



Original Research Paper

Effect of vitamins E and D3 on broilers blood immune cells, lymphoid organs weight and concentration of antioxidant enzymes under heat stress

Soudeh Shaaban Zadeh Soufiabadi ¹, Mohammad Chamani ^{1*}, Ali Asghar Sadeghi ¹, Mehdi Animafshar ¹, Farhad Froudi ²

¹ Department of Animal Science, Research Science Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

Key Words

Antioxidants
Broiler
Heat stress
Immune system
Vitamin D3 and E

Abstract

Introduction: This study aimed to evaluate the effect of different doses of vitamins E and D3 on immune cells count, lymphoid organs weight, and concentration of antioxidant enzymes in the blood of broilers under heat stress.

Materials & Methods: A total of 400 ROSS 308 broiler chickens were randomly divided into 20 pens. The birds were exposed to chronic heat stress (35 ± 1 °C, humidity 65 to 70%) for 7 hours daily from days 14 to 35. Experimental groups included negative control (Basal dose of the vitamins, without heat stress), positive control group (Basal dose of the vitamins, with heat stress), The higher dose of vitamin E, the higher dose of vitamin D3, and a group receiving the combination of the higher dose of vitamin E and D3. The relative weights of lymphoid organs including the spleen, bursa of Fabricius, and thymus of 8 birds from each treatment were calculated on days 14 and 28. Blood immune cells count was also measured after blood sampling. Blood antioxidant concentrations were also measured weekly.

Result: The results of this experiment showed that the groups that received higher doses of vitamin D3 and E or a combination of them, have higher thymus weight than the negative and positive control groups under heat stress conditions ($P < 0.05$). Heat stress caused a significant increase in heterophile and basophil cell count and a decrease in broilers blood lymphocytes ($P < 0.05$). Heat stress increased the ratio of Heterophil to Lymphocyte compared to the control group ($P < 0.05$). The lowest concentration of superoxide dismutase was observed in positive and negative control groups ($P < 0.05$). However, the groups that received high doses of vitamins D3 and E had the highest concentration of superoxide dismutase ($P < 0.05$). Applying heat stress, increased the blood concentration of catalase ($P < 0.05$) and decreased the concentration of glutathione peroxidase significantly.

Conclusion: In conclusion, it seems that the addition of a higher dose of vitamin E to the broilers diet could suppress the effects of heat stress on lymphoid organs and improve the status of enzymatic antioxidants in broilers blood.

* Corresponding Author's email: m.chamani@srbiau.ac.ir

Received: 30 October 2021; Reviewed: 2 December 2021; Revised: 3 February 2022; Accepted: 6 March 2022

(DOI): [10.22034/AEJ.2022.324846.2732](https://doi.org/10.22034/AEJ.2022.324846.2732)

مقاله پژوهشی

اثر ویتامین های E و D3 بر شمار سلول های ایمنی، وزن اندام های لنفوئیدی و غلظت آنزیم های آنتی اکسیدانی خون جوجه های گوشتی تحت تنش گرمایی

سوده شعبان زاده صوفی آبادی^۱، محمد چمنی^{۲*}، علی اصغر صادقی^۱، مهدی امین افشار^۱، فرهاد فرویدی^۲

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

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

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: هدف این مطالعه بررسی اثر دوزهای مختلف ویتامین E و D3 بر سلول های ایمنی، وزن اندام های لنفوئیدی و غلظت آنزیم های آنتی اکسیدانی خون جوجه های گوشتی تحت تنش گرمایی بود.

مواد و روش ها: تعداد ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نژاد ۳۰۸ راس در ۲۰ عدد پن با ابعاد ۱/۵×۱ متر به طور تصادفی تقسیم بندی شدند. پرندگان روزانه به مدت ۷ ساعت، از ۱۴ تا ۳۵ روزگی در معرض تنش گرمایی مزمن ($35 \pm 1^{\circ}\text{C}$)، رطوبت ۶۵ تا ۷۰٪ قرار گرفتند. گروه های آزمایشی شامل گروه شاهد منفی (بدون افزودنی، بدون تنش گرمایی)، شاهد مثبت (بدون افزودنی، با تنش گرمایی)، گروه های ویتامین E، ویتامین D3 و گروهی که ترکیب ویتامین E و D3 دریافت کرده بودند. وزن نسبی اندام های لنفوئیدی شامل طحال، بورس فابریسیوس و تیموس ۸ قطعه پرنده از هر تیمار در روزهای ۱۴ و ۲۸ محاسبه گردید. هم چنین تعداد سلول های ایمنی جوجه ها و غلظت آنتی اکسیدان های خون نیز به صورت هفتگی پس از خونگیری اندازه گیری شد.

نتایج: نتایج این آزمایش نشان داد گروه هایی که دوز بالاتری از ویتامین D3 و E و یا ترکیبی از دوزهای بالای این دو ویتامین دریافت داشته اند، وزن تیموس بیش تری نسبت به گروه های شاهد منفی و مثبت در شرایط تنش حرارتی داشته اند ($P < 0/05$). تنش حرارتی سبب افزایش معنی دار تعداد سلول های هتروفیل و بازوفیل و کاهش تعداد لنفوسیت های خون جوجه های گوشتی گردید ($P < 0/05$). نسبت هتروفیل به لنفوسیت در گروه هایی که تنش گرمایی را تجربه کرده بودند نسبت به گروه شاهد منفی بیش تر بود ($P < 0/05$). در طی تنش حرارتی کم ترین غلظت سوپراکسید دسموتاز در گروه های شاهد مثبت و منفی ($P < 0/05$) و بیش ترین غلظت خونی این آنزیم ها در گروه های دریافت کننده دوزهای بالای ویتامین D3 و E را دریافت داشته اند مشاهده شد ($P < 0/05$). اعمال تنش حرارتی سبب افزایش غلظت کاتالاز خون ($P < 0/05$) و کاهش معنی دار غلظت گلوکوتاتیون پراکسیداز خون جوجه های گوشتی شده است.

بحث و نتیجه گیری: به عنوان نتیجه گیری کلی، به نظر می رسد افزودن دوز بالای ویتامین E به جیره جوجه های گوشتی سبب تعدیل اثرات تنش گرمایی بر وزن اندام های لنفوئیدی و بهبود وضعیت آنتی اکسیدان های آنزیمی خون می گردد.

مقدمه

تنش گرمایی یکی از نگرانی‌های عمده توسعه صنعت طیور در کشورهای دارای شرایط آب و هوای گرم و به‌خصوص در فصل تابستان است. تنش گرمایی با کاهش مصرف غذا و قابلیت هضم خوراک، سبب کاهش بهره‌وری، ناهنجاری در سوخت و ساز مواد مغذی، افزایش تولید حرارت، کاهش ابقای پروتئین و تضعیف سیستم ایمنی می‌شود. تنش گرمایی سبب آسیب به اندام‌های لنفاوی نظیر تیموس و بورس شده و در نهایت سبب کاهش پاسخ ایمنی جوجه‌ها در زمان روبه‌رو شدن با برخی از عوامل بیماری‌زا می‌شود. بروز این بیماری‌ها در نهایت باعث کاهش عملکرد و افزایش مصرف خوراک و افزایش تلفات واحدهای پرورشی می‌شود (۱). تنش گرمایی تأثیر بسیار نامطلوبی بر پرندگان و طیور صنعتی دارد. در شرایطی که دمای زیاد محیط با رطوبت زیاد همراه باشد، له له زدن، دمای بدن و مصرف آب در پرندگان افزایش می‌یابد (۲). مرغ‌های امروزی به دلیل رشد سریع (۳) و تولید گرمای متابولیکی بیش‌تر (۴) به دمای بالای محیطی حساس هستند و در پاسخ به تنش گرمایی دچار تغییرات فیزیولوژیکی مانند تنش اکسیداتیو سلولی (۵)، پراکسیداسیون لیپیدها در غشای سلولی لنفوسیت‌های B و T (۶)، بی‌نظمی سیستم ایمنی (۷)، افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت (۸)، کاهش رشد (۹)، کاهش عملکرد (۱۰) و همچنین اختلال در عملکرد سد روده‌ای (۱۱) و افزایش مرگ و میر ناشی از آن (۱۲) می‌شوند؛ بنابراین می‌توان گفت که تنش گرمایی می‌تواند ضررهای اقتصادی هنگفتی به صنعت طیور وارد نماید (۱۳). یکی از اصلی‌ترین سازوکارهای که تنش گرمایی به واسطه آن بر عملکرد طیور اثر می‌گذارد، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد است. این عوامل واکنش‌پذیر می‌توانند سبب تغییر در مولکول‌های بزرگ بیولوژیکی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک شوند (۱). این تغییرات سبب بروز ناهنجاری‌های مختلفی در بدن می‌گردد. از طرف دیگر بدن برای مقابله با اثرات مضر رادیکال‌های آزاد دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. سیستم آنتی‌اکسیدانی شامل سه آنزیم آنتی‌اکسیدان اصلی به نام‌های سوپر اکسید دسموتاز، گلوکاتایون پروکسیداز و کاتالاز هستند که در ابتدای شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد، مسئول بی‌اثر کردن آن‌ها به طرق مختلف می‌باشند. در حالت عادی بدن یک تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن وجود دارد. اما افزایش رادیکال‌های آزاد در نتیجه هر ناهنجاری ایجاد شده، سبب از بین رفتن این تعادل شده و فرصت ظهور و بروز به رادیکال‌های آزاد داده می‌شود. همچنین تنش گرمایی علاوه بر افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، کارآمدی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی را در مقابل اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد کاهش می‌دهد. در این حالت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به تنهایی برای مقابله با رادیکال‌های آزاد کافی نبوده و نیاز است که با روش‌های مختلفی

این سیستم آنتی‌اکسیدانی در بدن تقویت گردد (۱۴). دستکاری در رژیم غذایی ساده‌ترین روش برای مقابله با اثرات منفی تنش گرمایی است. مکمل‌های ویتامینی ابزار مفیدی برای بهبود عملکرد پرندگان، تحت شرایط تنش گرمایی می‌باشد. این بدان معنی است که دمای بالای محیطی غلظت ویتامین‌ها و مواد معدنی موجود در سرم خون را کاهش داده و دفع آن‌ها را افزایش می‌دهد (۱۵). ویتامین E یک آنتی‌اکسیدانی است که به دلیل توانایی آن در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، سبب بهبود رشد، بهبود عملکرد فیزیولوژیکی و سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی شده و پراکسیداسیون چربی‌ها در پلاسما و هم در عضله اسکلتی را کاهش می‌دهد (۱۶). هم‌چنین ویتامین E، سبب بهبود توسعه پاسخ ایمنی در مقابل عوامل بیماری‌زای مختلف در جوجه‌ها می‌شود (۱۷). گزارش شده است که ویتامین E از سلول‌های درگیر در پاسخ ایمنی مانند لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های پلاسما، در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت و عملکرد و تکثیر این سلول‌ها را تقویت می‌کند (۱۸). سطح بهینه ویتامین E، در جیره‌های غذایی طیور گوشتی وابسته به مرحله رشد، در دامنه بین ۱۰ تا ۸۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم جیره متغیر است (۱۸). در مطالعه‌ای مشاهده شده است پرندگانی که ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، مکمل ویتامین E دریافت کردند، نسبت به گروه شاهد، ضریب تبدیل خوراک بهتری را نشان دادند (۱۹). هم‌چنین گزارش شده است که ویتامین D ممکن است عملکرد رشد و کیفیت گوشت پرندگان را نیز تحت تأثیر قرار دهد (۲۰). ویتامین D به عنوان یک آنتی‌اکسیدان شناخته نشده است اما به دلیل نقش آن در حفظ تعادل آنتی‌اکسیدانی از اهمیت ویژه‌ای در تغذیه پرندگان برخوردار است. گزارش شده است که ویتامین D سبب کاهش اثرات تنش اکسیداتیو، بهبود وضعیت سیستم ایمنی و تعدیل روندهای ضدالتهابی در بافت‌های بدن پرندگان می‌گردد (۱۴). هم‌چنین با افزایش سطوح ویتامین D جیره، وزن بدن، اضافه وزن و مقاومت استخوان‌ها افزایش می‌یابد. هم‌چنین ویتامین D باعث بهبود عملکرد و پاسخ ایمنی ذاتی پرندگان می‌شود (۲۱). تاکنون اثر افزودن توام مکمل‌های ویتامین‌های D و E بر بهبود عملکرد و رشد حیوان بررسی نشده‌اند، بنابراین هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات ترکی و توام ویتامین E و D بر سیستم ایمنی (نسبت هتروفیل به لنفوسیت، منوسیت، ائوزینوفیل و بازوفیل)، وزن اندام‌های لنفوییدی و هم‌چنین سیستم آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ تحت شرایط تنش حرارتی است.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایشی و گروه‌های آزمایشی: این آزمایش در تابستان سال ۱۳۹۷ به مدت ۴۲ روز در یکی از مزارع پرورش طیور واقع در ۲۴۸

جدول ۱: ترکیبات جیره آغازین و پایانی جوجه های گوشتی

ترکیبات جیره (%)	دوره آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی)	دوره پایانی (۲۱ تا ۴۲ روزگی)
ذرت ۷۵٪	۵۶.۷۷	۶۶.۲۷
سویا ۴۳٪	۳۷	۲۸
روغن سویا	۲	۲
دی کلسیم فسفات (DCP)	۱.۹	۱.۶
کرینات کلسیم	۰.۹	۰.۸
نمک	۰.۲	۰.۲
جوش شیرین	۰.۲۵	۰.۲۵
متیونین	۰.۲۸	۰.۲
لیزین هیدروکلراید	۰.۱۳	۰.۱۳
ترئونین	۰.۰۷	۰.۰۵
مکمل ویتامینه*	۰.۲۵	۰.۲۵
مکمل معدنی**	۰.۲۵	۰.۲۵
اجزای جیره (بر اساس جداول ترکیبات مواد مغذی)		
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)	۲۹۰۰	۳۰۱۰
پروتئین خام (%)	۲۱.۴	۱۷.۷
متیونین + سیستئین قابل هضم (%)	۰.۷۴	۰.۷۴
لیزین (%)	۱.۱۵	۰.۹۴
ترئونین / لیزین	۰.۶۶	۰.۶۶
والین / لیزین	۰.۷۷	۰.۷۷
کلسیم (%)	۰.۹	۰.۷۷
فسفر قابل جذب (%)	۰.۴۵	۰.۳۸

* هر کیلوگرم پرمیکس ویتامین حاوی: ۱۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۰۲ میلی گرم ویتامین B1، ۸۶ میلی گرم ویتامین B6، ۰.۱۷ میلی گرم ویتامین B12، ۶۵ میلی گرم اسید فولیک، ۲.۲ میلی گرم پنتوتنیک اسید، گروه های اول و دوم (شاهد منفی و مثبت): میزان ۳۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۵۰ میلی گرم ویتامین E، گروه سوم: میزان ۶۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۵۰ میلی گرم ویتامین E، گروه چهارم: میزان ۳۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E، گروه پنجم: میزان ۶۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E.

** هر کیلوگرم پرمیکس معدنی شامل: ۴۰۰ میلی گرم مس، ۱۶ میلی گرم کولین کلراید، ۲۰ میلی گرم آهن، ۱۲۰ میلی گرم منگنز، ۱۱۰ میلی گرم روی، ۱.۲۵ میلی گرم ید و ۰.۳ میلی گرم سلنیوم.

ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی خون جوجه های گوشتی: جهت

تعیین متابولیت های خونی جوجه های گوشتی در تیمارهای مختلف، در روزهای ۱۴ و ۲۸ از هر واحد آزمایشی ۲ قطعه جوجه (از هر تکرار یک پرنده و در کل ۲۴ پرنده از هر تیمار) به صورت تصادفی و نزدیک به میانگین وزنی هر پن انتخاب شد. همچنین برای ارزیابی آنزیم آنتی اکسیدانی هر هفته یک بار خونگیری انجام شد. خونگیری با استفاده از سوزن گیج

استان البرز، در شهرستان هشتگرد (35°56'02.5"N 50°39'44.1"E) اجرا گردید. ترکیب جیره پایه براساس دو دوره پرورشی آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی) و دوره پایانی (۲۲ تا ۴۲ روزگی) محاسبه گردید. محاسبه اجزای جیره براساس احتیاجات انرژی و پروتئین و سایر مواد مغذی جوجه ها که در دفترچه راهنمای تغذیه ای سویه Ross 308 بود. لازم به ذکر است برای بررسی اثر مکمل ویتامین E و D مقداری از این دو ویتامین مطابق با جدول ۱ به ترکیب مواد خوراکی در کارخانه خوراک اضافه شد. مقدار توصیه شده ویتامین D برای جوجه های گوشتی سویه راس ۳۰۰۰ واحد بین المللی و ویتامین E به میزان ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره می باشد. بر این اساس تیمارهای آزمایشی به شرح زیر دسته بندی شدند. گروه اول: شاهد منفی (دوز توصیه شده مکمل ویتامینی و بدون تنش گرمایی)، گروه دوم: شاهد مثبت (دوز توصیه شده مکمل ویتامینی و در معرض تنش گرمایی)، گروه سوم: گروه دریافت کننده مکمل ویتامینی به میزان ۶۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3/D6، گروه چهارم: گروه دریافت کننده مکمل ویتامینی حاوی ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره ویتامین E (E100) و گروه پنجم: گروه دریافت کننده ترکیب واحد بین المللی ویتامین D3 و ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره ویتامین E (D6E100) بودند. جوجه ها به تعداد مساوی و به صورت تصادفی در پن ها قرار گرفته و در حد اشتها تغذیه شدند. به جز گروه شاهد منفی، پرندگان سایر تیمار روزانه به مدت ۷ ساعت، از روز ۱۴ تا ۳۵ در معرض تنش گرمایی مزمین با درجه حرارت ۳۵±۱ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

حیوانات و طراحی آزمایش: در این پژوهش از ۴۰۰ قطعه

جوجه گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ استفاده شد (۵.۵±۵۰ گرم). این آزمایش دارای ۴ تکرار با ۲۰ قطعه جوجه گوشتی در هر تکرار بود. در این آزمایش از ۲۰ عدد پن با ابعاد ۱/۵×۱ متر استفاده شد. جوجه ها از ابتدا تا انتهای آزمایش داخل این پن ها بر روی بستری از جنس پوشال نگهداری شدند. همچنین آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار جوجه ها قرار گرفت. واکسیناسیون جوجه ها مطابق برنامه استاندارد سویه اجرا شد. همچنین شدت نور از هفته اول تا روز ۴۲ دوره پرورش به صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی در هفته اول و در هفته دوم تا انتهای دوره ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت خاموشی اجرا شد. درجه حرارت سالن در هفته اول ۳۲ الی ۳۳ درجه سلسیوس با رطوبت نسبی حداقل ۶۵ الی ۷۰ درصد تنظیم شد و پس از آن هر هفته کاهش ۲ الی ۳ درجه سلسیوس تا رسیدن به دمای ۲۲ درجه سلسیوس اعمال گردید. ترکیبات و اجزای جیره در طول دوره پرورشی در جدول ۱ آورده شده است.

با آنزیم‌های آنتی اکسیدانی خون از مدل شماره ۲ استفاده شد. در مدل شماره ۲ اثر زمان نیز در معادله مدل آورده شده و داده‌های مرتبط با اثر متقابل تیمار و زمان در بخش نتایج آورده شده است. همچنین برای مقایسات میانگین داده‌های مرتبط از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد و مدل آماری زیر برای تجزیه داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. مقایسه‌هایی که p -Valueها کوچک‌تر از ۰.۰۵ بود به عنوان مقایسات معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

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

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

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

نتایج

سیستم ایمنی پرندگان: نتایج مربوط به اثر مکمل ویتامین D و E بر وزن اندام‌های لنفوئیدی، تعداد سلول‌های سفید و غلظت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی سرم خون جوجه‌های گوشتی در جداول ۲ تا ۴ ارائه شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که افزایش دوز ویتامین‌های D3 و E اثری بر وزن بورس و طحال قبل و پس از تنش حرارتی نشان نداده است ($P > 0.05$). همچنین گروه‌هایی که دوز بالاتری از ویتامین D3 و E و یا ترکیبی از دوزهای بالای این دو ویتامین دریافت داشته‌اند، وزن تیموس بیش‌تری نسبت به گروه‌های شاهد منفی و مثبت در شرایط تنش حرارتی داشته‌اند ($P < 0.05$). بنابراین به نظر می‌رسد افزودن دوز بالای ویتامین E به جیره جوجه‌های گوشتی سبب تعدیل اثرات تنش گرمایی بر اندام‌های لنفوئیدی می‌گردد. نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان می‌دهند که تعداد سلول‌های هتروفیل، لنفوسیت‌ها، بازوفیل‌ها و مونوسایت‌ها قبل از تنش حرارتی در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند ($P > 0.05$). اما تنش حرارتی سبب افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های هتروفیل جوجه‌های گوشتی گردید ($P < 0.05$). حال آن‌که تیمار E100 و D6E100 نسبت به گروه شاهد مثبت تعداد سلول‌های هتروفیل کم‌تری را نشان داد. کم‌ترین میزان سلول‌های هتروفیل در گروهی که به هیچ وجه تنش حرارتی اعمال نشده بود مشاهده گردید ($P < 0.05$). همچنین نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که تنش حرارتی سبب کاهش معنی‌دار تعداد لنفوسیت‌های خون می‌شود ($P < 0.05$). در این آزمایش گروه شاهد منفی که تنش حرارتی را تجربه نکرده بود، نسبت به سایر گروه‌های تیماری بیش‌ترین تعداد لنفوسیت‌ها را داشت ($P < 0.05$). در بین

۱۹ از ورید بال انجام و در مجموع حدود ۶ میلی‌لیتر خون جمع‌آوری شد که ۳ میلی‌لیتر آن به آرامی در لوله‌های شیشه‌ای حاوی هپارین ریخته شد. هر لوله به مدت دو دقیقه به آرامی با وارونگی مکرر مخلوط شد. جهت اخذ سرم خون پرنده‌ها، میزان ۳ میلی‌لیتر باقی‌مانده نمونه، در لوله‌های غیرهپارین تزریق و به صورت کج در زاویه ۴۵ درجه در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس، نمونه‌ها برای تجزیه و تحلیل به آزمایشگاه ارسال شدند. در آزمایشگاه، برای به دست آوردن سرم خون، نمونه‌هایی که در لوله‌های غیرهپارین شده قرار داشتند به مدت ۱۵ دقیقه با شتاب $3000 \times g$ در دقیقه سانتریفیوژ شده و تا زمان انجام ارزیابی هادر فریزر منفی ۴۰- نگه‌داری شدند. غلظت آنتی‌اکسیدان‌های سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز و کاتالاز سرم خون به روش کالریمتریک با کیت‌های شرکت پارس آزمون تحت لیسانس شرکت DiaSys Diagnostic Systems آلمان اندازه‌گیری شد (۲۲).

وزن اندام‌های لنفوئیدی: جهت ارزیابی اندام‌های لنفوئیدی در روزهای ۱۴ (قبل از شروع تنش گرمایی) و ۳۵ (در حین تنش گرمایی) از هر پن دو عدد پرنده و در مجموع ۸ پرنده که متوسط وزن آن‌ها، به میانگین آن واحد آزمایشی نزدیک‌تر بود به‌ازای هر تیمار انتخاب و پس از کشتار، اندام‌های تیموس، طحال و بورس فابریوس جدا و پاکسازی شدند. سپس این اندام‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰.۰۰۱ (CAS laboratory Scale XE-H-C) توزین شده و با توجه به وزن پرندگان، به صورت نسبتی از وزن زنده پرنده مورد آنالیز قرار گرفتند (۲۳).

ارزیابی تعداد سلول‌های ایمنی خون: تعداد سلول‌های سفید خون در روزهای ۱۴ (قبل از شروع تنش گرمایی) و ۳۵ (حین تنش حرارتی) ارزیابی شد. برای این ارزیابی از هر تیمار ۲ پرنده به میانگین وزنی نزدیک به میانگین هر گروه انتخاب و پس از خونگیری، حدود یک میلی‌لیتر از خون بروی هر کدام از لام‌ها ($n=2$) ریخته و با کمک لام دیگری گسترش ایجاد شد. سپس اسلایدها به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شده و سلول‌های سفید با میکروسکوپ نوری شمارش شدند. میانگین دو اسلاید به عنوان عدد هر کدام از سلول‌ها مد نظر قرار گرفت. نسبت هتروفیل به لمفوسیت هم بر همین اساس ارزیابی گردید (۹).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از آزمایش‌های این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شدند. پیش از تجزیه و تحلیل آماری، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از روش UNIVARIATE چک شده و در صورتی که داده‌ها نرمال نبودند از تبدیل داده‌ها برای نرمال سازی استفاده گردید (۲۴). با وزن اندام‌های ایمنی و شمار سلول‌های ایمنی خون از معادله شماره ۱ و برای تجزیه و تحلیل داده‌های مرتبط

گروه‌هایی که تنش گرمایی را تجربه کرده بودند نسبت به گروه شاهد منفی بیش‌تر بود ($P < 0.05$). در بین گروه‌های تیماری تحت تنش نیز، گروه‌هایی که دوز بالای ویتامین E دریافت کرده بودند، نسبت به سایر گروه‌های تحت تنش، نسبت پایین‌تری را نشان دادند. دوز بالای ویتامین D3 تاثیر معنی‌داری بر کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت نداشت.

گروه‌هایی که تنش حرارتی را تجربه کرده بودند، گروه E100 بیش‌ترین تعداد سلول‌های لنفوسیت خون را نشان داد. اما اثر معنی‌داری بین گروه شاهد مثبت و گروه D6 وجود نداشت ($P > 0.05$). تنش حرارتی سبب افزایش معنی‌دار تعداد بازوفیل‌های خون جوجه‌های گوشتی شده است ($P < 0.05$). هم‌چنین گروه‌های دریافت‌کننده دوز بالای ویتامین E (E100 و D6E100) تعداد بازوفیل کم‌تری نسبت به گروه شاهد مثبت داشتند ($P < 0.05$). نسبت هتروفیل به لنفوسیت در

جدول ۲: اثر ویتامین‌های D3 و E بر وزن اندام‌های لنفوبیدی در دوره قبل (روز ۱۴) و حین تنش حرارتی (روز ۲۸) (Means $\pm$ SE)

p-Value	تیمارهای آزمایشی					وزن نسبی اندام‌های لنفوبیدی (گرم)
	D6E100	E100	D6	شاهد (+)	شاهد (-)	
۰.۳۵	۰.۳۹ $\pm$ ۰.۰۵	۰.۵۱ $\pm$ ۰.۱۱	۰.۵۶ $\pm$ ۰.۰۲	۰.۵۹ $\pm$ ۰.۱۱	۰.۵۸ $\pm$ ۰.۰۲	وزن بورس (قبل از تنش)
۰.۱۱	۰.۲۴ $\pm$ ۰.۰۲	۰.۲۵ $\pm$ ۰.۰۱	۰.۲۳ $\pm$ ۰.۰۱	۰.۱۹ $\pm$ ۰.۰۱	۰.۲۳ $\pm$ ۰.۰۱	وزن بورس (حین تنش)
۰.۵۱	۰.۶۰ $\pm$ ۰.۱۰	۰.۴۴ $\pm$ ۰.۰۲	۰.۵۶ $\pm$ ۰.۱۱	۰.۶۱ $\pm$ ۰.۰۶	۰.۷۰ $\pm$ ۰.۱۵	وزن تیموس (قبل از تنش)
۰.۰۰۱	۰.۲۵ $\pm$ ۰.۰۱ ^a	۰.۲۸ $\pm$ ۰.۰۱ ^a	۰.۳۰ $\pm$ ۰.۰۴ ^a	۰.۱۷ $\pm$ ۰.۰۳ ^b	۰.۱۵ $\pm$ ۰.۰۰۵ ^b	وزن تیموس (حین تنش)
۰.۶۵۲	۰.۲۲ $\pm$ ۰.۰۳	۰.۲۳ $\pm$ ۰.۰۱	۰.۲۶ $\pm$ ۰.۰۲	۰.۲۲ $\pm$ ۰.۰۱	۰.۲۲ $\pm$ ۰.۰۳	وزن طحال (قبل از تنش)
۰.۴۶۸	۰.۱۲ $\pm$ ۰.۰۱	۰.۱۲ $\pm$ ۰.۰۱	۰.۱۲ $\pm$ ۰.۰۱	۰.۱۰ $\pm$ ۰.۰۱	۰.۱۱ $\pm$ ۰.۰۱	وزن طحال (حین تنش)

a-b: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ستون از نظر آماری معنی‌دار است ($P \leq 0.05$). گروه‌های اول و دوم (شاهد منفی و مثبت): میزان ۳۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۵۰ میلی‌گرم ویتامین E، گروه سوم: میزان ۶۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۵۰ میلی‌گرم ویتامین E، گروه چهارم: میزان ۳۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، روه پنجم: میزان ۶۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E.

جدول ۳: اثر ویتامین‌های D3 و E بر تعداد سلول‌های ایمنی (در یک قطره ۱۰ میکرولیتری از خون) و نسبت هتروفیل به لنفوسیت خون پرندگان در دوره قبل (روز ۱۴) و حین تنش حرارتی (روز ۲۸) (Means $\pm$ SE)

p-Value	تیمارهای آزمایشی				سلول‌های ایمنی خون	
	D6000E100	E100	D6000	شاهد (+)		شاهد (-)
۰.۱۹	۲۸.۶۹ ± ۰.۲۳	۲۷.۴۶ ± ۰.۳۴	۲۸.۶۷ ± ۰.۴۵	۲۷.۵۶ ± ۰.۷۵	۲۷.۹۱ ± ۰.۰۲	هتروفیل (قبل از تنش)
۰.۰۰۱	۳۷.۳۵ ± ۰.۲۳ ^b	۳۷.۴۵ ± ۰.۲۷ ^b	۳۹.۷۴ ± ۱.۶۰ ^{ab}	۴۰.۸۲ ± ۰.۶۹ ^a	۲۸.۵۳ ± ۰.۱۸ ^c	هتروفیل (حین تنش)
۰.۱۰	۶۳.۳۰ ± ۰.۲۱	۶۴.۵۷ ± ۰.۰۸	۶۲.۷۱ ± ۰.۴۶	۶۳.۷۵ ± ۰.۷۸	۶۴.۰۹ ± ۰.۳۷	لنفوسیت (قبل از تنش)
۰.۰۰۱	۵۲.۹۷ ± ۰.۰۱ ^b	۵۳.۴۱ ± ۰.۲۹ ^b	۴۹.۹۹ ± ۱.۱۱ ^c	۴۹.۶۰ ± ۰.۶۶ ^c	۶۳.۷۶ ± ۰.۳۳ ^a	لنفوسیت (حین تنش)
۰.۵۶	۲.۷۲ ± ۰.۲۰	۲.۶۰ ± ۰.۱۰	۲.۹۳ ± ۰.۰۹	۲.۹۳ ± ۰.۱۴	۲.۷۴ ± ۰.۲۲	بازوفیل (قبل از تنش)
۰.۰۰۲	۴.۱۲ ± ۰.۱۵ ^{bc}	۳.۵۳ ± ۰.۰۷ ^c	۴.۹۱ ± ۰.۳۸ ^a	۴.۵۱ ± ۰.۱۵ ^{ab}	۲.۷۲ ± ۰.۱۳ ^d	بازوفیل (حین تنش)
۰.۷۱	۱.۸۰ ± ۰.۱۲	۲.۰۰ ± ۰.۲۰	۲.۰۲ ± ۰.۰۸	۲.۰۰ ± ۰.۱۰	۱.۸۶ ± ۰.۱۳	مونوسیت (قبل از تنش)
۰.۶۵	۱.۷۰ ± ۰.۰۵	۱.۷۲ ± ۰.۰۵	۱.۷۸ ± ۰.۰۴	۱.۷۴ ± ۰.۰۶	۱.۸۳ ± ۰.۱۰	مونوسیت (حین تنش)
۰.۰۶	۳.۴۶ ± ۰.۰۳	۳.۳۴ ± ۰.۱۴	۳.۶۶ ± ۰.۰۵	۳.۷۴ ± ۰.۱۱	۳.۳۷ ± ۰.۱۱	اوتوزینوفیل (قبل از تنش)
۰.۱۵	۳.۸۴ ± ۰.۳۲	۳.۸۶ ± ۰.۲۹	۳.۵۶ ± ۰.۲۷	۳.۳۲ ± ۰.۱۰	۳.۱۴ ± ۰.۰۳	اوتوزینوفیل (حین تنش)
۰.۱۵	۰.۴۵ ± ۰.۰۰۳	۰.۴۲ ± ۰.۰۰۵	۰.۴۵ ± ۰.۰۱	۰.۴۳ ± ۰.۰۱	۰.۴۳ ± ۰.۰۰۲	هتروفیل / لنفوسیت (قبل از تنش)
۰.۰۰۱	۰.۷۰ ± ۰.۰۰۴ ^b	۰.۷۰ ± ۰.۰۰۷ ^b	۰.۷۹ ± ۰.۰۴۸ ^a	۰.۸۲ ± ۰.۰۱ ^a	۰.۴۴ ± ۰.۰۰۵ ^c	هتروفیل / لنفوسیت (حین تنش)

a-c: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ستون از نظر آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$). گروه‌های اول و دوم (شاهد منفی و مثبت): میزان ۳۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۵۰ میلی‌گرم ویتامین E، گروه سوم: میزان ۶۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۵۰ میلی‌گرم ویتامین E، گروه چهارم: میزان ۳۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، روه پنجم: میزان ۶۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E.

معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) اما با اعمال تنش حرارتی سبب افزایش غلظت کاتالاز خون شد ($P < 0.05$) اما گروه دریافت‌کننده دوز بالای ویتامین D3 نسبت به گروه شاهد منفی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. گروهی که دو برابر دوز توصیه شده ویتامین E دریافت کرده بود بیش‌ترین غلظت کاتالاز را نشان داد ($P < 0.05$). اما در هفته‌های بعد از تنش حرارتی نیز غلظت این آنزیم در تیمارهای مختلف تفاوت

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خون: نتایج این آزمایش نشان داد که در طی تنش حرارتی کم‌ترین غلظت سوپراکسید دسموتاز در گروه‌های شاهد مثبت و منفی مشاهده شد ($P < 0.05$). حال آن‌که گروه‌هایی که دوزهای بالای ویتامین D3 و E را دریافت داشته‌اند بیش‌ترین غلظت سوپراکسید دسموتاز خون را داشتند. غلظت آنزیم کاتالاز در هفته قبل از تنش در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت

معنی داری نشان نداد. هم چنین نتایج این آزمایش نشان داد که تنش حرارتی سبب کاهش معنی دار غلظت گلوکاتینون پراکسیداز خون جوجه های گوشتی شده است ($P > 0.05$). اما افزودن دوزهای بالای ویتامین D3 و ویتامین E سبب کنترل کاهش این آنتی اکسیدان آنزیمی

شده است. در هفته دوم و سوم گروه E100 و گروه D6000E100 نسبت به سایر گروه ها عملکرد بهتری را نشان داد. اما در هفته چهارم و پنجم گروه شاهد مثبت کمترین غلظت خونی گلوکاتینون پراکسیداز را نسبت به سایر گروه های تیماری نشان داد.

جدول ۴: اثر ویتامین های D3 و E بر سطح آنزیم های سرم خون جوجه های گوشتی تحت تنش حرارتی (اثر متقابل تیمار و زمان) (Means $\pm$ Se)

p-Value	تیمارهای آزمایشی				فراسنجه	
	D6000E100	E100	D6000	شاهد (+)	شاهد (-)	
سوپراکسید دسموتاز (U/g Hb)						
۰.۰۴	۴۲.۶۳ $\pm$ ۱.۰۷ ^{ab}	۴۰.۱۶ $\pm$ ۱.۷۴ ^{ab}	۳۸.۹۶ $\pm$ ۰.۳۱ ^b	۴۴.۵۱ $\pm$ ۱.۲۷ ^a	۳۸.۳۶ $\pm$ ۱.۷۳ ^b	(هفته ۱)
۰.۰۱	۷۱.۱۴ $\pm$ ۴.۳۹ ^a	۷۳.۰۹ $\pm$ ۰.۳۵ ^a	۶۷.۸۱ $\pm$ ۸.۱۱ ^a	۳۶.۸۹ $\pm$ ۰.۳۰ ^b	۴۱.۷۶ $\pm$ ۱.۲۷ ^b	(هفته ۲)
۰.۰۱	۷۵.۵۵ $\pm$ ۳.۱۸ ^a	۸۲.۶۸ $\pm$ ۱.۴۹ ^a	۷۴.۹۶ $\pm$ ۳.۷۳ ^a	۳۶.۲۰ $\pm$ ۱.۳۰ ^b	۳۹.۶۸ $\pm$ ۱.۰۱ ^b	(هفته ۳)
۰.۰۹	۴۳.۳۹ $\pm$ ۰.۹۵ ^a	۴۴ $\pm$ ۲.۵۱ ^a	۴۳.۸۲ $\pm$ ۲.۹۶ ^a	۳۶.۸۴ $\pm$ ۱.۱۵ ^b	۳۹.۶۸ $\pm$ ۱.۰۶ ^{ab}	(هفته ۴)
۰.۰۱	۴۷.۴۰ $\pm$ ۲.۵۸ ^a	۴۰.۶۴ $\pm$ ۲.۴۰ ^b	۴۷.۹۸ $\pm$ ۱.۷۶ ^a	۳۸.۸۰ $\pm$ ۱.۲۵ ^b	۴۰.۷۰ $\pm$ ۱.۰۷ ^b	(هفته ۵)
کاتالاز (U/g Hb)						
۰.۸۰	۴.۲۳ $\pm$ ۰.۱۴	۴.۱۴ $\pm$ ۰.۰۶	۴.۰۶ $\pm$ ۰.۱۴	۴.۲۲ $\pm$ ۰.۲۳	۴.۰۳ $\pm$ ۰.۰۹	(هفته ۱)
۰.۰۱	۵.۹۶ $\pm$ ۰.۱۷ ^b	۶.۸۶ $\pm$ ۰.۱۴ ^a	۴.۷۷ $\pm$ ۰.۲۸ ^c	۶.۲۸ $\pm$ ۰.۲۴ ^{ab}	۴.۲۲ $\pm$ ۰.۰۵ ^c	(هفته ۲)
۰.۰۱	۶.۵۷ $\pm$ ۰.۳۱ ^b	۷.۱۸ $\pm$ ۰.۱۸ ^a	۴.۷۴ $\pm$ ۰.۱۳ ^c	۷.۱۳ $\pm$ ۰.۱۰ ^{ab}	۴.۱۴ $\pm$ ۰.۱۰ ^d	(هفته ۳)
۰.۵۰	۳.۹۶ $\pm$ ۰.۰۳	۴.۰۴ $\pm$ ۰.۰۷	۳.۸۳ $\pm$ ۰.۰۸	۴.۰۹ $\pm$ ۰.۲۴	۳.۸۲ $\pm$ ۰.۰۷	(هفته ۴)
۰.۳۶	۴.۵۴ $\pm$ ۰.۵۰	۴.۲۰ $\pm$ ۰.۰۸	۳.۷۰ $\pm$ ۰.۳۲	۳.۸۲ $\pm$ ۰.۳۰	۳.۷۹ $\pm$ ۰.۲۱	(هفته ۵)
گلوکاتینون پراکسیداز (U/g Hb)						
۰.۷۹	۳۲۸.۷۹ $\pm$ ۵.۹۱	۳۵۳.۰۳ $\pm$ ۸.۳۳	۳۳۸.۷۱ $\pm$ ۲۰.۴۵	۳۳۲.۴۳ $\pm$ ۱۶.۶۲	۳۳۱.۰۵ $\pm$ ۱۹.۰۰	(هفته ۱)
۰.۰۱	۴۹۴.۸۷ $\pm$ ۴.۶۶ ^a	۵۲۹.۵۹ $\pm$ ۲۰.۲۵ ^a	۳۵۲.۷۱ $\pm$ ۸.۲۵ ^b	۲۹۵.۰۱ $\pm$ ۴.۱۵ ^c	۳۴۴.۶۲ $\pm$ ۲۵.۰۴ ^b	(هفته ۲)
۰.۰۱	۶۱۶.۶۴ $\pm$ ۱۲.۶۵ ^a	۵۹۲.۰۶ $\pm$ ۱۰.۸۱ ^a	۳۹۳.۰۴ $\pm$ ۴.۴۶ ^b	۲۳۸.۸۸ $\pm$ ۵.۰۱ ^d	۳۲۸.۷۷ $\pm$ ۲.۸۱ ^c	(هفته ۳)
۰.۰۱	۳۱۶.۵۰ $\pm$ ۷.۰۳ ^a	۳۲۱.۴۳ $\pm$ ۹.۹۶ ^a	۳۰۶.۶۱ $\pm$ ۱۰.۰۴ ^a	۲۶۹.۸۶ $\pm$ ۴.۷۲ ^b	۳۱۵.۷۱ $\pm$ ۵.۵۷ ^a	(هفته ۴)
۰.۰۱	۳۰۹.۵۴ $\pm$ ۶.۵۶ ^a	۳۲۵.۷۲ $\pm$ ۴.۰۳ ^a	۳۰۹.۵۴ $\pm$ ۱۲.۱۳ ^a	۲۷۳.۱۹ $\pm$ ۷.۸۵ ^b	۳۳۱.۳۷ $\pm$ ۱۲.۶۶ ^a	(هفته ۵)

a-d: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ستون از نظر آماری معنی دار است ($P \leq 0.05$). گروه های اول و دوم (شاهد منفی و مثبت): میزان ۳۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۵۰ میلی گرم ویتامین E، گروه سوم: میزان ۶۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۵۰ میلی گرم ویتامین E، گروه چهارم: میزان ۳۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E، روه پنجم: میزان ۶۰۰۰ واحد ویتامین D3 و ۱۰۰ میلی گرم ویتامین E.

بحث

بهبود وضعیت ایمنی در جوجه های گوشتی، با نقش اختصاصی و مشخص ویتامین E صورت می پذیرد. ویتامین E می تواند سبب توسعه ایمنی خونی (تولید آنتی بادی یا پادتن) و سلولی (تولید سلول های ایمنی یا گلبول های سفید که اجرام بیماری زا را نابود می کنند) شود. در این مطالعه هدف اصلی بررسی اثر ویتامین های D و E بر سیستم ایمنی، وزن اندام های لنفوییدی و هم چنین سیستم آنتی اکسیدانی جوجه های گوشتی بود. نتایج این آزمایش نشان داد که اضافه کردن دوز مصرفی ویتامین E و D سبب افزایش وزن تیموس در حین تنش گرمایی می شود. براساس نتایج مطالعه حاضر به نظر می رسد افزایش وزن تیموس در پرندگان تحت تنش حرارتی، اثر مثبتی بر وضعیت ایمنی پرندگان داشته باشد. این نتایج با نتایج مطالعه Jang و همکاران (۲۵) مطابقت داشت. آن ها نشان دادند که افزودن ویتامین E به جیره جوجه های گوشتی سبب افزایش وزن

تیموس در شرایط تنش حرارتی می شود اما اثری بر وزن طحال و بورس فابرسیوس ندارد. همچنین ویتامین E اختصاصاً سبب کاهش بیان ژن های اینترلوکین-۶ شده است (۲۵). در مطالعه های دیگر Niu و همکاران، گزارش کردند که علاوه بر این که افزودن ویتامین E اثری بر وزن اندام های لنفوییدی تیموس، طحال و بورس نداشته است، بلکه تنش حرارتی زمینه ای سبب کاهش وزن این اندام ها نیز شده است (۲۶). به نظر می رسد افزودن دوز جیره ای ویتامین ها آنتی اکسیدانی با افزایش تقسیم ماکروفاژها و لنفوسیت ها سبب بهبود وضعیت ایمنی پرندگان تحت تنش حرارتی می شوند (۲۶، ۶). مطابق با نتایج مطالعه پیش رو گزارش شده است که افزودن آنتی اکسیدان های گیاهی سبب کاهش بیان ژن سایتوکین های پیش التهابی می شوند (۲۷). به ویژه گزارش شده است که در طی تنش حرارتی، گروه اینترلوکین-۱ زیاد می شود که سبب بروز پاسخ های التهابی و تولید پادتن می شوند (۲۸). در مطالعه ای Panda و همکاران، گزارش کردند که مکمل سازی جیره با ویتامین های E و C سبب کاهش اثرات منفی تنش گرمایی

در بدن جوجه‌های گوشتی شده است. در مطالعه‌ای Mirsaed Ghazi و همکاران، نشان دادند که افزودن ویتامین E به جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خون شده است. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که افزودن ویتامین E به جیره سبب بهبود وضعیت ایمنی جوجه‌ها در طی تنش گرمایی می‌شود (۳۵). ویتامین E به دلیل محلول بودن در چربی به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر دیواره سلولی شناخته می‌شود. هم‌چنین ویتامین E نقش بسیار ویژه‌ای در محافظت از لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها از آسیب‌های اکسیداتیو داشته و تکثیر و عملکرد آن‌ها را بهبود می‌بخشد (۳۰). در این آزمایش ویتامین D اثر معنی‌داری بر غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نداشته است. اما برخلاف نتایج این مطالعه El-Senousey و همکاران، نشان دادند که افزودن ویتامین D به جیره سبب بهبود سطح سرمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. هم‌چنین غلظت این آنزیم‌ها در بافت‌های کبد و طحال نیز با افزودن ویتامین E افزایش داشته است. این عملکرد در نتیجه سبب کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد شده و عملکرد کلی سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد (۳۶). نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن دوز بالای ویتامین E به جیره جوجه‌های گوشتی سبب تعدیل اثرات تنش گرمایی بر اندام‌های لنفوئیدی و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی‌های آنزیمی خون می‌گردد. اما افزایش دوز ویتامین D3 تاثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های اشاره شده نداشت.

منابع

1. Akbarian, A., Michiels, J., Degroote, J., Majdeddin, M., Golian, A. and De Smet, S., 2016. Association between heat stress and oxidative stress in poultry; mitochondrial dysfunction and dietary interventions with phytochemicals. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 7(1): 1-4.
2. Jahejo, A.R., Nasir Rajput, N.M., Pirzado, A., Nizamani, Z.A., Tarique, M. and Memon, A.A., 2016. Effect of ascorbic acid in heat stressed broiler chickens of sindh zone. *Science International (Lahore)*. 28(4): 4089-4093.
3. Cheng, Y.F., Chen, Y.P., Chen, R., Su, Y., Zhang, R.Q., He, Q.F., Wang, K., Wen, C. and Zhou, Y.M., 2019. Dietary mannan oligosaccharide ameliorates cyclic heat stress-induced damages on intestinal oxidative status and barrier integrity of broilers. *Poultry science*. 98(10): 4767-4776.
4. Lara, L.J. and Rostagno, M.H., 2013. Impact of heat stress on poultry production. *Animals*. 3(2): 356-369.
5. Varasteh, S., Braber, S., Akbari, P., Garssen, J. and Fink Gremmels, J., 2015. Differences in susceptibility to heat stress along the chicken intestine and the protective effects of galacto-oligosaccharides. *PloS one*. 10(9): 0138975.
6. Puthongsiriporn, U., Scheideler, S.E., Sell, J.L. and Beck, M.M., 2001. Effects of vitamin E and C supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. *Poultry science*. 80(8): 1190-1200.
7. Ding, J., He, S., Xiong, Y., Liu, D., Dai, S. and Hu, H., 2020. Effects of dietary supplementation of fumaric acid on growth performance, blood hematological and biochemical profile of broiler chickens exposed to chronic

در پرندگان شده و عملکرد سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد (۲۹). هم‌چنین Shakeri و همکاران، گزارش کردند که افزودن سلنیوم، ویتامین E و C سبب محافظت از پروتئین‌ها و چربی‌ها از اکسیداسیون در پرندگان تحت تنش حرارتی شده و عملکرد پرندگان را بهبود می‌دهند (۳۰). نتایج آزمایش پیش‌رو نشان داد که تنش حرارتی سبب افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های هتروفیل و بازوفیل شده و تعداد سلول‌های لنفوسیت را کاهش داد. هم‌چنین سبب افزایش معنی‌دار نسبت هتروفیل به لنفوسیت‌ها شد. افزودن دوزهای ویتامین E و D سبب افزایش تعداد سلول‌های هتروفیل و بازوفیل نسبت به گروه شاهد شده و نسبت هتروفیل به لنفوسیت نیز کاهش پیدا کرد. در راستای نتایج این مطالعه Attia و همکاران، گزارش کردند که تنش مزمن حرارتی سبب افزایش تعداد بازوفیل‌ها و نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جوجه‌های گوشتی می‌گردد. اما افزودن ویتامین E به جیره تغییر معنی‌داری در تعداد بازوفیل‌ها و نسبت H/L ندارد. نسبت هتروفیل به لنفوسیت‌ها شاخص مهمی در ارزیابی سطح ایمنی بدن می‌باشد و هر چقدر این نسبت کم‌تر باشد به‌همین مقدار نیز سطح ایمنی بالا بوده و احتمال مقاومت در مقابل عوامل بیماری‌زا بهبود می‌یابد (۹). به عبارت دیگر افزایش تعداد سلول‌های لنفوسیت، سبب بهبود روندهای دخیل در بروز پاسخ به پاتوژن‌های مختلف شده و سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد (۳۱). مطابق با نتایج مطالعه پیش‌رو Hesabi Nameghi و همکاران، گزارش کردند که مصرف مکمل ویتامین E به میزان ۵۰ واحد بین‌المللی باعث بهبود صفات تولیدی و مصرف ۵۰ و ۷۵ واحد آن باعث بهبود پاسخ‌های ایمنولوژیک می‌شود. هم‌چنین نشان دادند که افزودن ویتامین E سبب بهبود عملکرد ایمنولوژیک بدن پرند خواهد شد (۳۲). ساز و کار پیشنهادی دیگر برای اثر مثبت ویتامین E بر سیستم ایمنی پرندگان، بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشد. براساس نتایج مطالعه پیش‌رو ویتامین D به تنهایی تاثیری بر سیستم ایمنی پرند نداشته و صرفاً زمانی که هم‌زمان با دوز بالای ویتامین E به پرندگان داده شد، سبب بهبود وضعیت ایمنی شده است. مطابق با این نتایج Sakkas و همکاران، نشان دادند که افزودن ویتامین D علی‌رغم اثری که بر فراسنجه‌های رشد جوجه‌های گوشتی داشت اما اثر قابل توجهی بر تقویت سیستم ایمنی این پرندگان نداشت (۳۳). اما برخلاف نتایج مطالعه پیش‌رو Rodriguez-Lecompte و همکاران، نشان دادند که ویتامین D در جیره جوجه‌های گوشتی، نقش تنظیم‌کننده سیستم ایمنی را داشته و سبب بروز پاسخ برخی از سایتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شوند (۳۴). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تنش حرارتی سبب کاهش سطوح آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز شده است. اما اضافه کردن دوز بالای ویتامین E سبب بهبود وضعیت این آنتی‌اکسیدان‌ها

- with *Salmonella typhimurium* and *Clostridium perfringens*. *Animals* (Basel). 10(5): 886. DOI: 10.3390/ani10050886
24. **Seifi Jamadi, A., Kohram, H., Zhandi, M. and Van Soom, A., 2020.** Effect of artificial heat stress on Belgian blue bull's semen quality after thawing. *Journal of animal environment*. 12(4): 85-94. (In Persian)
 25. **Jang, I.S., Ko, Y.H., Moon, Y.S. and Sohn, S.H., 2014.** Effects of vitamin C or E on the pro-inflammatory cytokines, heat shock protein 70 and antioxidant status in broiler chicks under summer conditions. *Asian Australasian journal of animal sciences*. 27(5): 749.
 26. **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(10): 2101-2107.
 27. **Yun, N., Kang, J.W. and Lee, S.M., 2012.** Protective effects of chlorogenic acid against ischemia/reperfusion injury in rat liver: molecular evidence of its antioxidant and anti-inflammatory properties. *The Journal of nutritional biochemistry*. 23(10): 1249-1255.
 28. **Helwig, B.G. and Leon, L.R., 2011.** Tissue and circulating expression of IL-1 family members following heat stroke. *Physiological Genomics*. 43(19): 1096-1104.
 29. **Panda, A.K., Ramarao, S.V., Raju, M.V. and Chatterjee, R.N., 2008.** Effect of dietary supplementation with vitamins E and C on production performance, immune responses and antioxidant status of White Leghorn layers under tropical summer conditions. *British Poultry Science*. 49(5): 592-599.
 30. **Shakeri, M., Oskoueian, E., Le, H.H. and Shakeri, M., 2020.** Strategies to combat heat stress in broiler chickens: Unveiling the roles of selenium, vitamin E and vitamin C. *Veterinary sciences*. 7(2): 71.
 31. **Abbasi, M.A., Ghazanfari, Sh., Sharifi, A.D. and Ahmadi Gavlighi, H., 2019.** The Effect of Rosemary, Thymus and Satureja Essential Oils, Vitamin E and Vegetable Oils on Immune System and Intestinal Microflora of Broiler Chicken. *Journal of Veterinary Research*. 74(2): 153-166. (In Persian)
 32. **Hesabi Nameghi, A., Moghaddam, H.N., Afshari, J.T. and Manshahi, H., 2007.** Effect of Vitamin E and C supplementation on performance and immune response in broiler chicks. *J. Anim. Vet. Adv.* 6(9): 1060-1069.
 33. **Sakkas, P., Smith, S., Hill, T.R. and Kyriazakis, I., 2019.** A reassessment of the vitamin D requirements of modern broiler genotypes. *Poultry science*. 98(1): 330-340.
 34. **Rodriguez Lecompte, J.C., Yitbarek, A., Cuperus, T., Echeverry, H. and Van Dijk, A., 2016.** The immunomodulatory effect of vitamin D in chickens is dose-dependent and influenced by calcium and phosphorus levels. *Poultry science*. 95(11): 2547-2556.
 35. **Ghazi Mirsaed, Z., Zarei, A. and Eila, N., 2015.** The effect of vitamin C and E on functional traits, carcass components and blood parameters of broilers under heat stress. *Animal Science and Research Journal*. 21: 23-36. (In Persian)
 36. **El-Senousey, H.K., Chen, B., Wang, J.Y., Atta, A.M., Mohamed, F.R. and Nie, Q.H., 2018.** Effects of dietary vitamin C, vitamin E, and alpha-lipoic acid supplementation on the antioxidant defense system and immune-related gene expression in broilers exposed to oxidative stress by dexamethasone. *Poultry science*. 97(1): 30-38.
 8. **Mahmoud, U.T., Abdel-Rahman, M.A., Darwish, M.H. and Mosaad, G.M., 2013.** The effect of heat stress on blood picture of Japanese quail. *Journal of Advanced Veterinary Research*. 3(2): 69-76.
 9. **Attia, Y.A., Al-Harathi, M.A., El-Shafey, A.S., Rehab, Y.A. and Kim, W.K., 2017.** Enhancing tolerance of broiler chickens to heat stress by supplementation with vitamin E, vitamin C and/or probiotics. *Annals of Animal Science*. 17(4): 1155.
 10. **Tawfeek, S.S., Hassanin, K.M. and Youssef, I.M., 2014.** The effect of dietary supplementation of some antioxidants on performance, oxidative stress, and blood parameters in broilers under natural summer conditions. *Journal of World's Poultry Research*. 4(1): 10-19.
 11. **Goo, D., Kim, J.H., Park, G.H., Delos Reyes, J.B. and Kil, D.Y., 2019.** Effect of heat stress and stocking density on growth performance, breast meat quality and intestinal barrier function in broiler chickens. *Animals*. 9(3): 107.
 12. **Lian, P., Braber, S., Garssen, J., Wichers, H.J., Folkerts, G., Fink-Gremmels, J. and Varasteh, S., 2020.** Beyond heat stress: Intestinal integrity disruption and mechanism-based intervention strategies. *Nutrients*. 12(3): 734.
 13. **Arain, M.A., Mei, Z., Hassan, F.U., Saeed, M., Alagawany, M., Shar, A.H. and Rajput, I.R., 2018.** Lycopene: a natural antioxidant for prevention of heat-induced oxidative stress in poultry. *World's Poultry Science Journal*. 74(1): 89-100.
 14. **Surai, P.F., Kochish, E., Fisinin, V.I., Kidd, M.T., 2019.** Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: An update. *Antioxidants*. 8(7): 235.
 15. **Selvam, R., Saravanakumar, M., Suresh, S., Sureshbabu, G., Sasikumar, M. and Prashanth, D., 2017.** Effect of vitamin E supplementation and high stocking density on the performance and stress parameters of broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 19: 587-594.
 16. **Pompeu, M.A., Cavalcanti, L.F. and Toral, F.L., 2018.** Effect of vitamin E supplementation on growth performance, meat quality, and immune response of male broiler chickens: a meta-analysis. *Livestock Science*. 208: 5-13.
 17. **Srilatha, T., Reddy, V.R., Qudratullah, S. and Raju, M.V., 2010.** Effect of alpha-lipoic acid and vitamin E in diet on the performance, antioxidation and immune response in broiler chicken. *International Journal of Poultry Science*. 9(7): 678-683.
 18. **Pitargue, F.M., Kim, J.H., Goo, D., Reyes, J.D. and Kil, D.Y., 2019.** Effect of vitamin E sources and inclusion levels in diets on growth performance, meat quality, alpha-tocopherol retention, and intestinal inflammatory cytokine expression in broiler chickens. *Poultry science*. 98(10): 4584-4594.
 19. **Sakamoto, M.I., Murakami, A.E., Silveira, T.G.V., Fernandes, J.I.M. and De Oliveira, C.A.L., 2006.** Influence of glutamine and vitamin E on the performance and the immune responses of broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 8(4): 243-249.
 20. **Garcia, A.F., Murakami, A.E., do Amaral Duarte, C.R., Rojas, I.C., Picoli, K.P. and Puzotti, M.M., 2013.** Use of vitamin D3 and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 26(3): 408.
 21. **Colet, S., Garcia, R.G., Almeida Paz, I.C., Caldara, F.R., Borille, R., Royer, A.F., Nääs, I.A. and Sgavioli, S., 2015.** Bone characteristics of broilers supplemented with vitamin D. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 17: 325-332.
 22. **Cramer, T.A., Kim, H.W., Chao, Y., Wang, W., Cheng, H.W. and Kim, Y.H., 2018.** Effects of probiotic (*Bacillus subtilis*) supplementation on meat quality characteristics of breast muscle from broilers exposed to chronic heat stress. *Poultry science*. 97(9): 3358-3368.
 23. **de la Mora, Z.V., Vázquez, P.O., Avalos, H., Ascencio, F., Nuño, K. and López, A.V., 2020.** Effect of a Synbiotic Mix on Lymphoid Organs of Broilers Infected