نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۴۲، بهـــار ۱۴۰۳
ص‌ص: ۱۹~۳۲

اثر آنتی اکسیدانی عصاره آبی و الکلی برگ زیتون بر عملکرد، خصوصیات کیفی تخم‌مرغ، بیوشیمیایی سرم خون و پاسخ ایمنی مرغان تخم‌گذار

• هادی میرزاسروری[۱]، نظر افضلی[۲*]، سیّد همایون فرهنگ فر[۲]، احمدرضا راجی[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند
۲- استاد بخش علوم دام، دانشگاه بیرجند
۳- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت : آبان ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش : خرداد ۱۴۰۲

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۱۶۱۲۱۵۷
Email: nafzali@birjand.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ ASJ.2023.360333.2263

چکیده

عصاره برگ زیتون به دلیل دارا بودن ترکیبات پلی‌فنلی به عنوان منبع غنی آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. هدف از تحقیق حاضر، اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی و اثر عصاره‌های آبی و الکلی برگ زیتون بر عملکرد، خصوصیات کیفی تخم، بیوشیمیایی سرم خون، خون‌شناسی و پاسخ ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار بود. این آزمایش با ٤٤٠ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه های-لاین (۲۵ هفتگی) در قالب ۱۱ تیمار آزمایشی، با ۵ تکرار و هر تکرار شامل ۸ قطعه مرغ به مدت سه دوره ۲۸ روزه در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج سطح عصاره آبی (۲۰۰، ٤۰۰، ٦۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و پنج سطح عصاره الکلی (۲۰۰، ٤۰۰، ٦۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) انجام شد. برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره از روش DPPH استفاده شد. صفات عملکردی به صورت دوره‌ای اندازه‌گیری شد. در پایان طرح، خونگیری از ورید بال برای بررسی بیوشیمیایی سرم و خون شناسی انجام شد. تزریق واکسن نیوکاسل در روز ٤۰ آزمایش و سپس خون‌گیری از ورید بال در هفت روز بعد برای سنجش عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل انجام شد. نتایج نشان داد که بالاترین درصد تولید در مقایسه با تیمار شاهد را پرندگان دریافت کننده سطح ۱۰۰۰ عصاره‌های آبی و الکلی داشتند. بالاترین شمار گلبول‌های سفید و هتروفیل‌ها و عیار پادتن بر علیه ویروس نیوکاسل در پرندگان مربوط به تیمار حاوی سطح ۱۰۰۰ عصاره الکلی مشاهده شد. به طور کلی استفاده از سطح ۱۰۰۰میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آبی و الکلی برگ زیتون موجب بهبود عملکرد و کیفیت تخم مرغ‌های تخمگذار می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌بادی، زیتون، نیوکاسل، واحد هاو.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 142 pp: 19-32

Antioxidant effect of aqueous and alcoholic extracts of olive leaves on performance, quality characteristics of eggs, biochemical blood, and immune response of laying hens.

By: Mirzasarvari, Hadi [1], Afzali, Nazar *[1], Farhangfar, Seyyed Homayoun[1], Raji, Ahmad Reza[2]
1: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand
2: Associate Professor, Department of Basical Sciences Faculty of Veterinary medicine, Ferdowsi University of Mashhad

Received: November 2022 **Accepted: June 2023**

Olive leaf extract (OLE) can be used as a rich source of antioxidants due to its polyphenol compounds. The purpose of this research was to measure the antioxidant activity and the effect of aqueous (AOLE) and alcoholic (HOLE) extracts of olive leaves on performance, quality characteristics of eggs, biochemical blood serum, hematology, and immune response of laying hens. This experiment was conducted with 440 high-line laying hens (25 weeks old) in the form of 11 experimental treatments, with 5 replications and each replication including 8 hens for three periods of 28 days in a completely randomized design with five levels of AOLE (200, 400, 600, 800 and 1000 mg/kg) and five levels of HOLE (200, 400, 600, 800 and 1000 mg/kg). The DPPH method was used to measure the antioxidant activity of the extract. Functional traits were measured periodically. Blood was taken from the wing vein for serum biochemical and hematological analysis. Injection of the Newcastle vaccine was performed on the 40th day of the experiment, and blood was taken from the wing vein seven days later. The results showed that birds receiving 1000 levels of AOLE and HOLE had the highest percentage of production compared to the control treatment. The highest number of white blood cells and heterophils and antibody titers against Newcastle virus were observed in birds treated with 1000 HOLE levels. In general, the use of 1000 mg/kg of aqueous and alcoholic extract of olive leaves improves the performance and quality of laying eggs.

Key words: Antibody, Haugh unit, Olive, Newcastle

مقدمه

با توجه به رشد جمعیت و محدودیت منابع غذایی مورد استفاده، یافتن منابع جدید و افزایش راندمان کمی و کیفی تولیدات طیور اهمیت زیادی دارد (آموزمهر و همکاران، ۱۳۹۰). استفاده از گیاهان و ادویه‌جات در تغذیه انسان و حیوانات از سالیان متمادی مرسوم بوده است. گرچه نحوه عمل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به‌طور کامل روشن نیست، اما فرضیه‌های مختلفی در این مورد پیشنهاد شده است. فرضیه اصلی آزمایش شده اثر ضد میکروبی است، با این حال تغییرات بافت‌شناسی در حفره گوارشی، تنظیم پاسخ‌های ایمنی، تحریک فعالیت آنزیم‌های گوارشی و یا اثرات آنتی‌اکسیدانی نیز می‌تواند به عنوان سایر مکانیزم‌های اثرگذار مطرح شوند (Agostini و همکاران، ۲۰۱۲).

برگ‌های زیتون محصول جانبی درخت زیتون بوده و در کارخانه‌های روغن زیتون به وفور یافت می‌شود. در گذشته برگ‌های زیتون معمولا برای تغذیه دام مورد استفاده قرار می‌گرفت، اما امروزه برای کاربردهای دیگری مانند صنایع دارویی و غذایی نیز استفاده می‌شود. برگ زیتون می‌تواند به عنوان یک منبع طبیعی ترکیبات پلی فنلی باشد. طبق نتایج به دست آمده از مطالعات پیشین مشخص شده است که استفاده از عصاره برگ زیتون به عنوان منبع غنی از پلی‌فنل-ها، سبب افزایش پایداری روغن‌های گیاهی می‌شود و غنی-سازی روغن‌های سرخ کردنی با این ترکیبات توصیه می-شود (Bouaziz و همکاران، ۲۰۰۵). ترکیبات عمده برگ

زیتون شامل: اولئوروپسیدها (اولئوروپین و ورباسکوسید)،فلاونها(لوتئولین-۷-گلوکوسید، آپیجنین-۷-گلوکوسید، دیوسمتین- ۷-گلوکوسید، لوتئولین و دیوسمتین)، فلاونول‌ها (روتین)، فلاوان-۳-اول‌ها (کتکین)، فنلها (تیروزول، هیدروکسی تیروزول، وانیلین، وانیلیک اسید و کافئیک اسید) و توکوفرول است. اولئوروپین به‌عنوان فراوان‌ترین ترکیب عصاره برگ زیتون (۶۰ تا ۹۰ میلی‌گرم در هرگرم برگ خشک زیتون)شناخته می‌شود. پس از آن هیدروکسی تیروزول با ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن تا ۱۰ برابر چای سبز و با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی قوی قرار دارد (Benavente و همکاران، ۲۰۰۰). مطالعه‌ای با هدف بررسی اثرات هم‌کوشی افزودن عصاره‌ی برگ زیتون و روغن کنجد به عنوان منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی در جیره بر ریخت‌شناسی ژژونوم و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی از سن ۷ تا ۲۸ روزگی انجام و مشاهده شد استفاده‌ی توأم عصاره‌ی برگ زیتون (۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک) و روغن کنجد در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی در سن ۷ تا ۲۸ روزگی دوره‌ی پرورش، می‌تواند به دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی اثرات مثبتی بر فراسنجه‌های خونی و سلامت دستگاه گوارش داشته باشد (آگاه و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین درمطالعه‌ای دیگر به منظور بررسی اثرات افزودن عصاره برگ و روغن زیتون بر عملکرد ،رشد خصوصیات لاشه ریخت شناسی ایلئوم و گوارش پذیری مواد در مغذی بلدرچین ژاپنی، مشاهده شد گنجاندن روغن زیتون تا سطح ه درصد به جیره بلدرچین و عصاره برگ زیتون تا سطح ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره اثرات مفیدی بر عملکرد، ریخت شناسی ایلئوم و گوارش پذیری مواد مغذی پرنده دارد(سروش و همکاران، ۱۳۹۹). پژوهشی با هدف بررسی اثرات پودر برگ زیتون و پودر گیاه پونه بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و جمعیت میکروبی ایلئوم در جوجه‌های گوشتی انجام و مشخص شد افزودن ۰/۵درصد پودر برگ زیتون، مخلوط پونه و زیتون و همچنین آنتی بیوتیک، ضریب تبدیل غذایی را در دوره هشت تا ۲۱ روزگی در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری بهبود داد اما پارامترهای عملکردی (مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی) جوجه ها در دوره هشت تا ۴۲ روزگی تحت تاثیر معنی دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جلال‌فرد و همکاران، ۱۳۹۹). هدف از این تحقیق بررسی اثر عصاره‌های الکلی و آبی برگ زیتون بر فراسنجه‌های عملکردی، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، صفات کیفی تخم‌مرغ، خون‌شناسی و پاسخ ایمنی بر علیه ویروس نیوکاسل مرغ‌های تخم‌گذار در اوج تولید بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۴۴۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه های-لاین در سن ۲۵ هفتگی در قالب ۱۱ تیمار آزمایشی، هر تیمار دارای ۵ تکرار و هر تکرار شامل ۸ قطعه مرغ به مدت سه دوره ۲۸ روزه استفاده شد. با مراجعه به تحقیقات انجام شده در زمینه سایر حیوانات (رت و بلدرچین) و تبدیل دز موثر از میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن زنده به میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک مصرفی، سطوح مورد استفاده در این آزمایش پیشنهاد گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و تیمارهای آزمایشی عبارتند از: ۱) جیره شاهد (حاوی مقدار صفر از عصاره)، ۲) جیره شاهد + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آبی برگ زیتون، ۳) جیره شاهد + ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آبی برگ زیتون، ۴) جیره شاهد + ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آبی برگ زیتون، ۵) جیره شاهد + ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آبی برگ زیتون، ۶) جیره شاهد + ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آبی برگ زیتون، ۷) جیره شاهد + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره الکلی برگ زیتون، ۸) جیره شاهد + ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره الکلی برگ زیتون، ۹) جیره شاهد + ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره الکلی برگ زیتون، ۱۰) جیره شاهد + ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره الکلی برگ زیتون، ۱۱) جیره شاهد + ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره الکلی برگ زیتون. قبل از شروع

آزمایش اصلی، پرندگان مورد آزمایش دو هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند تا مرغانی با وزن بدنی نزدیک‌تر، مصرف خوراک مشابه‌تر و درصد تولید یکنواخت‌تر در آزمایش اصلی استفاده شدند. جیره آزمایشی بر اساس احتیاجات توصیه شده سویه های-لاین تنظیم شد (جدول ۱).

جدول ۱. ترکیب جیره آزمایشی در مرغ‌های تخم‌گذار

ترکیبات جیره	مقدار
ذرت (درصد)	۵۵/۵
سویا (درصد)	۲۵
جو (درصد)	۸
پودر صدف (درصد)	۹/۳۳
دی کلسیم فسفات (درصد)	۱/۸
نمک (درصد)	۰/۳
رنگدانه (درصد)	۱/۵
متیونین (درصد)	۰/۱۱۷
لیزین (درصد)	۰/۰۸۳
روغن (درصد)	۱/۵۳۳
کولین (درصد)	۰/۱۱۷
سبزینه (درصد)	۲
مکمل ویتامینه و مینراله (درصد)	۶
انرژی قابل متابولسم (مگاکالری‌برکیلوگرم)	۲۸۰۰
پروتئین خام(درصد)	۱۵
کلسیم(درصد)	۴/۵
فسفر(درصد)	۰/۵۶
سدیم(درصد)	۰/۱۸
کلر(درصد)	۰/۱۸
متیونین+ سیستین(درصد)	۰/۳۳۴
لیزین(درصد)	۰/۷۶۱
تریپتوفان(درصد)	۰/۱۷۴
ترئونین(درصد)	۰/۵۷۲
اسید لینولئیک(درصد)	۰/۱

هر کیلوگرم ازجیره تامین کننده: ۱۱۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D_3، ۱۵۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۳ میلی‌گرم ویتامین K (بشکل منادیون)، ۰/۲۰ میلی‌گرم سیانوکوبالامین، ۶/۵ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۴ میلی‌گرم اسید فولیک، ۱۰میلی‌گرم پنتوتنات کلسیم، ۴۰/۱ میلی‌گرم نیاسین، ۰/۲ میلی‌گرم بیوتین، ۲/۲ میلی گرم تیامین، ۴/۵ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۱۰۰۰ میلی‌گرم کولین، ۱۲۵ میلی‌گرم اتوکسی کویین (آنتی اکسیدان)، ۶۶ میلی‌گرم منیزیم (بشکل دی اکسیدمنیزیم)، ۸۰ میلی‌گرم آهن بشکل سولفات فرو، ۱۰ میلی‌گرم مس (بشکل سولفات مس)، ۰/۴میلی‌گرم ید (بشکل یدات کلسیم)، ۰/۷میلی گرم نمک یددار.

تهیه عصاره‌ها

آماده‌سازی و تهیه عصاره از برگ زیتون به‌منظور دستیابی به بیشترین مقدار ترکیبات فنلی از جمله اولئوروپین مطابق روش (Amaral و همکاران، ۲۰۰۴) انجام گردید. به این صورت که ۲۰ گرم پودر برگ خشک زیتون در یک ارلن مایر ریخته و بر روی آن ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال اضافه و به مدت ۲۴ ساعت تحت شرایط تاریکی و تلاطم قرار گرفت. سپس عصاره حاصل با کاغذ صافی فیلتر و در نهایت مواد فیلتر شده در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. عصاره خشک حاصل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی برای انجام آزمایشات برون‌تنی و درون‌تنی (در جیره غذایی جوجه‌ها) نگهداری شدند.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون

تعیین ناپدید شدن رادیکال‌های آزاد یک روش ثابت شده و سریع به‌منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی است. بنابراین برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون ابتدا محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد در متانول تهیه، سپس به لوله‌های آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر از این محلول متانولی، یک میلی‌لیتر نمونه عصاره هیدروالکلی برگ زیتون و بوتیلات هیدروکسی تولوئن[1] با غلظت‌های مختلف اضافه گردید. لوله‌های آزمایش بعد از ورتکس شدن به مدت یک ساعت در جای تاریک نگهداری شده و سپس جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۲ نانومتر در برابر شاهد خوانده شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان نرخ ممانعت از رادیکال آزاد و بر حسب درصد از معادله زیر محاسبه گردید (Banerjee و همکاران، ۲۰۰۵).

$$I\% = (AC-AS)/AC\times100$$

در این فرمول I: درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد، AC و AS به‌ترتیب جذب شاهد و نمونه است.

پس از ترسیم نمودار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در برابر

[1]Butylated hydroxytoluene

غلظت ترکیب آنتی‌اکسیدانی، منحنی مناسب روی داده‌ها برازش داده شده و غلظتی را که ترکیب آنتی‌اکسیدانی قادر به مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد می‌شود، محاسبه گردید.

تعیین میزان فنل کل عصاره‌ها

محتوی فنل کل با استفاده از روش گالیک‌اسید و معرف فولین-سیکالتو محاسبه شد. برای این منظور ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه گیاهی به لوله آزمایش منتقل شده و بعد از ۵ دقیقه ۰/۵ میلی‌لیتر فولین-سیکالتو به آن اضافه، سپس ۲ میلی‌لیتر بیکربنات‌سدیم (۲۰۰ گرم در لیتر) به آن اضافه و مخلوط و محلول به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق گذاشته شده و ۱۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه به آن اضافه گردید، سپس به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ با ۴۰۰۰ دور قرار داده شده و در طول موج ۷۲۵ نانومتر میزان جذب نمونه با دستگاه طیف‌سنج قرائت و نتایج در نهایت برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک محاسبه شد (Chuah و همکاران، ۲۰۰۸).

فراسنجه‌های عملکردی

در این آزمایش، تخم مرغ‌های تولیدی هر تکرار به طور روزانه جمع‌آوری و تعداد آنها در طی ۱۲ هفته ثبت شد. سپس، درصد تخم‌گذاری در هر هفته و در کل دوره محاسبه گردید. میانگین خوراک مصرفی روزانه از طریق محاسبه اختلاف وزن خوراک باقیمانده در پایان هر هفته از وزن خوراک داده شده در طی یک هفته و تقسیم آن بر تعداد پرنده در یک هفته محاسبه شد. با گرفتن میانگین از نتایج حاصله در طول ۱۲ هفته میانگین خوراک مصرفی روزانه در هر تکرار برای کل دوره آزمایشی محاسبه شد. در این آزمایش گرم تخم مرغ تولیدی روزانه هر مرغ از تقسیم وزن کل تخم مرغ‌های تولیدی یک تکرار در هفته بر تعداد مرغ روز همان تکرار در هفته مورد نظر محاسبه شد. برای محاسبه ضریب تبدیل خوراک هفتگی، خوراک مصرفی هفتگی یک واحد آزمایشی به میانگین گرم تخم مرغ تولیدی آن واحد در همان هفته محاسبه گردید.

صفات کیفی تخم‌مرغ

شاخص وزن مخصوص تخم مرغ در پایان هر دوره ۲۸ روزه تعیین می شود. برای اندازه گیری کیفیت سفیده تخم مرغ از واحد "هاو" استفاده می‌شود تخم مرغ را روی یک سطح صاف مثلاً یک بشقاب شکسته و ارتفاع سفیده را اندازه گیری و در فرمول آن قرار داده شد (فرخوی و همکاران، ۱۳۷۳):

واحد هاو =100 log (ارتفاع سفیده + ۷/۵۷ - ۱/۷ * وزن تخم مرغ$^{0.37}$)

از تقسیم ارتفاع زرده در نقطه مرکزی و تقسیم بر قطر زرده به دست آمد. با گرفتن میانگین از اعداد سه دوره ۲۸ روزه، میانگین شاخص ارتفاع زرده به دست آمد. پس از اندازه‌گیری سایر فراسنجه های کیفی تخم مرغ، غشای داخلی پوسته جدا و با دستگاه ضخامت سنج ضخامت پوسته تخم مرغ تعیین در پایان هر دوره ۲۸ روزه تعیین شد (پوررضا، ۱۳۸۹). در پایان هر دوره ۲۸ روزه تعدادی تخم مرغ از هر تیمار جدا و زرده از سفیده جدا و به طور جداگانه وزن و بر وزن تخم‌مرغ مربوطه تقسیم و به صورت درصد بیان گردید.

فراسنجه‌های بیوشیمیائی خون

به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیائی خونی (کلسترول کل، تری گلیسرید، HDL)، در انتهای دوره آزمایشی، خون‌گیری از ورید بال ۶ مرغ از هر تیمار انجام و سرم آن جدا و توسط کیت‌های شرکت پارس آزمون، بر پایه‌ی روشهای استاندارد آزمایشگاهی و توسط دستگاه اوتوآناالیزر (Italy, 200 Gesan Chem) تعیین شد.

شاخص‌های سامانه آنتی اکسیدانی

ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی با استفاده از کیتهای رندوکس(Randox UK, Antrism Country, Crumlin, kit) اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه در این روش ۲-۲ آزینو بیس (۳ - +اتیل بنزوتیازولین ۶-سولفات یاABTS) با H2O2 و پراکسیداز انکوباسیون شده و تولید رادیکال ABTS می‌نماید، این ماده‌ی تولید شده دارای رنگ آبی مایل به سبز بوده و در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه‌های پلاسما سبب جلوگیری از تولید رنگ شده و درجه‌ی این ممانعت متناسب با غلظت آنها در پلاسما است. برای اندازه‌گیری مالون دی آلدئید روش پالسر و همکاران (۱۹۶۶) بکار برده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر پالسما با ۲/۵ میلی لیتر تریکلرو استیک اسید

(۲۰ درصد) و ۱ میلی لیتر تیوباربیتوریک اسید (۰/۶۷ درصد) مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از سرد شدن، ۴ میلی لیتر بوتانول به محلول اضافه شده و در دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گشت. بعد از جداسازی لایه فوقانی، بوسیله اسپکتوفوتومتر جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد (Draper و همکاران، ۱۹۹۰). غلظت مالون‌دی‌آلدئید سرم براساس واکنش مواد با تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد مالون‌دی‌آلدئید در شرائط اسیدی و دمای بالا با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و مجموعه‌ای به رنگ ارغوانی تولید می‌نماید که شدت رنگ را در طول موج ۲۱۴ نانومتر می‌توان اندازه‌گیری نمود (Draper و همکاران، ۱۹۹۰).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلاسما:

از نمونه‌های خونی حاوی ماده ضد انعقاد با سانتریفیوز پلاسما را خارج شد. حال به منظور خالص‌سازی گلبول‌های قرمز ۱ تا ۴ بار با سرم فیزیولوژی شسته می‌شود. به این ترتیب که مقدار ۵ سی‌سی سرم فیزیولوژی را به هر لوله آزمایشی اضافه کرده و به آرامی چندبار به هم زده تا گلبول‌های قرمز ته لوله با سرم فیزیولوژی اضافه شده مخلوط می‌شود. دوباره لوله‌ها داخل دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور بر دقیقه قرار داده شده و به کمک پیپت لایه رویی جدا می‌شود. در نهایت از ته هر لوله آزمایش به آرامی ۰/۵ سی‌سی گلبول قرمز را برداشته و به داخل یک لوله آزمایش دیگر ریخته و به آن ۲ سی‌سی آب مقطر خنک اضافه می‌کنیم. در این مرحله گلبول‌های قرمز به‌دلیل اختلاف فشار اسمزی ایجاد شده در دو طرف غشای خود ترکیده و محتویات داخل سلول از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را آزاد می‌کنند. به این محلول همولیزات گفته می‌شود. حال از این محلول ۳ نمونه ۰/۵ سی‌سی داخل اپندورف ریخته و تا زمان آزمایشات تعیین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در فریزر ۷۰- قرار داده شد (Draper و همکاران، ۱۹۹۰).

سامانه ایمنی

در ابتدای هفته نهم، کلیه مرغ‌ها علیه ویروس نیوکاسل سویه لاسوتا به روش اسپری واکسینه و ۴ هفته بعد از واکسیناسیون، نمونه‌گیری از ورید بال انجام و عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل انجام و مقایسه عملکرد سیستم ایمنی بین تیمارها انجام شد (Jin، ۲۰۰۰).

طرح آماری و نحوه تجزیه و تحلیل داده‌ها

مدل آماری طرح برای صفات تکرار دار در واحد زمان بدین صورت است:

$$Yij= \mu+Ti +eij$$

Yij: نشان دهنده صفت مورد مطالعه، μ: میانگین کل صفت، Ti اثر تیمار و eij: اثر خطای آزمایشی

داده‌های آزمایشی پس از ورود به به برنامه اکسل، به وسیله نرم افزار SAS 9.4 (SAS Institute، ۲۰۰۷) و رویه خطی[2] مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح خطای ۵ درصد انجام شد.

نتایج

بررسی فعالیّت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی برگ زیتون (که به صورت ۳ بار تکرار انجام شد) نشان داد که این عصاره‌ها فعالیّت فوق العاده‌ای در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد از خود بروز می‌دهند. غلظت IC_{50} عصاره‌های آبی و الکلی بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب برابر با ۰/۰۰۲۱ و ۰/۰۰۴۵ بود. مقدار فنل کل عصاره الکلی و آبی برگ زیتون به ترتیب برابر ۱۱۵ و ۱۳۳ ppm و میزان فلاونوئید کل در عصاره‌های آبی و الکلی برگ زیتون به ترتیب برابر ۶۸۹ و ۹۵۰ میکروگرم در کیلوگرم بود.

صفات عملکردی

نتایج تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی بر درصد تولید کل، میانگین وزن تخم‌مرغ، ضریب تبدیل خوراک، گرم تخم‌مرغ تولیدی و خراک مصرفی رزوانه مرغ‌های تخم‌گذار در کل دوره در جدول ۲ ارایه شده است. بررسی آنالیز آماری نشان داد که درصد تولید کل در تیمار شاهد کمترین و در تیمارهای حاوی سطح ۱۰۰۰ عصاره آبی و الکلی بیشترین مقدار بود ($P<0/05$). میانگین وزن تخم‌مرغ در مرغ‌های تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره‌های آبی و الکلی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت

[2]. General Linear Model

(P>۰/۰۵)، اما به لحاظ عددی بالاترین میانگین وزن در مرغ‌های تغذیه شده با سطح ۱۰۰۰ عصاره آبی مشاهده شد (P>۰/۰۵). ضریب تبدیل خوراک در مرغ‌های تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره‌های آبی و الکلی اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در مرغ‌های تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره‌ها در توده تخم‌مرغ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). مصرف خوراک مرغ‌های تخمگذار در نتیجه استفاده از عصاره‌ها، تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۲. اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر صفات عملکردی مرغهای تخم‌گذار در کل دوره آزمایش

تیمارها	درصد تولید کل	میانگین وزن تخم‌مرغ (گرم)	ضریب تبدیل خوراک	گرم تخم‌مرغ تولیدی	مصرف خوراک (گرم)
شاهد	۹۳/۰۵^{b}	۶۵/۶۴	۱/۹۳	۵۱/۲۵	۱۱۱/۴۵
۲۰۰ آبی	۹۳/۸۲^{ab}	۶۶/۷۵	۲/۱۳	۴۸/۲۵	۱۰۲/۲۵
۴۰۰ آبی	۹۴/۱۲^{ab}	۶۳/۳۵	۲/۱۴	۴۹/۲۵	۱۱۲/۳۴
۶۰۰ آبی	۹۳/۵۵^{ab}	۶۰/۲۱	۲/۱۲	۵۲/۲۵	۱۱۹/۱۱
۸۰۰ آبی	۹۵/۵۳^{ab}	۶۴/۷۹	۱/۸۹	۴۷/۰۰	۱۲۴/۳۹
۱۰۰۰ آبی	۹۶/۶۲^{a}	۶۷/۹۵	۱/۹۵	۵۲/۷۵	۱۱۸/۳۶
۲۰۰ الکلی	۹۴/۵۵^{ab}	۵۷/۲۱	۱/۸۹	۴۸/۲۵	۱۱۵/۲۸
۴۰۰ الکلی	۹۴/۵۵^{ab}	۵۹/۲۱	۱/۹۳	۵۲/۲۵	۱۰۸/۲۹
۶۰۰ الکلی	۹۵/۵۳^{ab}	۶۳/۷۹	۱/۷۸	۵۳/۰۰	۱۱۲/۲۷
۸۰۰ الکلی	۹۵/۸۷^{ab}	۵۶/۸۸	۲/۰۱	۵۴/۷۵	۱۱۵/۱۸
۱۰۰۰ الکلی	۹۶/۹۶^{a}	۶۰/۴۳	۱/۹۱	۵۴/۸۵	۱۲۳/۲۶
خطای آزمایشی	۱/۷۳	۲/۱۲	۱/۶۷	۴/۴۳	۸/۶۲
سطح معنی‌داری	۰/۰۰۰۱	۰/۰۶۲۸	۰/۱۱۲۵	۰/۱۲۵۶	۰/۶۳۲۵

a, b, c, d: میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای تفاوت معنی‌دار آماری هستند (P<۰/۰۵).

خصوصیات کیفی تخم مرغ

نتایج آنالیز آماری صفات کیفی تخم‌مرغ در کل دوره و پارامترهای آنتی اکسیدانی تخم‌مرغ در جدول ۳ ارایه شده است. تیمارهای مختلف آزمایشی در درصد زرده اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). پرندگان تغذیه شده با تیمار حاوی سطح ۱۰۰۰ عصاره آبی، بالاترین درصد سفیده را داشت ولی اختلاف معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد نداشت (P>۰/۰۵). درصد پوسته در بین تیمارهای مختلف آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت اما به لحاظ عددی پرندگان دریافت کننده سطح ۱۰۰۰ عصاره‌های آبی و الکلی، درصد پوسته بالاتری داشتند. افزودن سطوح مختلف عصاره‌های آبی و الکلی موجب افزایش میزان واحد هاو شد که در این بین، پرندگان تغذیه شده با سطوح ۱۰۰۰ عصاره آبی و ۸۰۰ عصاره الکلی، بیشترین میزان واحد هاو تخم‌مرغ را در مقایسه با تیمار شاهد داشتند (P<۰/۰۵). تیمارهای حاوی سطوح مختلف عصاره آبی و الکلی موجب افزایش ضخامت پوسته شدند که در این بین پرندگان دریافت کننده سطوح مختلف عصاره آبی، سطوح ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ و سطوح مختلف عصاره الکلی، تمامی سطوح، اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند (P<۰/۰۵). نتایج مربوط به سطوح مالون‌دی‌آلدئید و شاخص آنتی اکسیدانی کل تخم‌مرغ در مرغ‌های دریافت کننده عصاره آبی و الکلی نتایج نشان داد که اختلاف بین تیمار شاهد و تیمارهای دریافت کننده سطوح مختلف عصاره وجود دارد (P<۰/۰۵). در مقایسه با تیمار شاهد، بیشترین میزان ظرفیت کل

آنتی‌اکسیدانی در پرندگان دریافت کننده ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی بود (P<۰/۰۵). در بین سطوح مختلف عصاره آبی، گروه دریافت کننده سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره آبی، بیشترین میزان ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی را در مقایسه تیمار شاهد داشت (P<۰/۰۵). در این آزمایش کمترین میزان مالون دی‌آلدئید پلاسما در گروه دریافت کننده ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی مشاهده شد و میزان مالون دی‌آلدئید پلاسما با افزایش درصد عصاره در جیره، کاهش یافت (P<۰/۰۵).

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات کیفی و شاخص‌های آنتی اکسیدانی تخم‌مرغ (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

تیمارها	درصد زرده	درصد سفیده	درصد پوسته	واحد هاو	ضخامت پوسته (میکرومتر)	ظرفیت کل آنتی اکسیدانی	مالون دی آلدئید
شاهد	۲۶/۷۴	۶۱/۱۵^{ab}	۱۲/۱۸	۸۶/۳۰^{c}	۰/۳۳۶۲^{b}	۱۲/۸۸^{e}	۳/۷۲^{a}
۲۰۰ آبی	۲۶/۴۸	۶۲/۴۸^{ab}	۱۲/۱۹	۸۹/۳۹^{bc}	۰/۳۵۳۰^{ab}	۱۳/۸۸^{de}	۳/۲۸^{b}
۴۰۰ آبی	۲۶/۵۳	۶۲/۵۴^{ab}	۱۲/۲۵	۸۹/۴۴^{bc}	۰/۳۵۸۹^{ab}	۱۴/۵۶^{cd}	۳/۱۴^{bcde}
۶۰۰ آبی	۲۶/۹۳	۶۰/۸۲^{ab}	۱۲/۴۹	۹۲/۳۷^{ab}	۰/۳۶۴۰^{a}	۱۴/۶۴^{cd}	۳/۰۰^{bcdef}
۸۰۰ آبی	۲۶/۹۱	۶۰/۹۹^{ab}	۱۲/۵۴	۹۲/۳۷^{ab}	۰/۳۶۴۱^{a}	۱۵/۴۰^{bc}	۲/۹۲^{cdef}
۱۰۰۰ آبی	۲۶/۹۳	۶۳/۶۵^{a}	۱۲/۳۵	۹۴/۰۱^{a}	۰/۳۶۸۴^{a}	۱۵/۶۴^{bc}	۲/۸۴^{defg}
۲۰۰ الکلی	۲۵/۷۲	۶۲/۶۷^{a}	۱۲/۳۰	۹۰/۸۰^{abc}	۰/۳۶۵۵^{a}	۱۴/۰۰^{de}	۳/۲۰^{bc}
۴۰۰ الکلی	۲۶/۰۳	۶۳/۰۳^{a}	۱۲/۱۹	۹۰/۷۰^{abc}	۰/۳۶۶۵^{a}	۱۵/۳۶^{bc}	۳/۱۶^{bcd}
۶۰۰ الکلی	۲۶/۷۲	۵۹/۲۷^{b}	۱۲/۸۱	۹۲/۶۱^{ab}	۰/۳۶۷۱^{a}	۱۵/۶۰^{bc}	۲/۷۵^{fg}
۸۰۰ الکلی	۲۶/۶۱	۶۲/۹۴^{a}	۱۲/۳۰	۹۴/۳۵^{a}	۰/۳۶۷۹^{a}	۱۶/۳۰^{ab}	۲/۸۲^{efg}
۱۰۰۰ الکلی	۲۶/۶۰	۶۱/۲۰^{ab}	۱۲/۹۹	۹۴/۲۷^{a}	۰/۳۷۶۱^{a}	۱۷/۴۰^{a}	۲/۵۸^{e}
خطای آزمایشی	۰/۲۵	۰/۶۹	۰/۲۴	۰/۹۵	۰/۵۵	۰/۲۶	۰/۰۶
سطح معنی‌داری	۰/۰۶۶۹	۰/۰۰۲۰	۰/۲۹۷۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

a, b, c, d: میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای تفاوت معنی‌دار آماری هستند (P<۰/۰۵).

فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و سامانه ایمنی

نتایج افزودن عصاره‌های آبی و الکلی بر میزان تری‌گلیسرید، HDL، کلسترول، کلسیم، فسفر و عیار پادتن علیه نیوکاسل خون مرغ‌های تخمگذار در پایان دوره آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است. میزان کلسترول در پرندگان دریافت کننده ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی، کمترین مقدار در مقایسه با تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). در بین پرندگان دریافت کننده عصاره آبی، سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم، کمترین میزان کلسترول را در مقایسه با تیمار شاهد داشت (P<۰/۰۵). غلظت لیپوپورتئین با دانسیته بالا در پرندگان دریافت کننده عصاره نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت که در بین پرندگان دریافت کننده عصاره آبی، سطوح ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم و تمامی پرندگان دریافت کننده عصاره الکلی، اختلاف با تیمار شاهد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). در پرندگان دریافت کننده عصاره آبی و الکلی میزان تری‌گلیسرید کاهش داشت در بین سطوح مختلف عصاره آبی، پرندگان دریافت کننده سطوح ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند (P<۰/۰۵). پرندگان دریافت کننده عصاره الکلی از سطح ۲۰۰ میلی‌گرم به بعد، کاهش معنی‌داری در میزان تری‌گلیسرید نشان دادند (P<۰/۰۵). تیمارهای مختلف آزمایشی در میزان

کلسیم خون، اختلاف معنی‌داری نداشتند. گروه‌های دریافت کننده سطوح ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره‌های آبی و الکلی، بیشترین میزان فسفر خون را در مقایسه با تیمار شاهد داشتند (P<۰/۰۵). پرندگان دریافت کننده سطوح ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره آبی و الکلی بالاترین عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل را در مقایسه با تیمار شاهد داشتند (P<۰/۰۵).

جدول ٤. اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون مرغان تخمگذار (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)

تیمارها	کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	لیپوپروتئین با دانسیته بالا (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	کلسیم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	فسفر (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	عیار پادتن علیه نیوکاسل (لگاریتم بر مبنای ۱۰)
شاهد	۲۶۴/۰۷^{a}	۴۴/۰۳^{d}	۲۶۲/۱۰^{a}	۲۶/۳۰	۷/۱۰^{c}	۶/۴۶^{b}
۲۰۰ آبی	۲۵۳/۸۳^{a}	۴۷/۳۶^{cd}	۲۳۹/۳۱^{ab}	۲۶/۹۰	۸/۲۳^{bc}	۶/۸۸^{ab}
۴۰۰ آبی	۲۲۹/۲۰^{ab}	۴۹/۰۰^{bcd}	۲۳۰/۸۷^{abc}	۲۶/۹۳	۷/۷۰^{c}	۶/۷۰^{ab}
۶۰۰ آبی	۲۲۴/۸۸^{ab}	۵۳/۰۱^{bc}	۲۳۰/۵۷^{abc}	۲۶/۹۹	۷/۷۹^{c}	۶/۸۴^{ab}
۸۰۰ آبی	۲۲۰/۵۶^{ab}	۵۳/۳۴^{bc}	۲۰۴/۴۷^{bc}	۲۷/۹۰	۹/۸۰^{a}	۶/۹۲^{a}
۱۰۰۰ آبی	۱۵۳/۳۷^{d}	۵۵/۳۶^{ab}	۲۰۰/۲۴^{bc}	۲۷/۸۰	۹/۵۹^{a}	۷/۰۶^{a}
۲۰۰ الکلی	۲۱۷/۲۳^{abc}	۵۳/۳۳^{bc}	۲۲۴/۲۳^{abc}	۲۷/۵۰	۸/۲۱^{c}	۶/۷۸^{ab}
۴۰۰ الکلی	۱۹۱/۵۳^{bcd}	۵۲/۹۴^{bc}	۲۱۲/۰۲^{bc}	۲۷/۵۶	۸/۲۶^{bc}	۶/۷۴^{ab}
۶۰۰ الکلی	۱۵۷/۶۷^{cd}	۶۱/۵۳^{a}	۲۱۲/۸۱^{bc}	۲۷/۵۶	۸/۲۶^{bc}	۶/۷۲^{ab}
۸۰۰ الکلی	۱۵۶/۰۳^{d}	۶۲/۱۰^{a}	۱۹۸/۸۳^{bc}	۲۷/۹۳	۹/۸۳^{a}	۷/۰۰^{a}
۱۰۰۰ الکلی	۱۵۲/۴۰^{d}	۶۲/۳۶^{a}	۱۹۴/۹۰^{c}	۲۸/۳۶	۹/۹۰^{a}	۷/۰۴^{a}
خطای آزمایشی	۱۲/۴۱	۱/۶۳	۸۶/۰۵	۰/۵۰	۰/۲۶	۰/۰۹۰
سطح معنی‌داری	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۲۰۷۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۷

a, b, c, d: میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای تفاوت معنی‌دار آماری هستند (P<۰/۰۵).

بحث

استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان افزودنی‌های خوراکی در جیره طیور و سایر حیوانات آزمایشی، نتایج متفاوتی را در مورد شاخص‌های عملکردی نشان داده است. در مطالعه روی بلدرچین‌های ژاپنی تخم‌گذار، استفاده از پودر برگ زیتون اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک گزارش نشد. در مطالعه روی اثر تفاله زیتون (سطح ۹ درصد) در مرغ‌های تخم‌گذار (سویه لهمن) ۵۰ هفته اگر چه اضافه کردن تفاله زیتون موجب تغییر معنی‌داری در مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک نشد، اما در گروه دریافت کننده ۹ درصد تفاله زیتون، وزن تخم‌مرغ افزایش معنی‌داری داشت (Zanganeh and Torki، ۲۰۱۱). در جوجه‌های گوشتی، نتایج یک مطالعه روی اثر عصاره برگ زیتون موجب افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد (Cayan and Erener، ۲۰۱۵). بررسی مطالعات نشان داده است که افزایش در شاخص‌های عملکردی در نتیجه افزودن مواد گیاهی به دنبال محتوی فنولی گیاهان می‌باشد. ترکیبات فنولی با اثر بر میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش، موجب افزایش پتانسیل میکروبی و در نتیجه افزایش آنزیم‌های هضمی و کاهش توکسین‌های میکروبی شد (Wenk، ۲۰۰۲). بر

خلاف نتایج مطالعه حاضر، محققین گزارش کردند که عصاره برگ زیتون دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی برابر با آلفاتوکوفرول است اما به طور قابل توجهی بالاتر از BHT است (Lee و همکاران، ۲۰۰۹). در مطالعه بررسی اثر عصاره برگ زیتون در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است تا سطح ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره، اثر منفی بر عملکرد مشاهده نشد. مشابه نتایج تحقیق حاضر، در جوجه‌های گوشتی مختلف نشان داد که استفاده از عصاره برگ زیتون، اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک یا ضریب تبدیل خوراک نداشت (Cayan and Erener، ۲۰۱۵). در مطالعات دیگر گزارش شد مرغ های تخم گذار نیز افزودن ۶/۸ درصد کنجاله زیتون (Zarei و همکاران، ۲۰۱۱) و ۹ درصد تفاله زیتون (Afsari و همکاران، ۲۰۱۳) در خوراک اثری بر شاخص‌های عملکردی نداشت که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. استفاده از کیک زیتون همراه مخمر یا بدون مخمر در جیره جوجه های گوشتی اثری بر افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک در سن ۲۸-۱ روزگی نداشت (Al-Harthi، ۲۰۱۶) استفاده از سطوح صفر، پنج و ۱۰ درصد کنجاله زیتون همراه با مکمل ،آنزیمی تأثیری بر عملکرد تولیدی جوجه‌های گوشتی نداشت. ترکیبات فنولی کنجاله زیتون مانع از رشد میکروارگانیسم‌های مضر در روده شده و در نتیجه با کاهش رقابت در برداشت مواد مغذی مصرفی بین باکتری‌ها و حیوان، میزبان موجب افزایش مواد مغذی در دسترس میزبان میشوند (Singh و همکاران، ۲۰۱۹). کنجاله زیتون به دلیل داشتن درصد بالای اسیدهای چرب غیر اشباع در جریان جذب و سوخت و ساز انرژی اثر مثبت می‌گذارند (احسانی و ترکی،۱۳۹۰) که این افزایش انرژی سوخت و ساز موجب بهبود عملکرد پرنده می شود. در مطالعه ای که بر روی بلدرچین تخمگذار ژاپنی انجام شد، نشان داده شد که برگ زیتون هیچ اثر قابل توجهی بر مصرف خوراک یا ضریب تبدیل خوراک نداشت. با این حال، آن‌ها همچنین گزارش دادند که گروه‌هایی که خوراک مکمل برگ زیتون دریافت می‌کردند نسبت به گروه کنترل مصرف خوراک نسبتاً بالاتری داشتند. Zanganeh and Torki (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای که در آن خوراک مرغ تخم‌گذار با تفاله زیتون تکمیل شد، مشاهده کردند که اگرچه مخلوط خوراک با تفاله زیتون و آنزیم‌ها تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک و مصرف خوراک ندارند (P>۰/۰۵)، مرغ‌ها تغذیه شده با ۹ درصد تفاله زیتون و آنزیم ها دارای بالاترین وزن تخم مرغ در مقایسه با سایر گروه‌ها بود. مرغ هایی که پودر برگ زیتون دریافت کردند منابع انرژی بدن خود را بدون کاهش وزن و تعداد تخم افزایش دادند. این فرصت را به حیوانات می دهد تا سطح تولید خود را حفظ کنند، یعنی طول عمر تولید تخم مرغ. بدیهی است در مطالعه ما، در هفته آخر آزمایش، تعداد تخم مرغ های مصرف شده پودر برگ زیتون بیشتر از گروه شاهد بود، اما از نظر آماری معنی دار نبود.

کاهش میزان کلسترول را می‌توان به اثر کاهندگی الئوروپین موجود در برگ زیتون نسبت داد. ترکیبات فنلی در برگ زیتون، به دلیل کاهش غلظت سرمی و کبدی تری‌گلیسرید و تغییر متابولیسم کلسترول، دارای فعالیت هیپوکلسترومی هستند. همچنین مشخص شده است که ترکیبات فنلی دارای اثر محافظتی در برار اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها با چگالی کم هستند و می‌توان کاهش LDL مشاهده شده در این آزمایش را تحت تاثیر این اثر ترکیبات فنلی دانست. هیدروکسی تیروزول و الئوروپین موجود در برگ زیتون به عنوان ممانعت کننده‌های اکسیداسیون LDL و بازدارنده کوآنزیم 3-hydroxy3methylglataryl، کوآنزیم دخیل در سنتز کلسترول، شناخته شده‌اند (Sarica and Toptas، ۲۰۱۴).

در گزارشی دیگر، بیان شد که الئوروپین موجود در برگ باعث تحریک ترشح صفراوی کلسترول و دفع از طریق مدفوع می‌شود (Prasad and Karla، ۱۹۹۳). فلاونوئیدها باعث کاهش سوبسترای لازم برای ساخت تری‌گلیسریدها می‌شوند (Sung و

همکاران، ۲۰۰۴). در مطالعه‌ای مغایر با نتایج تحقیق حاضر گزارش شد، استفاده از سطوح متفاوت کنجاله زیتون (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد جیره) در جیره مرغ های تخم گذار تأثیری بر غلظت تری گلیسیرید نداشت ولی موجب کاهش معنی دار کلسترول HDL، LDL و سرم خون شد (Jahanian and Rasouli، ۲۰۱۱). در پژوهشهای دیگری استفاده از کیک زیتون تا سطح ۹ درصد در جیره مرغ تخم گذار تأثیری بر غلظت گلوکز، کلسترول، تری گلسیرید، HDL و LDL خون نداشت (Zarei و همکاران، ۲۰۱۱) Zanganeh and Torki۲۰۱۱)، که یافته های مطالعه حاضر نیز این نتایج را نقض می‌نماید و با همدیگر مطابقت ندارند. در راستای نتایج تحقیق حاضر، در تحقیق روی جوجه‌های گوشتی، کاهش میزان مالون دی آلدئید در گروه‌های دریافت کننده برگ زیتون مشاهده شد (Agah و همکاران، ۲۰۱۹). استفاده از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی (اولئوروپین) در جیره مرغان تخمگذار منجر به افزایش گرم تخم‌مرغ تولیدی شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد (Lee و همکاران، ۲۰۱۹). همراستا با نتایج تحقیق حاضر، سایر محققان در در یک تحقیق در مرغان تخم‌گذارافزودن ppm۱۵۰ ویتامین E به عنوان منبع آنتی‌اکسیدانی موجب بهبود وزن تخم‌مرغ و کاهش اکسیداسیون لیپیدی در شرایط تنش گرمایی شد (Ajakaiye و همکاران، ۲۰۱۱). واحد هاو یک شاخص مناسب ارزیابی از کیفیت داخلی تخم‌مرغ است. در تحقیقات مختلف مشخص شده است که استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدانی، موجب بهبود کیفیت سفیده و در نتیجه بهبود واحد هاو شد (An و همکاران، ۲۰۱۰). به عنوان مثال در یک مطالعه، استفاده از پودر سیر موجب افزایش واحد هاو در تخم‌مرغ و افزایش مدت نگهداری شد (Lim و همکاران، ۲۰۰۶). استفاده از ترکیبات حاوی آنتی‌اکسیدان و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجب بهبود کیفیت تخم‌مرغ و گوشت در نگهداری طولانی مدت می‌شود. در نتیجه کاهش pH، سرعت مایع شدن آلبومین کاهش و متعاقبا مقادیر واحد هاو و کیفیت آلبومین حفظ می‌شود (Surai، ۲۰۰۰). مطابق با نتایج تحقیق حاضر، محققین نشان دادند استفاده از مواد حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند کنجاله تخم کدو (سطح ۹ درصد در مرغ‌های تخمگذار ۵۰ هفته) (Valicu and Panaite، ۲۰۲۱)، عصاره گیاهان چینی (سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک مرغ‌های تخمگذار ۵۹ هفته) (Migliorini و همکاران، ۲۰۱۹)، عصاره گل همیشه بهار (یک گرم در کیلوگرم خوراک مرغ‌های تخمگذار ۳۱ هفته) (Grcevic و همکاران، ۲۰۱۹)، پلی‌فنل‌های چای (دو درصد خوراک مرغ‌های تخمگذار ۲۰ هفته) (Zhang و همکاران، ۲۰۲۰)، پپتیدهای جیره و ویتامین E (۸ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک مرغهای تخمگذار ۲۴ هفته) (Olukosi و همکاران، ۲۰۱۸)، چای سبز (۱۰۳۷/۹۰ میلی‌لیتر در کیلوگرم خوراک مرغ‌های تخمگذار ۳۶ هفته) (Zhu و همکاران، ۲۰۲۰)، میوه کاج تخمیر یافته (۵ میلی‌لیتردر کیلوگرم خوراک مرغ‌های تخمگذار ۴۰ هفته) (Kothari و همکاران، ۲۰۲۱) و آنتی اکسیدانهای طبیعی به شکل عناصر کمیاب آلی کیلاته با اسیدهای آمینه و پروبیوتیک‌ها (مرغ‌های تخمگذار ۵۳ هفته) (Pereira و همکاران، ۲۰۱۸) منجر به بهبود واحد هاو شد لذا می‌توان بهبود واحد هاو در گروه‌های دریافت کننده عصاره در مطالعه حاضر را به دلیلی ظرفیت آنتی اکسیدانی این عصاره‌ها دانست. می‌توان نتیجه‌گیری کرد که آلبومین و در نتیجه کیفیت تخم‌مرغ زمانی بهبود می‌یابد که میزان و فعالیت آنزیم‌ها و شاخص‌های آنتی اکسیدانی مانند ظرفیت انتی اکسیدانی کل، افزایش یابد (Ding و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از گیاهان یا عصاره‌ها به تخم‌مرغ منتقل می‌شود و تخم‌مرغ را از اکسایش محفوظ و در نتیجه باعث بهبود کیفیت سفیده می‌شوند (Florou-Paneri و همکاران، ۲۰۰۵). ترکیبات آنتی اکسیدانی با تاثیر بر پاسخ ایمنی با واسطه سلول‌های T و پاسخ آنتی بادی، موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی در بدن می‌شوند. از طرفی ترکیبات آنتی اکسیدانی با بیان ژن Fas موجب

محافظت سلول‌های T از رادیکال‌های آزاد و آپوپتوز می‌شوند (wintergerst و همکاران، ۲۰۰۷). همراستا با این تحقیقات، در مطالعه حاضر نیز گروه‌های دریافت کننده عصاره تیتر آنتی بادی علیه ویروس نیوکاسل افزایش نشان داد که می‌تواند ناشی از نقش محافظتی محتوی فنلی عصاره‌ها از سلول‌های ایمنی در برابر آسیب اکسیداتیو و بهبود عملکرد سیستم ایمنی باشد.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از عصاره برگ زیتون به دلیل داشتن ترکیبات فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی قوی موجب بهبود عملکرد، کیفیت تخم مرغ، سامانه ایمنی شده است. با بررسی نتایج سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره آبی و الکلی، عملکرد مناسبتری داشتند.

منابع

آگاه م ج، نصیری مقدم ح، گلیان ا، راجی ا، فرهوش ر، زربان ا. (۱۳۹۴). تأثیر عصاره برگ زیتون (Olea europaea L.) و روغن کنجد (Sesamum indicum L.) در جیره بر ریخت شناسی روده کوچک و برخی فراسنجه های خونی جوجه های گوشتی. نشریه دامپزشکی ایران، ۱۱(۲): ۳۳-۴۳

آموزمهر ا، دستار ب، شمس شرق زره داران و س. (۱۳۹۰). تاثیر سطوح مختلف سبوس برنج خام و عمل آوری شده در جیره بر عملکرد جوجه های گوشتی. علوم دامی- پژوهش و سازندگی، ۸۷: ۲۷-۳۳.

احسانی م.، و ترکی م. (۱۳۹۰). تاثیر استفاده از تفاله زیتون با و بدون پودر سیر و آویشن در جیره‌های غذایی بر فراسنجه‌های لاشه و عملکرد جوجه‌های گوشتی. مجله علوم دامی ایران. ۴۲ (۴)، ۳۱۱-۳۲۰.

پوررضا، جواد. (۱۳۸۹). تغذیه مرغ(تالیف اسکات، نسهایم و یانگ). انتشارات ارکان، اصفهان ص ۲۲۳.

سروش س ز، حسینی واشان س ج، افضلی ن، اله رسانی ع. (۱۳۹۹). اثر عصاره برگ و روغن زیتون بر عملکرد رشد، ریخت‌شناسی ایلئومو گوارش پذیری مواد مغذی در بلدرچین ژاپنی. پژوهش‌های تولیدات دامی، ۱۱(۲۸): ۱۱-۲۱.

جلال‌فرد ف.، پارسایی س.، هوشمند م.، و نقی‌ها نجف آبادی ر. (۱۳۹۹). اثرات برگ زیتون و پونه بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و جمعیت میکروبی ایلئومی در جوجه‌های گوشتی. میکروبیولوژی دامپزشکی. ۱۶(۲)، ۱۲۵-۱۳۶.

فرخوی م، خلیقی سیگارودی ت، نیک نفس ف. (۱۳۷۳). راهنمای کامل پرورش طیور. ناشر:شرکت پژوهش توسعه کشاورزی کوثر

Afsari M., Mohebbifar A. and Torki M. (2013). Effects of phytase supplementation of low phosphorous diets include olive pulp and date pits on productive performance of laying hens, egg quality traits and some blood parameters. *Annual Review Research in Biology*. 3(4):777-793.

Agah, M. J., Mirakzehi, M. T., & Saleh, H. (2019). Effects of olive leaf extract (Olea europea L.) on growth performance, blood metabolites and antioxidant activities in broiler chickens under heat stress. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 29(3).

Agostini P. S., Sol-Oriol D., Nofraras M., Barroeta A. C., Gasa J. and Manzanilla E. G. (2012). Role of in-feed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology, and morphology in broiler chicken. *Livestock Science*, 147:113–118.

Ajakaiye JJ, Perez-Bello A, Molloneda-Trujillo A. (2011). Impact of heat stress on egg quality in layer hens supplemented with l-ascorbic acid and dltocopherol acetate. *Veterinary Archives*.81:119-132.

Al-Harthi M. A. (2016). The efficacy of using olive cake as a by-product in broiler feeding with or without yeast. *Italian Journal of animal science*. 15:3,512-520.

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

An BK., Kwon HS., Lee BK., Kim JY., You SJ. and Kim JM. (2010). Effects of dietary skullcap (Scutellaria baicalensis) extract on laying performance and lipid oxidation of chicken eggs. *Asian Australasian Journal of Animal Science*. 23:772-776.

Effects of Echinacea extract on the performance, antibody titres, and intestinal histology of layer chicks. *British Poultry Science*, 51: 805-810.

Jahanian R. and Rasouli E. (2011). Effect of dietary inclusion of olive meal on performance and blood lipid metabolites in laying hens. *18th European Symposium on Poultry Nutrition*.

Jin, L.,Ho, Y.,Abdullah, N., and Jalaludin, S. (2000). Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with Lactobacillus cultures. *Poultry Science*, 79(6): 886-891

Kothari D., Oh J.S., Kim J.H., Lee W.D. and Kim S.K. (2021). Effect of Dietary Supplementation of Fermented Pine Needle Extract on Productive Performance, Egg Quality, and Serum Lipid Parameters in Laying Hens. *Animals*, 11: 147-165.

Lee O.H., Lee B.Y., Lee J., Lee H.B., Son J.Y., Park C.S., Shetty K. and Kim Y.C. (2009). Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, 100: 6107-6113.

Lim KS., You SJ., An BK. and Kang CW. (2006). Effects of dietary garlic powder and copper on cholesterol content and quality characteristics of chicken eggs. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, 19:582-586

Migliorini M.J., Boiago M.M., Stefani L.M., Zampar A., Roza L.F., Barreta M., Arno A., Robazza W.S., Giuriatti J. and Galvao A.C. (2019). Oregano essential oil in the diet of laying hens in winter reduces lipid peroxidation in yolks and increases shelf life in eggs. *Journal of thermal biology*, 85: 102409.

Olukosi O.A., Xiao W. and Jia J. (2018). Peptide supplementation to nutrient-adequate diets enhanced internal egg quality during storage in hens at peak production. *Journal of Science and Food Agriculture*, 98: 1850–1855.

Pereira G.C.C., Costa F.G.P., Silva J.H.V.d., Pascoal L.A.F., Lima C.A.B.d., Bittencourt L.C., Sechinato A.d.S. and Hermes R.G. (2018). Different trace mineral sources and recommendations in the performance and quality of eggs from Dekalb White layers.

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

Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuno A. and Del Rio J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Oleaeuropaea*L. leaves. *Food Chemistry*. 68:457-462

Bouaziz M. and Sayadi S. (2005). Isolation ana evaluation of antioxidants from leaves off a Tunisian cultivar olive tree. *European Jornal of Lipid Science and Technology*, 107: 497-504

Bravo D., Pirgozliev V. and Rose S.P. (2014). A mixture of carvacrol, cinnam aldehyde, and capsicum oleoresin improves energy utilization and growth performance of broiler chicken fed maize based diet. *Journal of Animal Sciences*, 92: 1531-1536.

Cayan H. and Erener G. (2015). Effect of olive leaf (Olea europaea) powder on laying hens performance, egg quality and egg yolk cholesterol levels. *Asian Australasation Journal of Animal Sciences*, 28: 538-543.

Chuah A.M., Lee Y.C.,Yamaguchi T.,Takamura H.,Yin J. and Matoba T. (2008). Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food chemistry*, 11(1): 20-28

Ding X., Du J., Zhang K., Bai S., Zeng Q., Peng H., Xuan Y., Su Z. and Wang J. (2020). Tandem mass tag-based quantitative proteomics analysis and gelling properties in egg albumen of laying hens feeding tea polyphenols. *Poultry Science*, 99: 430–440.

Draper H.H. and M. Hadley. (1990). MDA determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 186: 421- 430.

Florou-Paneri, Palatos P., Govaris G., Botsoglou A., Giannenas D. and Ambrosiadis I. (2005). Oregano Herb Versus Oregano Essential Oil as Feed Supplements to Increase the Oxidative Stability of Turkey Meat. *International Journal of Poultry Science*, 4: 866–871.

Grcevic M., Kralik Z., Kralik G., Galovic D., Radisic z. and Hanzek D. (2019). Quality and oxidative stability of eggs laid by hens fed marigold extract supplemented diet. *Poultry Science*, 98: 333–344

Gurbuz E., Balevi T., Kurtoglu V., Coskun B., Oznurlu Y., Kan Y. and Kartal M. (2010).

meal on layer performance and egg quality characteristics. *Animal Bioscience*, 35: 236–246.

Wenk C. (2002). Herbs, botanicals and other related substances. WPSA-Bremen. Germany

Wintergerst ES., Maggini S. and Hornig DH. (2007). Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. *Nutrition Metabolism*, 51:301-23.

Yue HY., Wang J., Qi XL., Ji F., Liu MF. and Wu SG. (2011). Effects of dietary oxidized oil on laying performance, lipid metabolism, and apolipoprotein gene expression in laying hens. *Poultry Science*, 90:1728-1736.

Zangeneh S. and Torki M. (2011). Effects of b-mannanase supplementing of olive pulp included diet on performance of laying hens, egg quality characteristics, humoral and cellular immune response and blood parameters. *Global Veterinary*, 7: 391-398.

Zhang J., Zhang M., Liang W., Geng Z. and Chen X. (2020). Green tea powder supplementation increased viscosity and decreased lysozyme activity of egg white during storage of eggs frjmom Huainan partridge chicken. *Italian Journal of Animal Science*, 19: 586–592

Zhu Y.F., Wang J P., Ding X M., Bai S P., Qi S.R.N., Zeng Q.F., Xuan Y., Su Z.W. and Zhang K.Y. (2020). Effect of different tea polyphenol products on egg production performance, egg quality and antioxidative status of laying hens. *Animal Feed Science and Technology*. 26: 114-125

Brazilian journal of animal science, 47: 201-225.

Prasad K. and Kalra J. (1993). Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis: effect of vitamin E. *American heart journal*, 125(4): 958-973.

Santos Ricalde R., Segura Correa J. and Sarmiento Franco L. (2019). Egg quality during storage of eggs from hens fed diets with crude palm oil. *Cordoba magazine*, 24: 7297–7304

Sarica S. and Toptas S. (2014). Effects of dietary oleuropein supplementation on growth performance, serum lipid concentrations and lipid oxidation of Japanese quails. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98(6):1176-1186

Singh, A.K., Cabral, C., Kumar, R., Ganguly, R., Rana, H.K., Gupta, A.and (2019). Beneficial effects of dietary polyphenols on gut microbiota and strategies to improve delivery efficiency. *Nutrients*. 11: 2216; doi:10.3390/nu11092216

Sung J.H., Choi S.J., Lee S.W., Park K.H. and Moon T.W. (2004). Isoflavones found in Korean soybean paste as 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 8:1051-1058.

Surai PF. (2000). Effect of selenium and vitamin E content of maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chicks. *British Poultry Science*, 41:235-243.

Vlaicu P.A. and Panaite T.D. (2021). Effect of dietary pumpkin (Cucurbita moschata) seed