methods: A total of 256 one-day old broiler chicks (Ross 308) were randomly assigned to four treatments with four replicates and 16 birds each. The experimental treatments including zero (control), 0.4 percent crude, 0.4 percent heated and 0.8 percent heated MT seed were fed to broilers for a period of 42 days. MT seed was collected from Moghan zone, Ardabil province of Iran. Heat treatment of MT seed was performed using an oven (80 ˚C, 24 h). The experimental diets were formulated to meet or exceed the nutrient requirements for starter (0-10), grower (11-24) and finisher (25-42) phases (Table 1). The birds reared under standard conditions with free access to water and feed for 23 hours per day. At the end of each feeding phases, feed intake (FI) and weight gain (WG) of birds were recorded. Then using the data feed conversion ratio was calculated. To determine some blood serum biochemical parameters using the commercial kits (Pars Azmoon, Tehran, Iran), two birds (one male and one female) were bled from their wing vein on day 35. Two birds per cage were also injected intramuscularly with sheep red blood cells (SRBC) (2.5% suspension in PBS, 0.2 ml/ chick) at 35 days of age. Determination of total antibody titer (against SRBC) and resistant antibody to 2-mercaptoethanol (IgG) were done by hemagglutination assay following the blood sampling in 7th days after injection (Cheema et al 2003). IgM antibody level calculated from the difference between the total antibody and the IgG. The data were subjected to statistical analyses using the General Linear Model procedure of SAS software (SAS Institute, 2002). Duncan's multiple range test was used to compare the significant difference between the means.

Results and discussion: Through the starter period (0-10 days), adding 0.4 percent heated MT seed reduced WG and increased FCR of chickens (P<0.01). The birds on 0.8 percent heated seed had better WG that those on 0.4 percent heated seed (P<0.01). However, throughout the grower, finisher and whole experimental periods, none of performance parameters was affected by the treatments (Tables 2 and 3). The data obtained from the same level of heated and crude MT seed in starter phase indicated that heat treatment induced lower efficiency of consumed feed probably due to the decreased nutrients digestibility. In this period, the birds on 0.8 percent heated seed overcame their weight loss by increasing the FI. Due to the lack of available data on treated MT seed, the comparison of obtained data is difficult. However, no changes in growth performance of birds by MT seed, at the end of experiment, are in keeping with other studies (Suchý et al 2008, Rashidi et al 2015). Addition of 0.4 percent heated MT seed increased the concentration of serum albumin (P<0.05) and total protein (P<0.01). The concentration of glucose, total cholesterol and triglyceride was not affected by MT seed compared with control (Table 4). Reduction of serum albumen and total protein levels is considered as a sign for liver damage, for example, by exogenous toxins (Tedesco et al 2004, Sonkusale et al 2011). The supportive effect of MT on liver due to enhancing these parameters have been reported (Letsenco et al. 2008), as observed by 0.4 percent heated MT seed in this study too. Although the result on cholesterol was in line with Fani Makki et al. (2013), the reduction of cholesterol level has been shown by high level of MT seed (Suchý et al. 2008, Rashidi et al 2015). The activities of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase were decreased by all and some (0.4 percent of crude and 0.8 percent of heated) levels of MT seeds, respectively (P<0.01; Table 5). The reduction of these liver enzymes activity was in agreement with other studies (Suchý et al. 2008, Fani Makki et al 2014). Increased serum albumen and total protein in parallel to decreased liver enzymes could be denoted the supportive role of MT. The fact that has been extensively reviewed by Saller et al. (2007) and Abenavoli et al. (2010). Applying all levels of MT seed increased anti-SRBC (P<0.01) and IgG titers (P<0.05), while had no effect on IgM titer (Table 6). Such results have been also observed by Mojahedtalab et al. (2013). The findings indicated that the effect of MT seed on leucocytes did not influenced by heat treatment. Beside the direct effect of silymarin on leucocytes (Johnson et al 2003, Pradhan and Girish 2006), the immune modulatory effect observed in this study can be explained by anti inflammatory (Abenavoli et al 2010) and antioxidant (Das and Vasudevan 2006) effects of silymarin as well.

Conclusion: The results showed that bioactive components of MT are resistant to heat treatment (80 °C, 24 h). Appling MT seed in broilers diet had no positive effect on growth performance, but improved the performance of liver and humoral immunity.

Keywords: Liver enzymes, SRBC, Milk thistle, Serum albumin, Broiler chickens