نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۹، زمستان ۱۳۹۹
ص‌ص: ۷۵~۸۶

تأثیر افزودنی خوراکی ضد تنش بر پاسخ‌های ایمنی و فراسنجه‌های خونی سه سویه تجاری جوجه گوشتی تحت شرایط تنش گرمایی

- **بابک اسدی**
گروه علوم دامی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.
- **امیرحسین علیزاده قمصری** (نویسنده مسئول)
استادیار مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
- **سید عبداله حسینی**
استاد مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
- **محمدرضا سلیمانی**
دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

تاریخ دریافت : خرداد ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش : آذر ۱۳۹۸
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۱۲۴۱۴۳۳
Email: amir3279@gmail.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2019.126655.1940

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثرات افزودنی خوراکی ضد تنش حاوی پروبیوتیک پروتکسین®، ویتامین C و بتائین در سه سویه تجاری جوجه گوشتی بر پاسخ‌های ایمنی، برخی فراسنجه‌های خونی و پایداری اکسیداتیو ماهیچه سینه در شرایط تنش گرمایی انجام شد. تعداد ۷۲۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل۳×۲، شامل ۲ سطح از افزودنی مورد نظر (با افزودنی و بدون افزودنی) و ۳ سویه جوجه گوشتی(آربور ایکرز، راس ۳۰۸ و کاب ۵۰۰) با ٦ تیمار، ٤ تکرار و ۳۰ قطعه جوجه در هر تکرار (مخلوط نر و ماده با نسبت مساوی) مورد استفاده قرار گرفتند. پرنده‌ها از سن ۲۲ تا ٤۲ روزگی، روزانه هشت ساعت تحت تنش گرمایی با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. علاوه بر فراسنجه‌های عملکرد، پاسخ ایمنی هومورال با تزریق وریدی سوسپانسیون پنج درصد گلبول قرمز خون گوسفند (SRBC)، اندازه‌گیری و تیتر اولیه و ثانویه آنتی‌بادی تعیین شدند. در سن ٤۲ روزگی، نمونه‌های خون برای اندازه گیری فراسنجه‌های سرم شامل کل پروتئین، کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL و LDL جمع‌آوری شدند. نسبت هتروفیل به لنفوسیت و نیز فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در سن ٤۲ روزگی مورد بررسی قرار گرفتند. در بین فراسنجه‌های مورد ارزیابی، تنها غلظت LDL تحت تأثیر سویه‌های آزمایشی قرار گرفت ($P<0.05$) و کمترین غلظت LDL سرم در سویه آربور ایکرز دیده شد. بطور کلی، سویه و افزودنی خوراکی به کار رفته در این آزمایش، تأثیر معنی‌داری بر پاسخ ایمنی و پایداری اکسیداتیو ماهیچه سینه در جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی نداشتند.

واژه‌های کلیدی: افزودنی خوراکی ضد تنش، ایمنی، تنش گرمایی، جوجه‌های گوشتی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 129 pp: 75-86

Effect of anti-stress feed additive on immune responses and blood parameters of three commercial broiler strains under heat stress conditions.

By: B. Asadi[1], A. H. Alizadeh-Ghamsari[*2], S. A. Hosseini[3], M. R. Soleimani[4]
1: Department of Animal Science, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan, Iran.
2: Assistant Professor, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
3: Professor, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
4: Former MSc student of Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.
*Corresponding author email address: amir3279@gmail.com

Received: June 2019 **Accepted: December 2019**

This study was conducted to investigate the effects of anti-stress feed additive containing probiotic Protexin®, vitamin C and betaine in three commercial broiler strains on immune responses, some blood parameters and oxidative stability of breast muscle under heat stress conditions. A total of 720 one-day-old broiler chicks were used in a completely randomized design as a 2×3 factorial arrangement consisting 2 levels of additive (with and without) and three broiler strains (Arbor Acres, Ross 308 and Cobb 500) with 6 treatments, 4 replicates and 30 birds in each replicate (male and female in equal proportion). The birds were exposed to heat stress (37 °C) for 8 hours daily from 22 to 42 days of age. In addition of performance parameters, humoral immune response was measured by intravenous administration of 5% sheep red blood cell (SRBC) suspension and primary and secondary antibody titers were determined. At 42 day of age, blood samples were collected to measure blood serum parameters including total protein, cholesterol, triglyceride, HDL and LDL. The heterophile to lymphocyte ratio and also glutathione peroxidase and super oxide dismutase enzyme activities were evaluated at 42 day of age. Among the evaluated parameters, only LDL concentration was affected by experimental strains ($P<0.05$) and the minimum serum LDL concentration was observed in Arbor Acres strain. Generally, the strain and feed additive used in this experiment had no significant effect on immune response and breast muscle oxidative stability of heat-stressed broilers.

Key words: Antioxidant status, Anti-stress feed additive, Broilers, Heat stress, Immunity

مقدمه

تنش گرمایی یکی از مهم‌ترین عواملی است که عملکرد حیوانات را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش اثرات زیان‌بار تنش گرمایی نه تنها در مناطق گرمسیری بلکه با توجه به گرم‌تر شدن هوای کره زمین و مشکلات پیرامون آن، یکی از مهم‌ترین اهداف پرورش‌دهندگان طیور در تمام دنیا است. قرار گرفتن طیور در شرایط تنش گرمایی موجب تنش اکسیداتیو و اختلال در سیستم ایمنی می‌شود به‌طوری‌که تعداد گلبول‌های سفید کاهش و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جریان خون، افزایش می‌یابد (Azad و همکاران، ۲۰۱۰). در پژوهشی تازه نیز تنش گرمایی در جوجه‌های گوشتی، پاسخ‌های ایمنی را نسبت به تزریق سوسپانسیون گلبول قرمز خون گوسفند (SRBC) به شکل معنی‌داری کاهش داد (Olfati و همکاران، ۲۰۱۸) لذا پژوهشگران در تلاشند راهکارهایی برای رفع مشکلات ناشی از تنش گرمایی در طیور، بیابند.

بیشتر باکتری‌های مورد استفاده در تهیه پروبیوتیک‌ها، از گروه باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک و عمدتاً شامل لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم هستند. نشان داده شده است که پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نقش مهمی در پیش‌گیری

از عفونت با باکتری اشریشیاکولی در جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی دارد (Jaafar، ۲۰۱۳). ویتامین C (آسکوربیک اسید) از آنتی‌اکسیدان‌های مهم در سیستم‌های بیولوژیکی است که منجر به شکستن زنجیره‌ای از واکنش‌های مرتبط با پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (McDowell، ۲۰۰۰). بتائین به شکل گسترده‌ای در حیوانات، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شود و قادر است سلول‌ها را از آسیب‌های حرارتی حفظ نماید (Craig، ۲۰۰۴). بتائین می‌تواند از طریق فعالیت آنزیمی در چرخه کربس و پاکسازی رادیکال‌های آزاد تولید شده، از پراکسیداسیون لیپیدها ممانعت نماید (Ganesan و همکاران، ۲۰۰۷).

از سوی دیگر، تفاوت‌های ژنتیکی بین سویه‌ها ممکن است بر توانایی جوجه‌های گوشتی در تحمل تنش‌های محیطی اثر گذارد (Attia و همکاران، ۲۰۱۸). بنابراین مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات افزودنی خوراکی ضد تنش حاوی پروبیوتیک پروتکسین®، ویتامین C و بتائین بر پاسخ‌های ایمنی، برخی فراسنجه‌های خونی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی عضله سینه در سه سویه تجاری جوجه گوشتی تحت شرایط تنش گرمایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت پرورش در بستر و با استفاده از تعداد ۷۲۰ قطعه جوجه یک‌روزه از سه سویه راس ۳۰۸، کاب ۵۰۰ و آربور ایکرز (۲۴۰ قطعه از مخلوط نر و ماده هر سویه با نسبت مساوی) انجام شد. دانخوری‌ها به صورت ناودانی و آبخوری‌ها از نوع کله قندی (تا سن پنج روزگی) و سپس آویز بودند. نور از طریق ۵ ردیف لامپ ۶۰ واتی و گرمای سالن توسط سیستم هیتر تأمین می‌شد. برنامه نوری به‌صورت ۲۴ ساعت روشنایی در طول دوره آزمایش، اعمال شد.

این تحقیق بر اساس طرح کاملاً تصادفی و در قالب آزمایش فاکتوریل ۳×۲ (دو سطح افزودنی و سه سویه تجاری) با شش تیمار و چهار تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره پایه دارای افزودنی با سویه راس ۳۰۸، ۲) جیره پایه بدون افزودنی با سویه راس ۳۰۸، ۳) جیره پایه دارای افزودنی با سویه آربور ایکرز، ۴) جیره پایه بدون افزودنی با سویه آربور ایکرز، ۵) جیره پایه دارای افزودنی با سویه کاب ۵۰۰ و ۶) جیره پایه بدون افزودنی با سویه کاب ۵۰۰ بودند.

افزودنی ضد تنش مورد استفاده در این تحقیق به میزان دو کیلوگرم در هر تن خوراک استفاده شد و هر کیلوگرم آن حاوی ۵۰ گرم پروبیوتیک پروتکسین®[1]، ۱۵۰ گرم ویتامین C[2]، ۵۰۰ گرم بتائین[3] و ۳۰۰ گرم سبوس گندم به عنوان ماده پرکننده بود. انتخاب غلظت هر یک از اجزای این افزودنی، بر اساس توصیه تولیدکننده آن انجام شد.

در ابتدای آزمایش، جوجه‌های یک‌روزه، توزین و به‌صورت تصادفی در ۲۴ واحد آزمایشی (۳۰ جوجه در هر قفس) قرار گرفتند. برنامه دمایی به این صورت بود که از سن ۱ روزگی (دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد) تا ۲۱ روزگی، دمای سالن، روزانه ۰/۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت و به حدود۲۳ درجه سانتی‌گراد رسید. تلاش شد تا میزان رطوبت سالن در دوره ۱ تا ۱۴ روزگی در سطح ۷۰ درصد و در دوره ۱۵ تا ۴۲ روزگی در سطح ۵۰ درصد تأمین شود. از سن ۲۲ روزگی، جوجه‌ها روزانه به مدت هشت ساعت، از ساعت ۱۰ صبح تا شش بعد از ظهر تحت تنش گرمایی با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. تمام جوجه‌ها با یک جیره پایه (جدول ۱) به فرم آردی، تغذیه شدند و اطلاعات لازم در زمینه انرژی قابل سوخت و ساز مواد خوراکی تشکیل دهنده جیره، از داده‌های انجمن ملی تحقیقات آمریکا (NRC، ۱۹۹۴)، در مورد پروتئین بوسیله تجزیه تقریبی و در مورد اسیدهای آمینه با روش NIR[4] انجام شده در شرکت ایوانیک آلمان به دست آمد. صفات عملکرد شامل وزن بدن،

---

[1] consisting *Lactobacillus acidophilus, L. bulgaricus, L. plantarum, L. rhamnosus, Bifidobacterium bifidum, Candida pintolopesii, Enterococcus faecium, Aspergillus oryzae* and *Streptococcus thermophilus* with minimum 2×10^9 CFU/g powder, Protexin® Company, Somerset, England.

[2] DSM Nutritional Products Inc., Basel, Switzerland.

[3] CTC BIO Inc., Seoul, South Korea.

[4] Near-infrared Reflectance Spectroscopy

خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی به‌صورت هفتگی و در کل دوره محاسبه شدند. در طول دوره پرورش، تمامی تلفات به صورت روزانه ثبت و داده‌های عملکرد بر اساس آن تصحیح شدند.

در سن ۲۸ روزگی، ۴ قطعه جوجه سالم از هر تکرار (۱۶ قطعه جوجه از هر تیمار) انتخاب و یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون ۵ درصد گلبول قرمز خون گوسفند (SRBC) از طریق سیاهرگ بال راست به هر یک از آنها تزریق شد. هفت روز پس از تزریق (سن ۳۵ روزگی)، خون‌گیری از طریق سیاهرگ بال چپ انجام و ۳ میلی‌لیتر خون برای تعیین پاسخ آنتی‌بادی اولیه جمع آوری شد. نمونه‌ها جهت تسریع عمل لخته شدن به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰g سانتریفیوژ شدند. در ادامه سرم حاصل، جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در عصر روز ۳۵، جوجه‌ها تزریق یادآور یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون ۵ درصد SRBC را از طریق سیاهرگ بال راست دریافت کردند و ۷ روز بعد (سن ۴۲ روزگی) برای تعیین تیتر آنتی‌بادی ثانویه، خون‌گیری از طریق سیاهرگ بال چپ انجام شد. نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی علیه SRBC به آزمایشگاه ایمنی‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انتقال داده شدند. نمونه‌های سرم ابتدا برای پاسخ آنتی‌بادی تام و سپس به طور اختصاصی و با استفاده از ۲- مرکاپتواتانول برای IgM و IgG مورد بررسی قرار گرفتند (Hay و Westwood، ۲۰۰۲). از بقیه نمونه‌های سرم به دست آمده در سن ۴۲ روزگی، برای اندازه‌گیری سطح پروتئین کل، تری گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون، استفاده شد.

در سن ۴۲ روزگی، چهار قطعه جوجه دیگر از هر تکرار انتخاب و خون به دست آمده از سیاهرگ بال چپ به لوله‌های آغشته به هپارین انتقال یافت. گسترش‌های خونی به صورت دستی تهیه و رنگ‌آمیزی شدند و جهت شمارش تفریقی سلول‌های خونی و تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسیت به آزمایشگاه انتقال یافتند. جهت افزایش دقت، تمامی نمونه‌ها توسط یک نفر شمارش شدند (Olfati و همکاران، ۲۰۱۸).

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در دوره‌های مختلف پرورش

اجزای جیره (درصد)	آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی)	رشد (۲۲ تا ۴۲ روزگی)
ذرت	۵۹/۲۴	۶۷/۹۲
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام)	۳۵/۵۱	۲۸/۳۲
نمک طعام	۰/۵۰	۰/۲۹
دی کلسیم فسفات	۱/۳۴	۱/۰۳
مکمل ویتامینی و معدنی[۱]	۰/۵۰	۰/۵۰
دی‌ال- متیونین	۰/۱۲	۰/۰۶
ال- لیزین هیدروکلراید	۰/۰۹	۰/۱۴
روغن سویا	۱/۴۷	۰/۴۱
سنگ آهک	۱/۲۳	۱/۳۳
آنزیم فیتاز[۲] (گرم در هر تن خوراک)	۵۰	۵۰
مواد مغذی (محاسبه شده)		
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۰۰	۳۰۰۰
پروتئین خام (٪)	۲۰/۴۵	۱۸/۴۴
کلسیم (٪)	۰/۹۷	۰/۸۵
فسفر قابل دسترس (٪)	۰/۴۵	۰/۴۲
سدیم (٪)	۰/۱۹	۰/۱۹
کلر (٪)	۰/۲۱	۰/۲۱
متیونین قابل هضم (٪)	۰/۴۴	۰/۳۵
متیونین+ سیستین قابل هضم (٪)	۰/۸۵	۰/۶۸
لیزین قابل هضم (٪)	۱/۱۸	۱/۰۴

[۱] مکمل ویتامینی و مواد معدنی مقادیر زیر را به ازای هر کیلوگرم جیره تأمین می‌نمود: ۱۸۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۴۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۳۶ میلی‌گرم ویتامین E، ۵ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۱/۶ میلی‌گرم کوبالامین، ۲/۹۷ میلی‌گرمتیامین، ۷/۵ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۵۷ میلی‌گرم نیاسین، ۴/۴۵ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۰/۱۸ میلی‌گرم بیوتین، ۱/۹ میلی‌گرم اسید فولیک، ۱۷/۸ گرم اسید پانتوتنیک، ۰/۱۲۵ میلی‌گرم اِتوکسی‌کوئین، ۴۸۷/۵ میلی‌گرم کولین کلراید، ۴۰/۵ میلی‌گرم آهن (سولفات آهن)، ۸۴ میلی‌گرم روی (سولفات روی)، ۱۶۰ میلی‌گرم منگنز (سولفات منگنز)، ۱/۲۶ میلی‌گرم ید (یدات کلسیم)، ۲۰ میلی‌گرم مس (سولفات مس) و ۰/۳۱ میلی‌گرم سلنیوم (سلنیت سدیم) بود.

[۲] فیتاز از نوع Natuphos® 10000 دارای فعالیتی به میزان FTU ۱۰۰۰۰در هر گرم محصول و تولید شده درشرکت BASF آلمان بود.

در سن ۴۲ روزگی، دو قطعه پرنده از هر تکرار کشتار و نمونه - ماهیچه سینه جداسازی شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در ماهیچه سینه جوجه‌ها با استفاده از کیت تجاری کمپانی کیمن[۵] (دستورالعمل شماره ۷۰۶۰۰۲) تعیین شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر با استفاده از پلیت ریدر اندازه‌گیری و فعالیت SOD به صورت واحد در گرم ماهیچه گزارش شد. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در ماهیچه سینه با استفاده از کیت تجاری کمپانی کیمن (دستورالعمل شماره ۷۰۳۱۰۲) اندازه‌گیری شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر با استفاده از یک پلیت ریدر ۵ بار و در فواصل زمانی ۵ دقیقه‌ای اندازه‌گیری و به صورت نانو مول/دقیقه/گرم ماهیچه گزارش شد.

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (SAS، ۲۰۰۴).

[5] Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. مدل آماری مورد استفاده جهت بررسی فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده در این تحقیق به صورت زیر بود:

$$Y_{ijk}= \mu+ A_i +B_j+ (AB_{ij}) + e_{ijk}$$

اجزای این مدل شامل موارد ذیل بودند:

Y_{ijk}: مقدار هر مشاهده در آزمایش، μ: میانگین صفت مورد مطالعه، A_i: اثر افزودنی، B_j: اثر سویه، AB_{ij}: اثر متقابل افزودنی و سویه و e_{ijk}: اثرات باقی‌مانده (خطای آزمایش)

نتایج و بحث

همان گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، در کل دوره پرورش (سن ۱ تا ۴۲ روزگی)، تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار خوراک مصرفی بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P>0.05$). در شرایط این آزمایش، سویه‌های راس، کاب و آربور ایکرز به ترتیب بیشترین خوراک مصرفی را در شرایط تنش گرمایی، نشان دادند. کاهش مصرف خوراک به دنبال قرار گرفتن در شرایط تنش گرمایی، بخشی از پاسخ طبیعی پرنده برای سازگار شدن با شرایط تنش گرمایی محسوب می‌شود (Geraert و همکاران، ۱۹۹۶). در حقیقت، مصرف خوراک برای دستیابی به حداکثر رشد موجب افزایش میزان سوخت و ساز پایه و اتلاف حرارتی می‌شود. در دمای بالا، این اتلاف حرارتی موجب تشدید تنش گرمایی خواهد شد. در چنین شرایطی، پرنده برای حفظ حیات خود باید میزان سوخت و ساز پایه را کاهش دهد و بنابراین مجبور به کاهش مصرف اختیاری خوراک خواهد بود (Etches و همکاران، ۲۰۰۸). به طور کلی، کاهش رشد در زمان تنش گرمایی، ناشی از کاهش مصرف خوراک می‌باشد.

با وجود عدم تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی بر وزن بدن در سن ۴۲ روزگی (جدول ۲)، تنش گرمایی مانع از رسیدن جوجه‌های گوشتی به وزن ایده‌آل توصیه شده در کاتالوگ‌های هریک از سویه‌های مورد آزمایش شد. در تطابق با یافته‌های این تحقیق، پژوهشگران گزارش نمودند که در جوجه‌های گوشتی از هفته چهارم دوره پرورش، با افزایش دما از ۱۸ به ۳۵ درجه سانتی‌گراد، سرعت رشد کاهش یافت و مقدار این کاهش هم‌زمان با افزایش دما، بیشتر شد (Yahav و همکاران، ۱۹۹۵). به نظر می‌رسد که این کاهش سرعت رشد ناشی از تأثیر تنش گرمایی بر کاهش اشتها و مصرف خوراک باشد (Niu و همکاران، ۲۰۰۹؛ Azad وهمکاران، ۲۰۱۰). تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ضریب تبدیل خوراک نیز معنی‌دار نبود ($P>0.05$) و کمترین ضریب تبدیل خوراک به ترتیب در سویه‌های راس، آربور ایکرز و کاب مشاهده شد. پژوهشگران کاهش سرعت رشد جوجه‌های گوشتی در دمای بالای محیط را نتیجه کاهش قابلیت استفاده از مواد مغذی، افزایش هدر رفت انرژی به صورت گرما در هنگام سوخت و ساز مواد مغذی، کاهش پروتئین سازی و افزایش چربی سازی می‌دانند (AinBaziz و همکاران، ۱۹۹۶؛ Geraert و همکاران، ۱۹۹۶).

جدول ۲- اثر سویه و افزودنی خوراکی ضد تنش* بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در کل دوره پرورش (سن ۱ تا ۴۲ روزگی)

فراسنجه / تیمار	وزن بدن در سن ۴۲ روزگی (گرم)	مصرف خوراک در دوره ۱ تا ۴۲ روزگی (گرم)	ضریب تبدیل خوراک در دوره ۱ تا ۴۲ روزگی (گرم/ گرم)
سویه راس ۳۰۸ با افزودنی	۱۹۷۲/۷	۳۲۹۶/۸	۱/۶۷
سویه راس ۳۰۸ بدون افزودنی	۱۹۹۱/۴	۳۳۹۱/۴	۱/۷۱
سویه آربور ایکرز با افزودنی	۱۹۲۸/۴	۳۳۹۸/۲	۱/۷۵
سویه آربور ایکرز بدون افزودنی	۱۷۳۲/۳	۳۰۰۱/۶	۱/۷۹
سویه کاب ۵۰۰ با افزودنی	۱۷۵۴/۵	۳۳۳۹/۲	۱/۹۰
سویه کاب ۵۰۰ بدون افزودنی	۱۸۹۱/۸	۳۲۹۹/۴	۱/۷۴
خطای معیار میانگین‌ها	۳۳/۴۲	۱۵۲/۷۶	۰/۰۳۷
سطح معنی‌داری			
اثر تیمار	۰/۰۹	۰/۴۱	۰/۵۸
اثر سویه	۰/۰۷	۰/۵۷	۰/۳۵
اثر افزودنی خوراکی	۰/۸۳	۰/۳۴	۰/۷۰
اثر متقابل سویه و افزودنی خوراکی	۰/۱۰	۰/۲۲	۰/۴۷

*افزودنی خوراکی ضد تنش مورد استفاده در این تحقیق به میزان دو کیلوگرم در هر تن خوراک استفاده شد و هر کیلوگرم آن حاوی ۵۰ گرم پروبیوتیک پروتکسین®، ۱۵۰ گرم ویتامین C، ۵۰۰ گرم بتائین و ۳۰۰ گرم سبوس گندم بود.

همان گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، پاسخ‌های ایمنی هومورال در سنین ۳۵ و ۴۲ روزگی تحت تأثیر هیچ یک از تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P>0.05$).

تیتر ثانویه آنتی‌بادی در پاسخ به تزریق SRBC کاهش یافت اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0.05$). نسبت هتروفیل به لنفوسیت یکی از شاخص‌های ارزیابی تنش در طیور، محسوب می‌شود. همان گونه که در جدول ۳ دیده می‌شود، نسبت هتروفیل به لنفوسیت جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی تحت تأثیر برهم‌کنش بین سویه و افزودنی حاوی پروبیوتیک، ویتامین C و بتائین قرار نگرفت ($P>0.05$). گزارش شده است که قرار گرفتن در شرایط تنش گرمایی موجب کاهش پاسخ ایمنی علیه SRBC می‌شود (Olfati و همکاران، ۲۰۱۸). پژوهشگران بر این باورند که تفاوت‌هایی از نظر میزان حساسیت سویه‌های ژنتیکی جوجه‌های گوشتی نسبت به تنش گرمایی وجود دارد (Attia و همکاران، ۲۰۱۸). در واقع این اختلافات ممکن است نتیجه تفاوت در برنامه‌های انتخابی به کار گرفته شده برای پاسخ ایمنی باشد. توجیه دیگر ممکن این است که کاهش مصرف خوراک به دنبال قرار گرفتن در شرایط تنش گرمایی موجب کاهش سطح دسترسی به مواد مغذی مورد نیاز برای ایجاد یک پاسخ ایمنی مؤثر می‌شود (Niu و همکاران، ۲۰۰۹).

جدول ۳- اثر سویه و افزودنی خوراکی ضد تنش* بر پاسخ‌های ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی در سنین ۳۵ و ۴۲ روزگی**

فراسنجه / تیمارهای آزمایشی	SRBC	IgG	IgM	SRBC	IgG	IgM	هتروفیل (٪)	لنفوسیت (٪)	H:L†
	۳۵ روزگی			۴۲ روزگی			۴۲ روزگی		
سویه راس ۳۰۸ با افزودنی	۴/۱۶	۲/۸۳	۱/۳۳	۴/۶۶	۲/۵	۲/۱۶	۶/۶۶	۹۳/۳۳	۰/۰۷۱
سویه راس ۳۰۸ بدون افزودنی	۴/۱۶	۲/۵۰	۱/۶۶	۳/۶۶	۲/۶۶	۱	۷/۱۶	۹۲/۸۳	۰/۰۷۷
سویه آربور ایکرز با افزودنی	۴	۲/۶۶	۱/۳۳	۴/۱۶	۳/۳۳	۰/۸۳	۷	۹۳	۰/۰۷۵
سویه آربور ایکرز بدون افزودنی	۴/۱۶	۳/۱۶	۱	۴/۵۰	۳	۱/۵۰	۷/۳۳	۹۲/۶۶	۰/۰۷۹
سویه کاب ۵۰۰ با افزودنی	۴	۳	۰/۸۳	۴/۶۶	۳	۱/۶۶	۶/۵۰	۹۳/۵۰	۰/۰۶۹
سویه کاب ۵۰۰ بدون افزودنی	۴/۱۶	۳/۵	۰/۶۶	۴	۳	۱	۸/۱۶	۹۱/۸۳	۰/۰۸۹
خطای معیار میانگین‌ها	۰/۱۱	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۱۷	۰/۱۵	۰/۲۰	۰/۱۹	۰/۰۰۲
سطح معنی‌داری									
اثر تیمار	۰/۹۹	۰/۱۷	۰/۴۱	۰/۳۳	۰/۳۰	۰/۱۷	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹
اثر سویه	۰/۹۵	۰/۰۵۴	۰/۱۴	۰/۸۷	۰/۰۸	۰/۵۷	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۶۷
اثر افزودنی خوراکی	۰/۶۶	۰/۵۰	۰/۹۴	۰/۱۴	۰/۷۹	۰/۲۴	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶
اثر متقابل سویه و افزودنی خوراکی	۰/۹۴	۰/۲۹	۰/۶۷	۰/۱۸	۰/۶۲	۰/۰۷	۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۳۱

* افزودنی خوراکی ضد تنش مورد استفاده در این تحقیق به میزان دو کیلوگرم در هر تن خوراک استفاده شد و هر کیلوگرم آن حاوی ۵۰ گرم پروبیوتیک پروتکسین®، ۱۵۰ گرم ویتامین C، ۵۰۰ گرم بتائین و ۳۰۰ گرم سبوس گندم بود.

** تیتر آنتی بادی (log_2) در پاسخ به تزریق سوسپانسیون گلبول قرمز خون گوسفند (SRBC) در روزهای ۲۸ و ۳۵ دوره پرورش.

† نسبت هتروفیل به لنفوسیت.

بنابراین به نظر می‌رسد که فراهم کردن یک جیره حاوی غلظت‌های بالای مواد مغذی ضروری برای جوجه‌های گوشتی موجب حفظ سطح مصرف مواد مغذی شده و بدین ترتیب می‌تواند سبب بهبود پاسخ‌های ایمنی در شرایط تنش گرمایی شود. نتایج مطالعه پژوهشگرانی که به مقایسه پاسخ‌های آنتی‌بادی سه سویه هوبارد، کاب ۵۰۰ و راس ۳۰۸ پرداختند، نشان داد که سویه کاب ۵۰۰، راس ۳۰۸ و هوبارد به‌ترتیب بیشترین پاسخ آنتی‌بادی را نشان دادند (Mayahi و همکاران، ۲۰۱۶). بنابراین نوع سویه به صورت بالقوه می‌تواند تأثیر به‌سزایی بر پاسخ ایمنی داشته باشد که در مطالعه حاضر چنین اثری مشاهده نشد که ممکن است به دلیل تفاوت در نوع چالش ایمنی ایجاد شده برای جوجه‌ها باشد.

همچنین نشان داده شده است که پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نقش مهمی در پیش‌گیری از عفونت با باکتری اشریشیا کولی در جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی دارد (Jaafar، ۲۰۱۳). مطالعات نشان داده‌اند که استعمال خوراکی پروبیوتیک، سطح سیتوکین‌ها را در سرم خون جوجه‌های گوشتی افزایش می‌دهد (Brisbin و همکاران، ۲۰۱۱). پژوهش‌ها همچنین نشان می‌دهند که در فصل تابستان، سنتز ویتامین C به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و این موضوع با کاهش سطح ایمنی، ارتباط مستقیم دارد (Munj، ۲۰۱۰). نشان داده شده است که بتائین می‌تواند سلول‌ها را از آسیب‌های حرارتی و اکسیداتیو حفظ نماید (Ganesan و همکاران، ۲۰۰۷؛ Craig، ۲۰۰۴). در مطالعه حاضر، تأثیرمصرف این مواد افزودنی دیده نشد که ممکن است به علت سطوح ناکافی مواد مؤثره به کار رفته در این افزودنی باشد.

اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر غلظت فراسنجه‌های سرم خون

جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، در بین فراسنجه‌های مورد ارزیابی، تنها غلظت LDL تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی و سویه گرفت ($P<0.05$). کمترین غلظت LDL سرم خون در سویه آربور ایکرز در هنگام مصرف افزودنی خوراکی ضد تنش و همچنین در شرایط عدم مصرف آن، دیده شد.

جدول ٤- اثر سویه و افزودنی خوراکی ضد تنش * بر فراسنجه‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش گرمایی در سن ٤٢ روزگی

فراسنجه / تیمارهای آزمایشی	پروتئین کل	تری‌گلیسرید	کلسترول	LDL	HDL
	(میلی‌گرم در دسی‌لیتر)				
سویه راس ۳۰۸ با افزودنی	۴/۴۳	۹۳/۵۳	۱۵۵/۰۱	۳۸/۵۳^{abc}	۱۱۱/۱۶
سویه راس ۳۰۸ بدون افزودنی	۴/۵۲	۹۵/۲۲	۱۵۹/۱۶	۴۰/۲۲^{a}	۱۱۱/۶۱
سویه آربور ایکرز با افزودنی	۴/۶۷	۹۳/۳۲	۱۵۹/۸۳	۳۶/۸۱^{bc}	۱۱۲/۸۱
سویه آربور ایکرز بدون افزودنی	۴/۵۶	۹۵/۰۱	۱۵۴/۹۶	۳۶/۱۳^{c}	۱۱۱/۱۶
سویه کاب ۵۰۰ با افزودنی	۴/۷۳	۹۲/۵۸	۱۵۹/۹۸	۳۷/۵۸^{abc}	۱۱۲/۴۷
سویه کاب ۵۰۰ بدون افزودنی	۴/۷۰	۹۳/۱۳	۱۵۶/۱۶	۳۹/۱۵^{ab}	۱۱۱/۳۶
خطای معیار میانگین‌ها	۰/۰۹	۰/۵۰	۱/۹۵	۰/۴۰	۰/۶۳
سطح معنی‌داری					
اثر تیمار	۰/۵۹	۰/۲۹	۰/۲۱	۰/۰۲	۰/۶۳
اثر سویه	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۳۵	۰/۰۰۷	۰/۳۸
اثر افزودنی خوراکی	۰/۸۹	۰/۰۹	۰/۲۰	۰/۲۳	۰/۴۱
اثر متقابل سویه و افزودنی خوراکی	۰/۷۷	۰/۷۸	۰/۱۶	۰/۳۱	۰/۶۸

$^{a-c}$ در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک از نظر آماری با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$).

*افزودنی خوراکی ضد تنش مورد استفاده در این تحقیق به میزان دو کیلوگرم در هر تن خوراک استفاده شد و هر کیلوگرم آن حاوی ۵۰ گرم پروبیوتیک پروتکسین®، ۱۵۰ گرم ویتامین C، ۵۰۰ گرم بتائین و ۳۰۰ گرم سبوس گندم بود.

متأسفانه نویسندگان به مطالعه دیگری که به مقایسه اثرات نوع سویه بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون پرداخته باشد، دست نیافتند. در هر حال، فراسنجه‌های خونی نقش مهمی در عملکرد پرندگان داشته و برای مصرف‌کنندگان گوشت طیور نیز اهمیت زیادی دارند. مقدار لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین، نشان دهنده میزان چربی در جوجه‌های گوشتی است و در پژوهشی نشان داده شد که بین سویه‌های مختلف از جمله سویه‌های مورد مطالعه در آزمایش حاضر، تفاوت چشمگیری به لحاظ چربی شکمی وجود نداشت (Rahimi و همکاران، ۲۰۰۶).

در شرایط تنش گرمایی، پراکسیداسیون لیپیدها افزایش یافته و این امر می‌تواند منجر به افزایش سطح رادیکال‌های آزاد شود و هدف از افزودن مواد آنتی‌اکسیدانی و دیگر افزودنی‌ها، کاهش سطح این ترکیبات است. ویتامین C (اسید آسکوربیک) از آنتی‌اکسیدان‌های مهم سیستم‌های بیولوژیکی است که منجر به شکستن زنجیره‌ای از واکنش‌های منتهی به پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (McDowell، ۲۰۰۰). برخی مطالعات نشان داده‌اند که ویتامین‌های C و E به دلیل عملکردشان می‌توانند اثرات همکوشی داشته باشند. نشان داده شده است که ویتامین C می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی ویتامین E را از طریق کاهش دادن رادیکال‌های توکوفروکسیل و یا محافظت از ساختار ویتامین E افزایش دهد

(Retsky و Frei، ۱۹۹۵؛ Jacob، ۱۹۹۵). پژوهشگران همچنین نشان داده‌اند که بتائین ممکن است از طریق فعالیت آنزیمی در چرخه کربس و پاک سازی رادیکال‌های آزاد تولید شده، از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری نماید (Ganesan و همکاران، ۲۰۰۷).

اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهیچه سینه جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی در جدول ۵ نشان داده شده است. همان گونه که ملاحظه می شود، اثر نوع سویه و افزودنی خوراکی بر فعالیت این آنزیم‌ها معنی‌دار نبود ($P>0.05$). تنش گرمایی نوعی تنش اکسیداتیو محسوب شده که تعادل بین تولید واسطه‌های اکسیژنی فعّال و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی را بر هم می‌زند. تنش اکسیداتیو نه تنها موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد شده، بلکه تغییر در ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی را نیز در پی دارد (Lin و همکاران، ۲۰۰۶). در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز وگلوتاتیون پراکسیداز برای ارزیابی پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدانی، مورد استفاده قرار گرفت و مطابق نتایج ارائه شده در جدول ۵، فعالیت این آنزیم‌ها تحت تأثیر برهم‌کنش بین سویه و افزودنی خوراکی نیز قرار نگرفت ($P>0.05$).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن را کاتالیز می‌کند. عملکرد این آنزیم در کنار کاتالاز یا گلوتاتیون پراکسیداز باعث تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن ملکولی می‌شود (Finkel و Holbrook، ۲۰۰۰). پژوهشگران گزارش کردند که جوجه‌ها با قرار گرفتن در شرایط تنش گرمایی، وارد مرحله ابتدایی تغییرات در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شوند. به این ترتیب، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سیتوزولی در پاسخ به افزایش تولید پراکسید هیدروژن، افزایش می‌یابد اما عدم افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، سلول را از پاک‌سازی کامل رادیکال‌های آزاد، باز می‌دارد (Azad و همکاران، ۲۰۱۰). در تأیید این اظهارات، پژوهشگران دیگر نیز گزارش کردند که قرار گرفتن جوجه‌ها در شرایط تنش گرمایی تنها موجب افزایش اندکی در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در کبد آنها شد و فعالیت این آنزیم در پلاسما و نیز فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در کبد و پلاسما تحت تأثیر تنش گرمایی قرار نگرفت (Lin و همکاران، ۲۰۰۶). پاسخ جوجه‌های دریافت کننده جیره پایه، هنگام قرار گرفتن در شرایط تنش گرمایی نشان دهنده ناکارآمدی سیستم دفاعی آنها برای مقابله با تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد در چنین شرایطی است. به هر حال در مطالعه حاضر اثر سویه معنی‌دار نبود و بر اساس جستجوی نویسندگان، ظاهراً در این زمینه مطالعه‌ای انجام نشده است. در رابطه با اثر افزودنی‌ها بر سیستم آنتی-اکسیدانی در بخش فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون بحث و به تأثیر آنها اشاره شد. اینکه چرا در مطالعه حاضر چنین اثری مشاهده نشد، نیاز به بررسی و پژوهش‌های بیشتری دارد.

جدول ۵- اثر سویه و افزودنی خوراکی ضد تنش* بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) در ماهیچه سینه جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش گرمایی در سن ۴۲ روزگی

فراسنجه / تیمارهای آزمایشی	گلوتاتیون پراکسیداز (نانومول/ دقیقه/ گرم ماهیچه)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد/ گرم ماهیچه)
سویه راس ۳۰۸ با افزودنی	۱۷۹/۸۹	۱۵۷/۲۶
سویه راس ۳۰۸ بدون افزودنی	۱۸۲/۸۸	۱۴۸/۹۰
سویه آربور ایکرز با افزودنی	۱۷۵/۷۲	۱۵۳/۱۳
سویه آربور ایکرز بدون افزودنی	۱۸۲/۹۳	۱۴۴/۵۷
سویه کاب ۵۰۰ با افزودنی	۱۸۴/۵۳	۱۴۹/۴۲
سویه کاب ۵۰۰ بدون افزودنی	۱۷۶/۴۳	۱۴۵/۹۴
خطای معیار میانگین‌ها	۳/۱۲	۵/۲۴
سطح معنی‌داری		
اثر تیمار	۰/۶۹	۰/۱۲
اثر سویه	۰/۹۰	۰/۲۶
اثر افزودنی خوراکی	۰/۸۵	۰/۲۰
اثر متقابل سویه و افزودنی خوراکی	۰/۲۵	۰/۷۰

* افزودنی خوراکی ضد تنش مورد استفاده در این تحقیق به میزان دو کیلوگرم در هر تن خوراک استفاده شد و هر کیلوگرم آن حاوی ۵۰ گرم پروبیوتیک پروتکسین®، ۱۵۰ گرم ویتامین C، ۵۰۰ گرم بتائین و ۳۰۰ گرم سبوس گندم بود.

نتیجه‌گیری

استفاده از افزودنی خوراکی (ترکیب ویتامین C، بتائین و پروبیوتیک) در غلظت‌های به کار رفته در این آزمایش، بر ایمنی سلولی و هومورال جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش گرمایی تأثیر معنی‌داری نداشت. غلظت پروتئین کل، تری‌گلیسرید، HDL و کلسترول سرم خون جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی به وسیله سویه، تحت تأثیر قرار نگرفت ولی غلظت LDL سرم خون تحت تأثیر سویه قرار گرفت و افزایش غلظت آن در سویه راس و کاهش غلظت آن در سویه آربور ایکرز مشاهده شد. همچنین سویه یا افزودنی خوراکی مورد استفاده، تأثیری بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز ماهیچه سینه جوجه‌های گوشتی تحت شرایط تنش گرمایی، نداشتند.

منابع

Azad, M., Kikusato, A.K.M., Maekawa, T., Shirakawa, H. and Toyomizu, M. (2010). Metabolic characteristics and oxidative damage to skeletal muscle in broiler chickens exposed to chronic heatstress. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A.* 155: 401-406.

Brisbin, J.T., Gong, J., Orouji, S., Esufali, J., Mallick, A.I., Parvizi, P., Shewen, P.E. and Sharif, S. (2011). Oral treatment of chickens with Lactobacilli influences

AinBaziz, H., Geraert, P.A. and Guillaumin, S. (1996). Chronic heat exposure enhances fat deposition and modifies muscle and fat partition in broiler carcasses. *Poultry Science.* 75: 505-513.

Attia, Y.A., Al-Harthi, M.A. and Elnaggar, A.S. (2018). Productive, physiological and immunological responses of two broiler strains fed different dietary regimens and exposed to heat stress. *Italian Poultry Science*. 17: 686-697.

elicitation of immune responses. *Clinical and Vaccine Immunology*. 18: 1447-1455.

Craig, S. (2004). Betain in human nutrition. *American Clinical Journal of Nutrition.* 80: 539-549.

Etches, R., John, J.M. and Gibbins, A.M.V. (2008). Behavioural, physiological, neuroendocrine and molecular responses to heat stress. In: Daghir, N.J. (ed.) *Poultry Production in Hot Climates.* 2nd edition. CAB International, Wallingford, UK, pp. 48-79.

Finkel, T. and Holbrook, N.J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 408: 239-247.

Ganesan, B., Rajesh, R., Anandan, R. and Dhandapani, N. (2007). Biochemical studies on the protective effects of betaine on mitochondrial function. *Journal of Health Science.* 53: 673-681.

Geraert, P.A., Padilha, J.C.F. and Guillaumin, S. (1996). Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. *British Journal of Nutrition.* 75: 195-204.

Hay, F.C. and Westwood, O.M.R. (2002). *Practical Immunology.* 4th edition. Wiley-Blackwell Publication, London, UK, pp. 101-125.

Jaafar, N.S. (2013). Histopathological changes of lymphoid system in broiler chicks after treatment with *Lactobacillus acidophilus* under heat stress. *Al-Anbar Journal of Veterinary Science.* 6: 163-171.

Jacob, R.A. (1995). The integrated antioxidant system. *Nutrition Research.* 15: 755-766.

Lin, H., Decuypere, E. and Buyse, J. (2006). Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A.* 144: 11-17.

Mayahi, M., Talazadeh, F. and Abdolshah, M. (2016). Effect of genetic strains (Ross 308, Cobb 500 and Hubbard F15) on immune response against Newcastle disease vaccine in broiler chickens. *International Journal of Enteric Pathogens.* 4: e37108.

McDowell, L.R. (2000). *Vitamins in Animal and Human Nutrition.* 2nd edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 100-105.

Munj, C.P. (2010). Synergistic effects of feed additives on performance of broilers. *Indian Journal of Poultry Science.* 45: 292-296.

National Research Council. (1994). *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th Revised edition. National Academy Press, Washington, DC. pp. 61-77.

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

Olfati, A., Mojtahedin, M., Sadeghi, T., Akbari, M. and Pastor, F.M. (2018). Comparison of growth performance and immune responses of broiler chicks reared under heat stress, cold stress and thermoneutral conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research.* 16: e0505.

Rahimi, S., Esmaeilzadeh, L. and Karimi-Torshizi, M.A. (2006).Comparison of growth performance of six commercial broiler hybrids in Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research.* 7: 38-44.

Retsky, K.L. and Frei, B. (1995). Vitamin C prevents metal ion-dependent initiation and propagation of lipid peroxidation in human low-density lipoprotein. *Biochemistry Biophysics Acta.* 1257: 279-287.

SAS. (2004). SAS User's guide: Statistics. Version 9.1. Vol. 2, SAS Institute Inc., Cary, NC.

Yahav, S., Goldfeld, S., Plavnik, I. and Hurwitz, S. (1995). Physiological responses of chickens and turkeys to relative humidity during exposure to high ambient temperature. *Journal of Thermal Biology.* 20: 245-253.