The University of Tehran Press

Iranian Journal of Animal Science

Online ISSN: 2008-4773

Homepage: http:// ijas.ut.ac.ir/

Effects of phytosome containing green tea extract on growth and carcass performance, immune response and antioxidant status, blood parameters and ileum microbial populations in broiler chickens

Keyvan Jelveh[1], Majid Mottaghitalab[2]✉, Mehrdad Mohammadi[3]

1. Department of Animal Science, Faculty of Agricultur, University of Guilan, Rasht, Iran P O Box 4199613776, Email: Keyvan_jel@yahoo.com
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agricultur, University of Guilan, Rasht, Iran P O Box 4199613776, E-mail: mmotaghi@guilan.ac.ir
3. Department of Animal Science, Faculty of Agricultur, University of Guilan, Rasht, Iran P O Box 4199613776, E-mail: mohammadi@guilan.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 4 April 2023

Received in revised form: 25 May 2023

Accepted: 29 May 2023

Published online: 20 March 2024

Keywords:

Phytosome,

green tea,

avilamycin,

salinomycin,

poultry.

ABSTRACT

This study aimed to investigate the nutritional effects of phytosomal green tea on growth performance, lipid parameters, immune responses, antioxidant status, ileum bacterial population, and gamma interferon gene expression in compared to green tea extract. 375 male broiler chickens (ROSS 308)were randomly assigned to 5 treatments, with 5 replications and 15 chickens per cage. Treatments included 1- basal diet (negative control), 2- basal diet + 0.10 g/kg *avilamycin*, 3- basal diet + 0.60 g/kg salinomycin, 4- basal diet + 400 ml/kg green tea extract and 5-basal diet + 300 ml/kg green tea phytosome. Experimental treatments did not affect growth and carcass performance (P>0.05). Malondialdehyde, triglycerides, low density lipoprotein cholesterol in plasma affected by phytosomal extract decreased compared to control (P<0.05). Antibody levels against red blood cells, immunoglobulin G and immunoglobulin M increased in chickens fed phytosome supplement in comparison to the form of green tea extract at 28 days (P<0.05). The use of green tea extract reduced the population of Escherichia coli in comparison to avilamycin and increased the population of lactobacilli cmpared to salinomycin (P<0.05). The expression of interferon gamma gene in the spleen of chickens that received the phytosomal green tea extract was higher compared to the consumption of green tea extract (P<0.05). Conclusion is that, green tea extract -phospholipid complexes showed the same efficiency compared to green tea extract on the evaluated parameters and can be considered as an alternative in order to reduce the consumption of plant extracts in poultry nutrition.

Cite this article: Jelveh, K., Mottaghitalab, M. & Mohammadi, M. (2024). Effects of phytosome containing green tea extract on growth and carcass performance, immune response and antioxidant status, blood parameters and ileum microbial populations in broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science*, 55 (1), 111-130. DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2023.356828.653940

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2023.356828.653940

Extended Abstract

Introduction

Antimicrobial resistance is recognized as one of the world's greatest threats to human and animal health. Today, herbal products receive considerable attention as an alternative to antibiotics. However, their use at low doses often results in limited bioavailability due to low solubility, low absorption, and rapid metabolism and excretion. At higher doses, plant compounds can increase feed costs and negatively affect taste, digestion and protein utilization and liver health. In poultry studies, it was found that green tea has anti-coccidiosis and antioxidant properties. The most effective ingredient of green tea is polyphenols. The unfavorable feature of polyphenols in the digestive system is lack of proper absorption or poor bioavailability. By encapsulation, physiologically active chemicals in green tea are protected and selectively released. This can improve plant additive stability, palatability, and bioavailability in broilers. A suitable coating method is the use of lipid-

based carriers such as phytosomes. Phytosomes are a novel method in drug delivery and distribution at the site of action. It is composed of an effective plant substance and phosphatidylcholine (lecithin). Phytosome help the plant's active substance pass through lipid-rich biological membranes and enter the blood. This research compares the effect of green tea extract and its phytosome form on growth and carcass performance, antioxidant status, immune response, lipid parameters and intestinal bacterial population of broiler chickens.

Materials and Method

The study was performed using 375 male broiler chickens (ROSS 308). The birds were randomly assigned to 5 treatments , 5 replications (15 chicks per cage) for each treatment. Green tea phytosome was prepared using green tea extract and soybean lecithin. Experimental treatments included 1- basal diet without any supplements, 2- basal diet containing 0.1 g/kg of avilamycin, 3- basal diet containing 0.6 g/kg salinomycin coccidiostat, 4- The basal diet contained 400 ml/kg of green tea extract and 5- The basal diet contained 300 ml/kg of green tea extract phytosome.

Result

Based on the obtained data, compared to the control, the additives did not lead to an increase in feed consumption, weight gain and change in feed conversion ratio in the whole period (1-42 days). There was no significant difference between the treatments in the percentage of carcass, breast and thigh, as well as in the relative weight of internal organs including liver, pancreas, bursa, spleen, gizzard and fat pad. Different additives showed no significant differences in blood serum nitric oxide levels. Lowest level of malondialdehyde content in blood serum, was obtained in treatment supplemented with green tea phytosome (300 ml/kg) compared to the control and the avilamycin groups ($P<0.05$). Compared to avilamycin and salinomycin, green tea extract and its phytosome forms, resulting to reduced blood triglyceride levels ($P<0.05$). Serum total cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol showed no significant differences in different treatments. In the group receiving green tea supplements, serum low-density lipoprotein cholesterol decreased significantly ($P<0.05$). Though no significant, the immune response promoted at 28 days in the green tea phytosome group, compared to either control, or avilamycin and salinomycin groups. However, the pure green tea extract group showed significant differences compared to control group ($P<0.05$). White blood cell diversity was not significantly affected by additives in comparison with the control. In comparison with avilamycin, green tea extract and its phytosome form resulting to reduced Escherichia coli population ($P<0.05$). Green tea was also found to increase lactobacilli in the ileum when compared to salinomycin ($P<0.05$). Compared to salinomycin, green tea significantly increased lactobacillus in the ileum ($P<0.05$), while avilamycin did not, however, the trend shows a tendency towards significance. In comparison with 300 ml/kg of green tea extract, 400 ml/kg of phytosomal green tea significantly increased IFN-γ gene expression in broiler spleen ($P<0.05$).

Conclusion

From the findings of this study, it can be concluded that the addition of phytosome containing green tea extract saves the consumption of herbal additives and provides the same performance. Therefore, the lipid-based coating method can reduce the dosage while maintaining the effects of the plant extract. Also, the phytosome form of green tea extract decreased triglyceride and high-density lipoprotein, improved antioxidant status, and increased interferon gamma gene expression in broilers.

نشریه علوم دامی ایران، دوره ۵۵، شماره ۱

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۷۹۴۹-۲۴۲۳

Homepage: http://ijas.ut.ac.ir//

اثر فایتوزوم حاوی عصاره چای سبز بر عملکرد رشد، لاشه، ایمنی، فراسنجه‌های خونی و آنتی‌اکسیدانی و جمعیت باکتریایی ایلئوم جوجه‌های گوشتی

کیوان جلوه[۱] | مجید متقی طلب[۲]✉ | مهرداد محمدی[۳]

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: Keyvan_jel@yahoo.com

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: mmotaghi@guilan.ac.ir

۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: mohammadi@guilan.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۱/۰۱

کلیدواژه‌ها:

آویلامایسین، چای سبز، سالینومایسین، طیور، فایتوزوم.

چکیده

هدف از این مطالعه، مقایسه اثرات تغذیه‌ای فایتوزوم حاوی عصاره چای سبز و عصاره آن بر عملکرد رشد، لاشه، فراسنجه‌های خونی، پاسخ‌های ایمنی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی، جمعیت باکتریایی ایلئوم و بیان ژن اینترفرون گاما بود. ۳۷۵ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ به طور تصادفی به ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر قفس تقسیم شدند. تیمارها شامل ۱- جیره پایه (شاهد منفی)، ۲- جیره پایه + ۰/۱۰ گرم بر کیلوگرم آویلامایسین، ۳- جیره پایه + ۰/۶۰ گرم بر کیلوگرم سالینومایسین، ۴- جیره پایه + ۴۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم عصاره چای سبز و ۵- جیره پایه + ۳۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم فایتوزوم عصاره چای سبز بودند. تیمارهای آزمایشی اثری بر عملکرد رشد و لاشه نداشتند ($P>0/05$). مالون‌دی‌آلدهید، تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی پایین پلاسما تحت‌تاثیر فایتوزوم عصاره در مقایسه با شاهد کاهش یافت ($P<0/05$). عیار آنتی‌بادی بر علیه گلبول‌های قرمز خون، ایمنوگلوبین G و ایمنوگلبولین M در جوجه‌های مصرف‌کننده مکمل فایتوزوم در مقایسه با شکل عصاره در ۲۸ روزگی افزایش یافت ($P<0/05$). استفاده از عصاره چای سبز جمعیت باکتریایی اشرشیاکلی را در مقایسه با آویلامایسین کاهش و جمعیت لاکتوباسیل‌ها را در مقایسه با سالینومایسین افزایش داد ($P<0/05$). بیان ژن اینترفرون گاما در طحال جوجه هایی که مکمل فایتوزوم را دریافت کردند در مقایسه با مصرف عصاره بالاتر بود ($P<0/05$). به طورکلی، فایتوزومه‌کردن عصاره چای سبز کارایی یکسانی در مقایسه با عصاره چای سبز معمولی بر فراسنجه‌های مورد ارزیابی نشان داده و می‌تواند به عنوان جایگزین در کاهش مصرف عصاره‌های گیاهی در تغذیه طیور مورد استفاده قرارگیرد.

استناد: جلوه، کیوان؛ متقی طلب، مجید و محمدی، مهرداد (۱۴۰۳). اثر فایتوزوم حاوی عصاره چای سبز بر عملکرد رشد، لاشه، ایمنی، فراسنجه‌های خونی و آنتی‌اکسیدانی و جمعیت باکتریایی ایلئوم جوجه‌های گوشتی. *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۵ (۱)، ۱۳۰-۱۱۱. DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2023.356828.653940

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2023.356828.653940

مقدمه

صنعت تولید دام و طیور در تلاش است تا نیاز خود به داروهای آنتی‌بیوتیکی را به حداقل ممکن کاهش دهد. پیش‌بینی روند استفاده از آنتی‌بیوتیک ها از سال ۲۰۱۷ تا ۲۰۳۰ نشان می‌دهد متاسفانه کشور ایران بین ۱۰ کشور اول در مصرف آنتی‌بیوتیک در خوراک دام و طیور قرار دارد (Tiseo et al., 2020). از سویی دیگر، در صورت عدم معرفی جایگزین‌های مناسب آنتی‌بیوتیک در پرورش طیور گوشتی، منع مصرف آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد و کوکسیدیواستات می‌تواند منجر به ضرر اقتصادی شود (Cardinal et al., 2019; Parker et al., 2021). غیر از بیماری‌های ویروسی، صنعت طیور تحت تاثیر دو بیماری متداول آنتریت نکروتیک و کوکسیدیوز به ترتیب با تخمین ضرر اقتصادی ۶ و ۳/۲ میلیارد دلار در سال قرار دارد (Mak *et al.*, 2022). آنتی‌بیوتیک محرک رشد آویلامایسین از خانواده اورتومایسین است که از رشد باکتری‌های گرم مثبت مانند کلستریدیوم پرفرینژنس[1] عامل بیماری آنتریت نکروتیک جلوگیری می‌کند (Choi *et al.*, 2018). کوکسیدواستات متداول سالینومایسین از گروه یونوفورهای پلی‌اتر مونوکربوکسیلیک است که هنوز در لیست سیاه سازمان بهداشت جهانی[2] قرارنگرفته است (Mak *et al.*, 2022). البته گزارش‌هایی در مورد ایجاد مقاومت یا ماندگاری آویلامایسین و سالینومایسین در محصول ارایه شده است (Aarestrup *et al.*, 2000; Chauvin *et al.*, 2005; Roila *et al.*, 2021; Ferdji *et al.*, 2022; Flores *et al.*, 2022; Martins *et al.*, 2022).

در این شرایط، استفاده از گیاهان دارویی به عنوان یکی از جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک (در شرایط غیردرمانی) یا آنتی‌اکسیدآن‌های شیمیایی، همواره در منابع مروری جدید پیشنهاد می‌شوند (Pliego *et al.*, 2020; Rafiq *et al.*, 2022; Rahman *et al.*, 2022; Ayalew *et al.*, 2022). اثر محرک رشد ناشی از افزودنی‌های خوراک گیاهی به غلظت و نوع مواد فعال و موثره آن‌ها بستگی دارد. محدودیت استفاده از افزودنی‌های گیاهی در سیستم گوارشی شامل حلالیت و جذب کم، متابولیسم و دفع سریع است که منجر به کاهش فراهمی زیستی آن‌ها می‌شود. علاوه بر این، برخی از ترکیبات زیست فعال در مکمل‌های گیاهی به راحتی تجزیه شده و طعم بدی به خوراک می‌دهند. این معایب می‌تواند با پوشش‌دار کردن افزودنی گیاهی کاهش یابد. پوشش‌دار کردن، مواد شیمیایی فعال زیستی را محصور کرده و منجر به محافظت، کنترل و رهاسازی هدفمند آن در دستگاه گوارش می‌شود. علاوه بر افزایش فراهمی زیستی، کپسوله کردن طعم ترکیبات نامطلوب را پنهان کرده و طعم و مقبولیت خوراک را بهبود می‌بخشد (Sugiharto & Ayasan, 2022).

چای (*Camellia sinensis L.*) یک گیاه چند ساله، همیشه سبز با گرده افشانی متقاطع و دارای گل‌های سفید و میوه های سبز با دو تا سه دانه است. همچنین، از نظر تغذیه‌ای چای سبز دارای ترکیبات زیست فعال ارزشمندی مانند آلکالوئیدها (ترئوبرومین، کافئین و تئوفیلین)، پلی فنول‌ها (فلاوانوئیدها و کاتچین‌ها)، پلی‌ساکاریدها، روغن‌های فرار، لیپیدها، اسیدهای آمینه، مواد معدنی، ویتامین C و سایر ترکیبات با اثرات نامشخص است (Khan, 2014; Seidavi et al., 2020). بیشترین ماده موثره چای سبز، پلی‌فنول‌ها هستند که نزدیک به ۳۰ درصد از اجزای آن را تشکیل داده، و تقریباً ۵۰٪ از اسیدهای آمینه چای سبز، ال–تیانین است. خواص مثبت پلی‌فنول‌ها و ال–تیانین در تغذیه طیور گوشتی توسط محققان مختلف مورد تاکید قرار گرفته است (Abdel-Moneim et al., 2020; Saeed et al., 2020). اثرات ضدکوکسیدیوزی (Abbas et al., 2017; Jelveh et al., 2023) بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی (Farhat et al.,2016) ، بهبود شرایط ایمنی (Seidavi et al., 2017) و کاهش چربی خون (Huang et al.,2013; Rahman et al., 2018) چای سبز بر طیور اثبات شده است.

ویژگی نامطلوب پلی‌فنول‌ها در دستگاه گوارش عدم جذب مناسب و یا فراهمی زیستی ضعیف آن ها است. یک روش مناسب جهت غلبه بر این مشکل روش پوشش‌دهی واستفاده از حامل‌هایی مبتنی بر لیپید مانند فایتوزوم است. فایتوزوم یک روش جدید در سیستم دارورسانی و توزیع در محل اثر، کاهش اثرات سمی و افزایش فراهمی زیستی افزودنی های گیاهی

1Clostridium perfringens
2World health organization CIA list (WHO CIA list)

می‌باشد که در عبور ماده موثره گیاهی از غشاهای زیستی غنی از لیپید و در نهایت ورود به خون موثر است (Vadnere & Usman, 2021; Yin *et al.*, 2022). در آماده‌سازی فایتوزوم، عصاره گیاهی استاندارد یا ترکیبات فعال گیاهی با فسفولیپیدها (عمدتاً فسفاتیدیل کولین) ترکیب می‌شوند. نسبت مولی بهینه برای این واکنش ۱:۱ یا ۲:۱ (فسفولیپید: زیست فعال) گزارش شده است. شکل‌گیری فایتوزوم‌ها بر اساس پیوندهای هیدروژنی بین بخش‌های قطبی فسفولیپیدها (یعنی گروه‌های فسفات) و ماده فعال گیاه است. این ساختارهای شیمیایی شبیه به غشای سلولی بوده و به عنوان سیستم تحویل فیتولیپیدی درنظر گرفته می‌شوند (Assadpour & Jafari, 2019).

در این تحقیق تاثیر فایتوزومه کردن عصاره چای سبز بر کارایی عصاره چای سبز و همچنین مقایسه آن‌ها با آنتی‌بیوتیک محرک رشد آویلامایسین و ضد کوکسیدوز سالینومایسین بر عملکرد رشد، لاشه و اندام‌های داخلی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های خونی، پاسخ ایمنی و بیان ژن اینترفرون گاما در طحال جوجه های گوشتی در شرایط بدون چالش مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی عصاره و فایتوزوم چای سبز

برگ چای سبز از مزارع شهرستان لاهیجان در استان گیلان، جمع‌آوری، خشک و آسیاب شد. سپس پودر چای سبز به حلال ۷۰ درصد الکل و آب اضافه و به خوبی مخلوط شدند. این ترکیب به مدت ۷ روز در یک مکان تاریک نگهداری و بعد از این مدت از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. در مرحله بعد، به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و محلول صاف شده رویی جمع‌آوری گردید. محلول هیدروالکلی حاصل توسط دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت خشک و به پودر عصاره چای سبز تبدیل شد. پوشش‌دار کردن پودر عصاره چای سبز با استفاده از لیستین سویا و مطابق روش دیریتو و همکاران (Direito et al., 2019) انجام گرفت. برای این منظور حدود ۰/۵ گرم پودر عصاره چای سبز و ۰/۵ گرم فسفاتیدیل کولین در ۰/۵ میلی لیتر کلرومتان حل شد. سپس برای تشکیل کمپلکس، این مخلوط به مدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. کمپلکس حاصله به فلاسک ته گرد انتقال، و با استفاده از اواپراتور تحت خلا تبخیر، تا تمام حلال جدا شده یک لایه نازک اطراف فلاسک تشکیل شود. پس از آن ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه، و فیلم تشکیل شده با آب مقطر، به وسیله روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد هیدراته گردید. در انتها، از هموژنایزر التراسونیک به منظور کاهش اندازه ذرات و تولید سیستم پایدار، به مدت ۷ دقیقه و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

مدیریت پرورش و تیمارهای آزمایشی

تعداد ۳۷۵ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه راس ۳۰۸ (میانگین وزن بدن ۲±۴۴ گرم) در یک طرح آزمایشی کاملاً تصادفی به ۵ تیمار، ۵ تکرار و ۱۵ قطعه پرنده در هر تکرار تقسیم شدند. احتیاجات تغذیه‌ای، دما، رطوبت و نور مطابق شیوه مدیریت پرورش سویه تجاری راس ۳۰۸ در نظر گرفته شد (*Aviagen, 2019*). جیره پایه مبتنی بر ذرت و کنجاله سویا بوده (جدول ۱) و همه پرندگان اجازه دسترسی آزادانه به آب و خوراک را داشتند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره پایه بدون اضافه کردن مکمل‌های آزمایشی (NC) ۲- جیره پایه حاوی ۰/۱ گرم بر کیلوگرم آنتی بیوتیک آویلامایسین (AVI)، ۳- جیره پایه حاوی ۰/۶ گرم بر کیلوگرم کوکسیدیواستات سالینومایسین (SAL)، ۴- جیره پایه حاوی ۴۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم عصاره چای سبز (GTE) و ۵- جیره پایه حاوی ۳۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم فایتوزوم عصاره چای سبز (GTP) بودند. تیمارها برای سه دوره پرورش آغازین (۱۰-۱)، رشد (۲۴-۱۱) و پایانی (۴۲-۲۵) و به شکل پلت مصرف شدند.

جدول۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه (مبتنی بر ذرت و کنجاله سویا).

مواد خوراکی(٪)	آغازین	رشد	پایانی	آنالیز	آغازین	رشد	پایانی
ذرت	۳/۵۱	۸/۵۸	۹/۶۳	پروتئین خام(%)	۳۴/۲۳	۸۶/۲۰	۸۹/۱۸
کنجاله سویا	۵/۳۹	۳۵/۰	۳۰/۰	انرژی متابولیسمی(kcal/kg)	۲۸۵۰	۲۹۴۵	۳۰۳۰
کنجاله گلوتن ذرت	۳/۰	۰۳/۱	۷۳/۰	لیزین(%)	۳/۱	۱۷/۱	۰۷/۱
روغن سویا	۴۰/۱	۰۱/۱	۴۷/۱	متیونین(%)	۶۴۹/۰	۶۰۷/۰	۵۵۷/۰
فسفات دی-کلسیم	۹۳/۱	۴۲/۱	۳/۱	متیونین+سیستئین(%)	۹۵/۰	۸۶۹/۰	۸/۰
صدف	۴۷/۰	۴۸/۰	۵/۰	ترئونین(%)	۸۷۱/۰	۷۷/۰	۶۸۱/۰
بنتونیت	۰	۱۵/۰	۱۵/۰	تریپتوفان(%)	۲۴۷/۰	۲۲۹/۰	۲۰۵/۰
نمک	۳/۰	۲/۰	۲/۰	آرژنین(%)	۳۸/۱	۲۴۹/۱	۱۰۶/۱
بیکربنات سدیم	۱۳/۰	۱/۰	۱/۰	ایزولوسین(%)	۸۷۱/۰	۷۷۹/۰	۷۰۱/۰
لیزین سولفات	۴۵/۰	۴/۰	۴۱.۰	لوسین(%)	۸۴۱/۱	۵۸۴/۱	۴۵۶/۱
هیدروکسی آنالوگ متیونین	۳۹/۰	۳۵/۰	۳۱/۰	والین(%)	۱	۹۱۳/۰	۸۳۵/۰
ال-ترئونین	۱۳/۰	۱۰/۰	۱۰/۰	کلسیم(%)	۹۶/۰	۸۷/۰	۸۲/۰
سولفات سدیم	۰۵/۰	۰۳۵/۰	۰۳۵/۰	فسفر قابل دسترس(%)	۴۸/۰	۴۳۵/۰	۴۱/۰
کولین کلراید	۰۶/۰	۰۶/۰	۰۵۱/۰	فیبرخام(%)	۹۸/۲	۹۳/۲	۸۲/۲
ال- والین	۰۵/۰	۰۵۵/۰	۰۵۵/۰				
ال-آرژنین	۰۱۵/۰	۰۱/۰	۰				
توکسین بایندر	۳/۰	۳/۰	۳/۰				
آنزیم فیتاز	۰۰۱/۰	۰۰۱/۰	۰۰۱/۰				
پرمیکس [۱]	۵/۰	۵/۰	۴۵/۰				

۱. پرمیکس حاوی: ۱۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A (رتینول)؛ ۵۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3؛ ۸۰ واحد بین المللی ویتامین E (استات توکوفرول)؛ ۳/۲ میلی گرم ویتامین K3؛ ۳ میلی گرم تیامین؛ ۸/۶ میلی گرم ریبوفلاوین؛ ۴/۳ میلی گرم پریدوکسین؛ ۰/۰۱۷ میلی گرم ویتامین B12 (سیانوکوبالامین)؛ ۶۵ میلی گرم نیاسین؛ ۲/۲ میلی گرم اسیدفولیک؛ ۰/۲۲ میلی گرم بیوتین؛ ۲۰ میلی گرم اسید پانتوتنیک؛ ۱۷۰۰ میلی گرم کولین کلراید؛ ۱۱۰ میلی گرم روی، ۱۲۰ میلی گرم منگنز؛ ۲۰ میلی گرم آهن؛ ۱۶ میلی گرم مس؛ ۱/۲۵ میلی گرم ید و ۰/۳ میلی گرم سلنیوم بود.

سنجش عملکرد رشد، لاشه و اندام‌های داخلی

وزن بدن و مصرف خوراک هر قفس به صورت هفتگی تعیین و با درنظر گرفتن تعداد و وزن تلفات ثبت شد. افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل هفتگی هر پرنده محاسبه شد. در انتهای دوره (روز ۴۲)، ۲ پرنده از هر تکرار، وزن و ذبح شده و درصد لاشه و همچنین سینه، ران و ساق، پد چربی و اندام‌های داخلی کبد، سنگدان، لوزالمعده، بورس و طحال به صورت نسبتی از وزن زنده بدن اندازه‌گیری شد.

شمارش باکتری‌های ایلئوم

در روز کشتار، از هر تکرار یک قطعه از ایلئوم در شرایط استریل و دمای کمتر از ۵ درجه سانتی‌گراد جهت شمارش جمعیت میکروبی (لاکتوباسیلوس و اشرشیاکلی) به آزمایشگاه منتقل شد. یک گرم نمونه محتویات ایلئوم در لوله آزمایش حاوی نه میلی لیتر بافر نمکی فسفات استریل اضافه و به مدت سه دقیقه ورتکس شد. سپس رقیق‌سازی تا 10^{-7} تکرار شد. جهت کشت نمونه‌ها ۲۰۰ میکرولیتر از هر یک از 10^{-5}، 10^{-6}، 10^{-7} برداشته و به محیط کشت اضافه شد. نمونه‌های مربوط به باکتری اشرشیاکلی به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در محیط کشت MRS آگار و نمونه‌های مربوط به به باکتری لاکتوباسیلوس به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و شرایط بی‌هوازی در محیط کشت Mac Conkey انکوباسیون شدند. پس از این مرحله تعداد کلنی‌ها مورد شمارش قرار گرفتند و سپس کلنی‌های مربوط به هر محیط کشت در فاکتور رقت (معکوس ضریب رقت) ضرب و به عنوان شمارش CFU در یک گرم نمونه منظور و به شکل $\log_{10}$ گزارش شدند.

ارزیابی پاسخ ایمنی، خون‌شناسی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی

در روزهای ۱۲ و ۲۹، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۲۵ درصد گلبول قرمز گوسفندی در محلول بافر فسفات به وسیله سرنگ انسولین به عضله سینه جوجه‌ها تزریق شد. خونگیری از جوجه‌ها جهت اندازه‌گیری پاسخ ایمنی خونی، در روزهای ۲۸، ۳۵ و ۴۲ پرورش انجام گرفت. پلاسمای نمونه‌های خون به کمک سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جدا، و نمونه‌ها تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. نمونه‌های پلاسما برای تعیین تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز به آزمایشگاه ارسال شدند. برای تعیین تیتر پاسخ کل (IgM+IgG) از روش هماگلوتیناسیون غلظت آنتی‌بادی تولید شده ضد SRBC استفاده شد. برای اندازه‌گیری IgG از IgM که هر دو از اجزای پاسخ SRBC هستند با جداسازی آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتواتانول، IgG و کسر این مقدار از پاسخ کل آنتی‌بادی حساس به مرکاپتواتانول که معرف IgM می‌باشد، بدست آمد. به منظور اندازه‌گیری نیتریک اکسید (NO) و مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در ۳۵ روزگی از ورید[۲]زیر بال ۲ نمونه از هر تکرار، ۲ میلی‌لیتر خون در لوله‌های حاوی ضدانعقاد EDTA تهیه و پلاسمای خون با روش بیان‌شده، جداسازی و نیتریک اکسید پلاسما با استفاده از کیت سنجش نیتریک اکسید (Natrix , Navand Salamat) و میزان مالون‌دی‌آلدهید پلاسما با استفاده از کیت سنجش (Nalondi, Navand Salamat) اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین فراسنجه‌های خونی در ۴۲ روزگی، از هر تکرار، ۲ پرنده به طور تصادفی انتخاب و خونگیری از ورید زیر بال انجام، و در لوله‌های بدون ماده انعقاد برای تعیین غلظت سرمی تری‌گلیسیرید (TG)، کلسترول تام (TC)، کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C) و کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL-C) با اسافاده از دستگاه اتوماتیک آنالایزر بیوشیمیایی، مورد سنجش قرار گرفت. همچنین، ۲ میلی‌لیتر خون هر نمونه در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA به آزمایشگاه ارسال و پس از تهیه گسترش خونی با روش رنگ‌آمیزی گیمسا شمارش تقریبی گلبول‌های سفید انجام شد.

سنجش بیان ژن اینترفرون گاما

در پایان آزمایش (۴۲ روزگی)، نمونه طحال از هر تکرار یه قطعه پرنده، مربوط به دو گروه مصرف کننده فایتوزوم محتوی عصاره چای سبز و عصاره چای سبز معمولی در تانک ازت با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه ارسال گردید. RNA با استفاده از کیت استخراج سیناکلون از طحال استخراج شد. ارزیابی کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با روش الکتروفورز روی ژل آگارز و نانودراپ انجام گرفت. سپس، RNA کل با استفاده از کیت‌های معرف سیناکلون به cDNA رونویسی معکوس شد. آغازگرها با استفاده از نرم افزار primer premier 5 طراحی و توسط شرکت سیناکلون (ایران) ساخته شد. توالی آغازگر ژن *IFN-γ* در طحال در جدول (۲) ارایه شده است. سطوح بیان ژن با استفاده SYBR Blue HS-qPCR mix real time PCR مطابق دستورالعمل تعیین گردید. تمام اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام و مقادیر میانگین محاسبه شدند.

جدول ۲. توالی پرایمر استفاده شده در واکنش زنجیره ای پلیمراز در زمان واقعی (PCR)

نام ژن	پیشرو	معکوس
IFN-γ	5'-AGCTGACGGTGGACCTATTATT-3'	5'-GGCTTTGCGCTGGATTC-3'
GAPDH	5'-GGTGGTGCTAAGCGTGTTAT-3'	5'-ACCTCTGTCATCTCTCCACA-3'

1Nitric oxide
2Malondialdehyde

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Graph Pad Prism 8.4 انجام گرفت. در ابتدا، نرمال بودن داده ها با آزمون دآگوستینو ارزیابی و در صورت نرمال بودن[1] داده‌ها، از تجزیه واریانس یک طرفه با آزمون مقایسه‌های چندگانه میانگین توکی به منظور بررسی تفاوت تیمارها استفاده شد. اگر فرض نرمال بودن داده‌ها برقرار نبود، آزمون ناپارامتریک کروسکال-والیس با آزمون مقایسه‌های چندگانه دان اجرا شد. مقدار P<۰/۰۵ از نظر[2] آماری معنی‌دار فرض شد.

نتایج

عملکرد رشد

اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی در جدول (۳) ارایه شده است. در مقایسه با شاهد، مکمل‌های افزودنی منجر به افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن و تغییر ضریب تبدیل خوراک در کل دوره (۴۲-۱ روز) نشدند. زنده‌مانی تحت‌تاثیر مکمل‌های افزودنی قرار نگرفته و به طور متوسط ۹۸/۵درصد بود.

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی بر خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره های مختلف پرورش

دوره سنی (روز)	تیمارهای آزمایشی					SEM	*P-VALUE*
	NC	AVI	SAL	GTE	GTP		
AFI (g/b/d)							
۷-۱	۷۰/۲۰	۴۶/۲۱	۸۶/۱۹	۹۲/۲۰	۵۶/۲۰	۶۳/۰	۱۹/۰
۱۴-۷	۶۲/۵۵	۰۶/۵۸	۷۶/۵۶	۶۷/۵۸	۰۸/۵۶	۲۸/۱	۱۳/۰
۲۱-۱۴	۵۸/۹۳	۳۶/۹۵	۹۸/۹۳	۹۴/۹۶	۰۸/۹۵	۶۱/۲	۷۳/۰
۲۸-۲۱	۹۰/۱۴۷	۹۸/۱۴۶	۲۸/۱۴۶	۹۶/۱۵۰	۳۸/۱۴۸	۸۵/۵	۹۴/۰
۳۵-۲۸	۷۲/۱۷۵	۸۸/۱۷۴	۹۲/۱۸۲	۴۴/۱۸۱	۴۰/۱۷۵	۳۱/۵	۴۲/۰
۴۲-۳۵	۰۱/۲۰۷	۰۲/۲۰۷	۸۹/۲۰۹	۲۲/۲۰۵	۲۲/۲۱۵	۰۰/۷	۶۵/۰
۴۲-۱	۸۶/۱۱۱	۳۸/۱۱۲	۳۰/۱۱۳	۱۲/۱۱۴	۳۴/۱۱۳	۶۱/۲	۹۲/۰
ABWG (g/b/d)							
۷-۱	۱۸/۲۱	۹۲/۲۱	۵۶/۲۰	۴۰/۲۱	۶۶/۲۰	۷۴/۰	۳۷/۰
۱۴-۷	۱۸/۴۴	۵۰/۴۵	۰۲/۴۵	۳۴/۴۶	۳۴/۴۴	۸۲/۰	۰۹/۰
۲۱-۱۴	۳۸/۶۸	۱۸/۶۹	۴۴/۶۸	۰۰/۷۲	۷۰/۶۹	۷۸/۲	۶۵/۰
۲۸-۲۱	۳۴/۱۰۱	۹۲/۱۰۴	۴۶/۱۰۱	۳۰/۱۰۶	۹۲/۱۰۴	۵۸/۴	۷۷/۰
۳۵-۲۸	۰۱/۱۱۶	۵۴/۱۱۵	۹۲/۱۲۱	۱۲/۱۱۷	۹۸/۱۱۳	۹۱/۳	۳۴/۰
۴۲-۳۵	۱۲/۱۲۳	۰۲/۱۲۲	۸۰/۱۲۰	۳۴/۱۱۹	۶۰/۱۱۴	۶۹/۶	۷۴/۰
۴۲-۱	۴۰/۷۶	۰۰/۷۸	۸۲/۷۷	۱۰/۷۸	۰۶/۷۸	۸۵/۱	۸۷/۰
FCR (g/g)							
۷-۱	۹۸/۰	۹۸/۰	۹۷/۰	۹۸/۰	۹۹/۰	۰۲/۰	۷۱/۰
۱۴-۷	۲۸/۱	۲۶/۱	۲۶/۱	۲۴/۱	۲۸/۱	۰۲/۰	۲۰/۰
۲۱-۱۴	۳۷/۱	۳۸/۱	۳۷/۱	۳۵/۱	۳۷/۱	۰۳/۰	۸۰/۰
۲۸-۲۱	۴۶/۱	۴۰/۱	۴۴/۱	۴۲/۱	۴۳/۱	۰۲/۰	۱۵/۰
۳۵-۲۸	۵۲/۱	۵۲/۱	۵۰/۱	۵۵/۱	۵۴/۱	۰۲/۰	۴۳/۰
۴۲-۳۵	۷۵/۱	۷۰/۱	۷۴/۱	۷۲/۱	۶۸/۱	۰۵/۰	۶۰/۰
۴۲-۱	۴۶/۱	۴۴/۱	۴۶/۱	۴۶/۱	۴۵/۱	۰۱/۰	۴۸/۰

کلمات اختصاری: AFI، متوسط خوراک مصرفی؛ ABWG، متوسط افزایش وزن بدن؛ FCR، ضریب تبدیل خوراک؛ NC، جیره پایه (کنترل منفی)؛ AVI، جیره پایه محتوی ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم آویلامایسین؛ SAL، جیره پایه محتوی ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم سالینومایسین؛ GTE، جیره پایه محتوی ۴۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم عصاره چای سبز؛ GTP، جیره پایه محتوی ۳۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم فایتوزوم چای سبز.
SEM، خطای استاندارد میانگین ها

1 D'Agostino-Pearson test
2Kruskal–Wallis
3Dunn’s multiple comparisons test

لاشه و اندام های داخلی

اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی بر حسب درصدی از وزن زنده در جدول (۴) گزارش شده‌است. تفاوتی بین تیمارها از نظر درصد لاشه، سینه و ران و همچنین در وزن نسبی اندام‌های داخلی شامل کبد، پانکراس، بورس، طحال، سنگدان و چربی شکمی به دست نیامد.

جدول ۴. اثر تیمارهای آزمایشی بر لاشه و وزن اندام‌های داخلی (درصدی از وزن زنده بدن) جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی.

	تیمارهای آزمایشی						
موارد	NC	AVI	SAL	GTE	GTP	SEM	*P-Value*
لاشه(%)	۹/۶۴	۵/۶۵	۹/۶۴	۲/۶۴	۱/۶۶	۲۸۸/۰	۳۳/۰
سینه(%)	۰/۲۷	۵/۲۷	۸/۲۶	۲/۲۶	۹/۲۷	۲۰۶/۰	۵۷/۰
ران و ساق(%)	۵/۱۹	۰/۲۰	۴/۱۹	۸/۱۹	۳/۱۹	۳۳۰/۰	۸۴/۰
پد چربی(%)	۲۱/۱	۰۱/۱	۱۱/۱	۲۳/۱	۱۴/۱	۰۴۹/۰	۷۰/۰
کبد(%)	۳۳/۲	۲۱/۲	۴۴/۲	۲۲/۲	۳۷/۲	۰۵۵/۰	۶۹/۰
سنگدان(%)	۸۱۵/۰	۸۷۸/۰	۹۶۶/۰	۹۷۲/۰	۹۹۷/۰	۰۲۶/۰	۰۷/۰
طحال(%)	۱۰۲/۰	۱۲۲/۰	۱۰۷/۰	۱۱۳/۰	۰۸۹/۰	۰۰۵/۰	۴۶/۰
بورس(%)	۱۱۹/۰	۱۶۶/۰	۱۳۷/۰	۱۶۴/۰	۱۲۸/۰	۰۰۸/۰	۲۵/۰
پانکراس(%)	۱۷۱/۰	۱۷۵/۰	۱۸۵/۰	۱۸۹/۰	۱۸۳/۰	۰۰۶/۰	۹۱/۰

کلمات اختصاری: NC، جیره پایه (کنترل منفی)؛ AVI، جیره پایه محتوی ۰/۱ گرم بر کیلوگرم آویلامایسین؛ SAL، جیره پایه محتوی ۰/۶ گرم بر کیلوگرم سالینومایسین؛ GTE، جیره پایه محتوی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره چای سبز؛ GTP، جیره پایه محتوی ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فایتوزوم چای سبز. SEM، خطای استاندارد میانگین ها

لیپیدهای سرم، وضعیت آنتی اکسیدانی و فراسنجه های خون شناسی

اثر تیمارهای آزمایش بر لیپیدهای سرم، وضعیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما و تنوع سلول‌های سفید خون در جدول (۵) آورده شده است. عصاره چای سبز خالص و شکل فایتوزوم آن، تری‌گلیسرید خون را در مقایسه با آویلامایسین و سالینومایسین کاهش دادند ($P <$ ۰/۰۵). همچنین، تفاوت معنی‌داری بین شکل استفاده از چای سبز با مقدار عصاره ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم فایتوزوم آن وجود نداشت. تفاوت معنی‌داری بین دو گروه آویلامایسین و سالینومایسین مشاهده نشد و در مجموع دو تیمار محتوی این دو مکمل‌ها موجب افزایش تری‌گلسیرید خون شدند. در مورد کلسترول کل و کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) سرم، هیچ تفاوتی بین گروه‌ها مشاهده نشد ($P <$ ۰/۰۵). لیپوپروتئین با چگالی پایین سرم خون AVI و SAL با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت، اما مکمل چای سبز به طور معنی‌داری کلسترول لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) سرم را کاهش داد ($P <$ ۰/۰۵). تفاوت میزان نیتریک اکسید سرم بین تیمارهای آزمایشی معنی‌داری به دست نیامد. غلظت سرمی MDA، در پرندگانی که فایتوزوم محتوی عصاره چای سبز را دریافت کردند به طور معنی دار کمتر از پرندگان مربوط به تیمارهای شاهد و و آویلامایسین بود ($P <$ ۰/۰۵).

جدول ۵. اثر تیمارهای آزمایشی بر لیپیدهای سرم، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و سلول‌های سفید خون در جوجه گوشتی.

صفت	تیمارهای آزمایشی					SEM	P-Value
	NC	AVI	SAL	GTE	GTP		
TG, mmol/L	^{ab}۲۰/۷۸	^{a}۰/۱۱۶	^{a}۰/۱۱۳	^{b}۴۰/۶۱	^{b}۲۰/۵۲	۳۳/۱۴	۰۰۰۴/۰
TC, mmol/L	۲/۱۵۰	۸/۱۵۹	۲/۱۵۶	۶/۱۳۸	۴/۱۴۵	۹۴/۱۰	۳۴/۰
HDL-C, mmol/L	۲۰/۵۶	۶۰/۶۱	۲۰/۶۲	۶۰/۶۲	۴۰/۶۵	۹۱/۳	۲۵/۰
LDL-C, mmol/L	^{a}۳۶/۷۸	^{a}۲۸/۸۳	^{ab}۶۸/۷۵	^{bc}۰۴/۵۷	^{c}۹۴/۴۸	۰۸/۷	۰۰۰۳/۰
MDA (nmol/mL)	^{ab}۵۱/۴	^{a}۰۶/۵	^{abc}۷۹/۳	^{cb}۵۴/۳	^{c}۸/۲	۴۸/۰	۰۰۱/۰
NO (µm)*	۷۰/۳۰	۵۰/۲۱	۸۰/۲۶	۰۵/۲۸	۴۵/۲۰	-	۴۵۰/۰
اثوزینوفیل* (%)	۶۰/۰	۲۰/۰	۱	۴۰.۱	۱	-	۱۸/۰
لنفوسیت(%)	۸۰/۵۲	۸۰/۵۴	۶۰/۵۵	۰۰/۵۸	۸۰/۶۰	۱۰/۴	۳۷/۰
هتروفیل(%)	۴۰/۴۴	۸۰/۴۲	۸۰/۴۰	۲۰/۳۷	۸۰/۳۵	۳۳/۴	۲۶/۰
مونوسیت* (%)	۲۰/۲	۲۰/۲	۶۰/۲	۳/۰	۴۰/۲	-	۰/۶۲
هتروفیل/لنفوسیت	۸۵/۰	۷۵/۰	۷۵/۰	۶۵/۰	۶۳/۰	۱۲/۰	۳۵/۰

کلمات اختصاری:TG، تری گلیسیرید؛TC ، کلسترول کل؛HDL-C ، کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا؛LDL-C، کلسترول لیپوپروتئین با چگالی پایین؛MDA ، مالون دی آلدهید؛NO ، نیتریک اکسید؛ NC، جیره پایه (کنترل منفی)؛ AVI، جیره پایه محتوی ۰/۱ گرم بر کیلوگرم آویلامایسین؛ SAL، جیره پایه محتوی ۰/۶ گرم بر کیلوگرم سالینومایسین؛ GTE، جیره پایه محتوی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره چای سبز؛ GTP، جیره پایه محتوی ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فایتوزوم چای سبز.

SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها

* آزمون ناپارامتریک کروسکال–والیس انجام شد.

$^{a, b, c}$ میانگین‌ها در یک ردیف با حروف غیر مشابه تفاوت معنی‌داری دارد (P <۰/۰۵).

پاسخ آنتی‌بادی‌های ایمنی

اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ آنتی‌بادی‌های ایمنی در جدول (۶) آورده شده است. پاسخ‌های ایمنی در ۲۸ روزگی در مکمل فایتوزوم چای سبز به طور معنی‌داری افزایش یافت، اگرچه این افزایش در مقایسه با گروه‌های شاهد، آویلامایسین و سالینومایسین معنی‌دار نبود، اما تفاوت زیادی با عصاره چای سبز خالص نشان داد (P<۰/۰۵). در ۳۵ روزگی و ۴۲ روزگی این تفاوت معنی‌دار نبود.

جدول ۶. اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ آنتی بادی بر علیه SRBC جوجه‌های گوشتی در ۲۸،۳۵ و ۴۲ روزگی.

موارد*	تیمارهای آزمایشی					SEM	P-Value
	NC	AVI	SAL	GTE	GTP		
۲۸ روزگی							
SRBC (log2)	^{ab}۱۰/۳	^{ab}۸۰/۲	^{ab}۰۰/۳	^{a}۵۰/۱	^{b}۶۰/۴	-	۰۰۰۲/۰
IgG (log2)	^{ab}۶۰/۱	^{ab}۳۰/۱	^{ab}۶۰/۱	^{a}۵۰/۰	^{b}۷۰/۲	-	۰۰۲۱/۰
IgM (log2)	^{ab}۵۰/۱	^{ab}۵۰/۱	^{ab}۴۰/۱	^{a}۰۰/۱	^{b}۹۰/۱	-	۰۴۱۶/۰
۳۵ روزگی							
SRBC (log2)	۸۰/۵	۰۰/۷	۵۰/۶	۷۰/۶	۷۰/۵	-	۶۷/۰
IgG (log2)	۵۰/۳	۵۰/۴	۶۰/۳	۸۰/۲	۱۰/۳	-	۳۱/۰
IgM (log2)	۳۰/۲	۵۰/۲	۹۰/۲	۹۰/۳	۶۰/۲	-	۱۶/۰
۴۲ روزگی							
SRBC (log2)	۰۰/۳	۵۰/۲	۳۰/۲	۱۰/۲	۵۰/۲	-	۹۰/۰
IgG (log2)	۴۰/۱	۲۰/۱	۱۰/۱	۰۰/۱	۰۰/۱	-	۱۶/۰
IgM (log2)	۶۰/۱	۳۰/۱	۲۰/۱	۱۰/۱	۵۰/۱	-	۹۲/۰

کلمات اختصاری: SRBC، سلول های قرمز خون گوسفندی؛ IgG، ایمونوگلوبولین G؛ IgM، ایمونوگلوبولین M؛ NC، جیره پایه (کنترل منفی)؛ AVI، جیره پایه محتوی ۰/۱ گرم بر کیلوگرم آویلامایسین؛ SAL، جیره پایه محتوی ۰/۶ گرم بر کیلوگرم سالینومایسین؛ GTE، جیره پایه محتوی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره چای سبز؛ GTP، جیره پایه محتوی ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فایتوزوم چای سبز.

SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها

* آزمون ناپارامتریک کروسکال–والیس انجام شد.

$^{a, b, c}$ میانگین‌ها در یک ردیف با حروف غیر مشابه تفاوت معنی‌داری دارد (P <۰/۰۵).

شمارش باکتریایی ایلئوم

اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر جمعیت میکروبی ایلئوم در جدول (۸) ارایه شده است. عصاره چای سبز و شکل فایتوزوم آن موجب کاهش جمعیت اشرشیاکلی در مقایسه با آویلامایسین شد (P<۰/۰۵). بین استفاده از عصاره خالص و فایتوزوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین، استفاده از چای سبز جمعیت لاکتوباسیل‌های ایلئوم را در مقایسه با سالینومایسین افزایش داد (P<۰/۰۵).

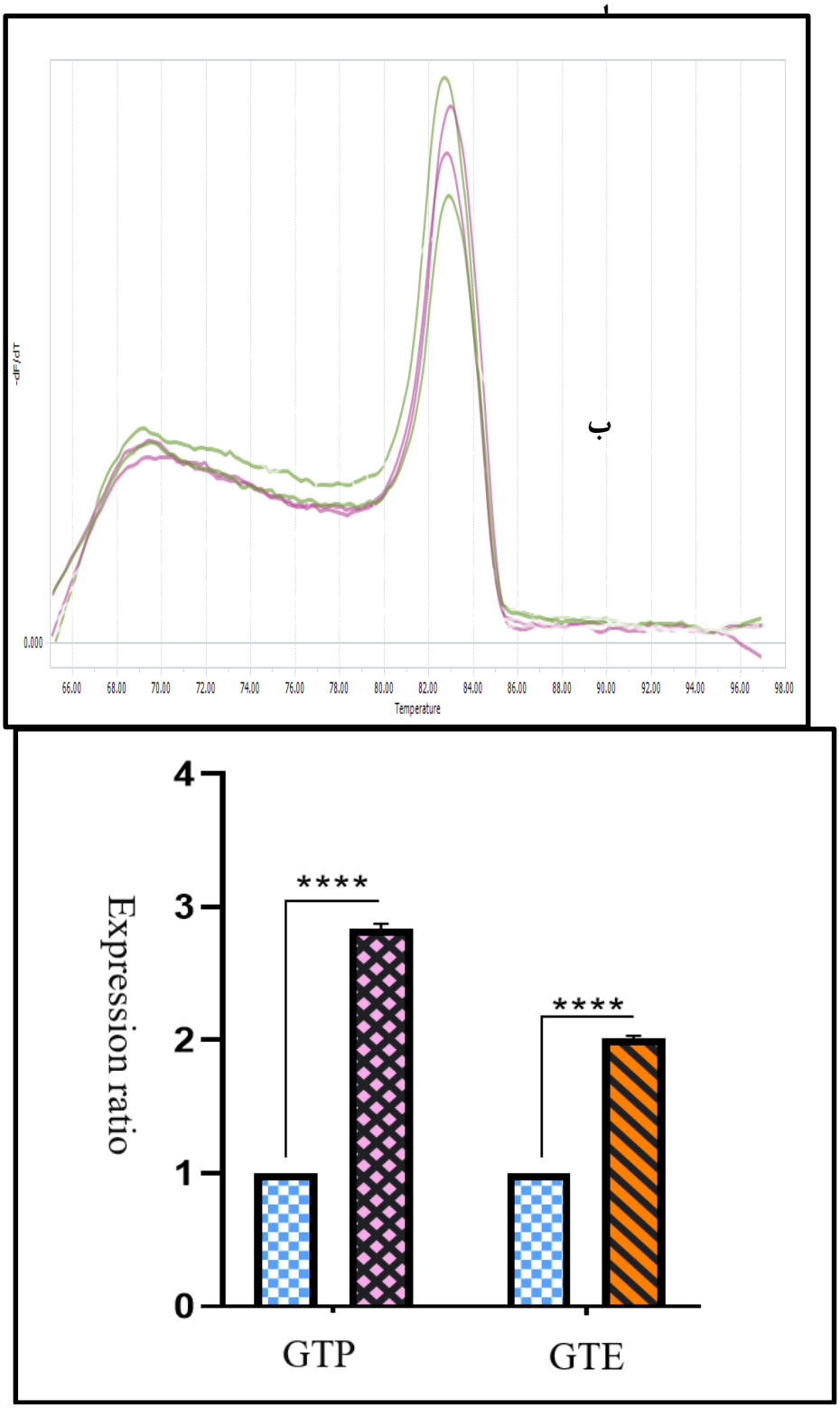
جدول ۸. اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه های گوشتی در ۴۲ روزگی.

موارد	تیمارهای آزمایشی					SEM	P-Value
	NC	AVI	SAL	GTE	GTP		
Escherichia coli, lg (CFU/g)	^{ab}۲۸/۷	^{a}۸۵/۷	^{ab}۳۸/۷	^{b}۸۲/۶	^{b}۷۵/۶	۳۱/۰	۰۱۲/۰
Lactobacillus, lg (CFU/g)	^{ab}۸۸/۷	^{ab}۸۳/۷	^{b}۶۲/۷	^{a}۲۵/۸	^{a}۳۱/۸	۱۹/۰	۰۰۶/۰

کلمات اختصاری: NC، جیره پایه (کنترل منفی)؛ AVI، جیره پایه محتوی ۰/۱ گرم بر کیلوگرم آویلامایسین؛ SAL، جیره پایه محتوی ۰/۶ گرم بر کیلوگرم سالینومایسین؛ GTE، جیره پایه محتوی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره چای سبز؛ GTP، جیره پایه محتوی ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فایتوزوم چای سبز.
SEM، خطای استاندارد میانگین‌ها
$^{a, b, c}$ میانگین‌ها در یک ردیف با حروف غیر مشابه تفاوت معنی‌داری دارد (P <۰/۰۵).

بیان ژن اینترفرون گاما

شکل (۱) سطح بیان نسبی ژن اینترفرون- گاما (*IFN-γ*) در نمونه‌های طحال جمع‌آوری‌شده از جوجه های گوشتی در دو تیمار عصاره چای سبز و فایتوزوم محتوی عصاره چای سبز را نشان می‌دهد. عصاره چای سبز و شکل فایتوزوم آن موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن *IFN-γ* در طحال جوجه گوشتی شد (P<۰/۰۵).



شکل ۱. الف، بیان ژن انترفرون گاما (*IFN-γ*) در طحال؛ و ب، آنالیز منحنی ذوب PCR در جوجه های گوشتی تغذیه شده با مکمل GTE و GTP در ۴۲ روزگی.

کلمات اختصاری: GTE، جیره پایه محتوی ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره چای سبز؛ GTP، جیره پایه محتوی ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فایتوزوم چای سبز.

بحث

مصرف ۴۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم و ۳۰۰ میلی‌گرم فایتوزوم چای سبز، آویلامایسین و سالینومایسین اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در کل دوره آزمایش نداشت. نتایج مطالعات مختلف (Abd El-Hack *et al.*, 2020) و (Seidavi *et al.*, 2020) ناظر بر اثر چای سبز، اعم از کاهش یا افزایش روی عملکرد رشد بوده و علت نتایج متناقض را به منبع چای سبز، شکل استفاده (پودر، عصاره و یا کپسول) ، مقدار مصرف و غلظت ماده موثره چای سبز مرتبط دانسته‌اند. مصرف ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد آویلاماسین بر وزن بدن، افزایش وزن زنده، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک اثر معنی‌داری نداشت. اما سطح ۰/۱ درصد استفاده از آویلامایسین تمام شاخص‌های رشد را بهبود بخشید (Gurbuz *et al.*, 2019). استفاده از ۰/۱ گرم بر کیلوگرم آویلامایسین در جیره در شرایط چالش با کلستریدیوم پرفرنجنس موجب بهبود تمام پارامترهای رشد و زنده‌مانی شد (Elsayed *et al.*, 2020). استفاده از ۰/۰۱ درصد آویلامایسین در مقایسه با گروه شاهد موجب افزایش معنی دار وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل خوراک در کل دوره پرورش (۴۲-۱روز) شد (Nemati *et al.*, 2021). استفاده از ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سالینومایسین بر بهبود عملکرد رشد در مقایسه با گروه کنترل در شرایط بدون چالش اثر معنی داری نداشت (Trela *et al.*, 2020). همچنین در مطالعه (Rostami *et al.*, 2021) استفاده از ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم سالینومایسین در مقایسه با مکمل عصاره گیاهی تشنه‌داری (Scrophularia striata) و در شرایط چالش کوکسیدیوز بر پارامترهای رشد افزایش معنی داری ایجاد نکرد.

در این آزمایش هیچ یک از تیمارها اثر معنی داری بر درصد لاشه، سینه، ران چربی شکمی و اندام‌های داخلی کبد، سنگدان، طحال، بورس و پانکراس نداشتند. در پژوهش (Jelveh *et al.*, 2018) با مقادیر مکمل ۴۰-۱۰ گرم بر کیلوگرم عصاره چای سبز نیز تفاوت معنی داری بر شاخص‌های درصد لاشه، سینه، ران، کبد و سنگدان گزارش نشد. همچنین، در مطالعه (Gurbuz *et al.*, 2019) نتیجه گرفتند آویلامایسین بر درصد لاشه و چربی شکمی تاثیر معنی‌داری نداشته اما، استفاده از ترکیب گیاهی اسانس‌های پونه کوهی، بادیان و مرکبات بر عملکرد رشد موثر است. در این مطالعه، اثر معنی‌داری بر عملکرد رشد و لاشه مشاهده نشد، عدم اثرات مثبت بر عملکرد رشد و لاشه به دلیل گنجاندن محرک‌های رشد افزودنی را می‌توان به استفاده از جیره‌هایی با قابلیت هضم بالا، عدم چالش بیماری و/یا شرایط پرورش جوجه‌ها نسبت داد. در محیط‌های غیر آلوده، این شرایط ممکن است به نفع اثر محرک‌های رشد در خوراک آزمایشی نباشد (Farhat et al., 2016).

تری‌گلیسیرید سرم و کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) در جوجه‌های گوشتی که روزانه از عصاره چای سبز به میزان ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و یا از۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم فایتوزوم عصاره چای سبز تغذیه شدند، به طور معنی داری کاهش یافت، اما در کلسترول کل و کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) تغییر معنی داری حاصل نگردید. اثر کاهشی چای سبز بر تری‌گلیسرید و میزان کلسترول با لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (LDL) خون توسط محققان دیگر نیز گزارش شده (Jelveh *et al.*, 2022; Mohammadpour *et al.*, 2021, Harun-Or-Rashid *et al.*, 2020) که با نتایج این بررسی مطابقت دارد. در مقابل، در مطالعه (Farahat *et al.*, 2016) با مقادیر ۲۰۰۰ -۱۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده از عصاره چای سبز تفاوت معنی‌داری در شاخص های چربی خون مشاهده نشد که دلیل آن ممکن است ناشی ازمقادیر مصرف و شکل مصرف چای سبز در این بررسی‌ها باشد. اثر مثبت پلی‌فنول‌ها بر متابولیسم چربی‌ها از طریق مسیرهای مختلفی انجام می‌شود: ۱) افزایش سطح آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) با غیرفعال کردن فسفودی استراز، برای طولانی کردن لیپولیز در سلول‌های چربی. ۲) مهار گیرنده انسولین و پروتئین پیوندی عنصر تنظیمی استرول (SREBP-1) در نتیجه سرکوب لیپوپروتئین لیپاز (LPL)، استیل کوآکربوکسیلاز (ACC)، جذب گلوکز و سنتز اسیدهای چرب، و کاهش جذب اسیدهای چرب و تجمع چربی در بافت. ۳) در سطح ترانسکریپتوم، افزایش بیان mRNA کاسپاز ۳ (Caspase 3) و کاهش بیان گامای فعال شده با تکثیرکننده پراکسیزوم (PPARγ)، به ترتیب منجر به آپوپتوز سلول‌های چربی و مهار چربی‌زایی شده که نتیجه آن

کاهش تعداد سلول‌های چربی شده، می توان از این فرایند اثرات مفیدی چای سبز و عصاره‌های آن بر پروفایل لیپیدی (تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL) را انتظار داشت (Tan et al., 2022).

در این آزمایش، فایتوزوم چای سبز سطح مالون‌دی‌آلدئید سرم خون را کاهش داد. MDA یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در سلول است. افزایش رادیکال‌های آزاد باعث تولید بیش از حد MDA می‌شود. سطح مالون‌دی‌آلدئید معمولاً به عنوان نشانگر استرس اکسیداتیو و وضعیت آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شود (Gaweł *et al.*, 2004). طرز عمل فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیباتی مانند پلی‌فنول چای سبز با خواص کاهشی به عنوان اهداکننده هیدروژن یا الکترون ارتباط دارد که این ترکیبات را به جاذب‌های رادیکال‌های آزاد (آنتی‌اکسیدان) تبدیل می‌کند. رادیکال‌های اکسیژن فعال می‌توانند به سطح مخاط روده حمله کرده و از جذب مواد مغذی جلوگیری کنند، در حالی که آنتی‌اکسیدان نقش حیاتی در خنثی کردن رادیکال‌های اکسیژن فعال دارد و محیط بهتری را در سطح روده حفظ می‌کند (Mahfuz *et al.*, 2021). ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پودر پونه کوهی مقدار MDA سرم جوجه های گوشتی را به طور معنی داری کاهش داد (Ri *et al.*, 2017). کاهش سطح سرمی MDA در مرغ‌های تخمگذار تغذیه شده با پودر برگ خشک آویشن و رزماری به عنوان منبع ترکیبات فنولی در سطح ۰/۹ درصد نیز گزارش شد (Alagawany *et al.*, 2017). در پژوهش (Hassanpour *et al.*, 2010) گزارش شد که استفاده از ۴-۲ درصد پودر چای سبز در جیره، نیتریک اکسید سرم خون را کاهش می‌دهد. اگرچه گروه مکمل فایتوزوم کمترین مقادیر NO را در این آزمایش نشان داد اما در مقایسه با سایر گروه‌ها این تفاوت معنی‌دار نبود که می‌تواند به دلیل مقدار استفاده از چای سبز یا تعداد کم در نمونه‌گیری باشد. گونه‌های فعال نیتروژن (ROS) از جمله اکسید نیتریک (NO)و نیتریت پراکسید(–ONOO) یکی از دلایل مهم استرس هستند. اکسید نیتریک در سلول‌ها با اسید ال–آرژنین به عنوان یک سوبسترا از طریق کاتالیز توسط اکسید نیتروژن سنتاز (NOS) تولید می‌شود و به طور مستقیم سطح استرس اکسیداتیو را نشان می‌دهد. علاوه بر این، NO می‌تواند با اسیدهای چرب اشباع نشده واکنش دهد تا پراکسید لیپیدی (LOO–) و هیدروپراکسید لیپیدی (LOOH) تولید کند که باعث پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به پروتئین و DNA می‌شود. پلی‌فنول‌ها آنتی‌اکسیدآن‌های طبیعی هستند که می‌توانند استرس اکسیداتیو را کاهش دهند و به طور گسترده در گیاهان وجود دارند، بنابراین پتانسیل زیادی برای استفاده به عنوان یک افزودنی جدید در خوراک دارند (Hu *et al.*, 2019).

بر اساس داده‌های گزارش شده در تحقیق حاضر، اثر مثبت چای سبز بر بهبود وضعیت جمعیت باکتریایی ایلئوم نشان داده شد. به دلیل جذب کم، حدود ۹۰ درصد از ترکیبات پلی‌فنول بدون تغییر وارد روده بزرگ می‌شوند. برهمکنش‌های میکروبیوم –پلی‌فنول‌های روده نقش حیاتی در تعادل میکروبیوم روده ایفا نموده و نه تنها موجب تغییر ترکیب باکتریایی روده می‌شوند، بلکه دسترسی زیستی پلی‌فنول‌ها از طریق تبدیل به متابولیت‌های قابل جذب بهبود می‌بخشند (Iqbal *et al.*, 2020). در پژوهش (Jelveh *et al.*, 2022) اثر مثبت چای سبز بر افزایش باکترهای لاکتوباسیل و کاهش باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس وابسته به دوز در شکل مصرف عصاره و پودر چای سبز گزارش شد. گنجاندن ۱۰ گرم بر کیلوگرم پودر چای سبز موجب افزایش گونه‌های باکتری لاکتوباسیل و بیفیدوباکتریوم و کاهش باکتری‌های گونه کلستریدوم و باکتریوئیدها شد (Thomas *et al.*, 2022). در مطالعه (Chen *et al.*, 2019) نیز استفاده از پودر چای سبز به مقدار ۱۰ گرم بر کیلوگرم جیره جمعیت لاکتوباسیل‌ها را افزایش و جمعیت اشرشیاکلی را در ایلئوم و سکوم کاهش داد. نحوه عملکرد ترکیبات فنولی ناشی از ماهیت چربی‌دوست آن‌ها است که می‌تواند در دولایه لیپیدی غشای سلولی باکتری و میتوکندری جمع شده و منجر به اختلال در عملکرد گردد. به علاوه، این ترکیبات می‌توانند نفوذپذیری غشای داخلی باکتری را افزایش، تولید ATP را کاهش و همچنین آنزیم DNA ژیراز[2] را که در سنتز DNA و RNA باکتری نقش دارد، مهار کنند. علاوه بر این، ترکیبات موثره چای سبز باعث هموستاز سلولی شده و با از دست دادن یون‌ها منجر به مرگ سلولی باکتری خواهد شد، زیرا تخریب پروتئین سلولی مسئول مرگ سلولی

1 Reactive Oxygen Species
2 DNA gyrase

باکتریایی است. این نقش ضد میکروبی ترکیبات فنولی به دلیل ساختار آن‌ها است. گروه‌های هیدروکسیل (−OH) در ترکیبات فنولی فعالیت‌های باکتری‌کشی را نشان می‌دهند (Mahfuz *et al.*, 2021). از جنبه دیگر، پلی‌فنول‌ها از یک طرف باکتری‌های بیماری‌زا را سرکوب، و از طرف دیگر با عمل به عنوان پری‌بیوتیک از باکتری‌های مفید حمایت می‌کنند. خواص ضد میکروبی پلی‌فنول‌ها از اهمیت بالایی برخوردار بوده و با سرکوب رشد گونه‌های باکتریایی مضر از تشکیل بیوفیلم در روده جلوگیری می‌کنند (Iqbal *et al.*, 2020). همچنین گزارش شده است که افزودن ال−تیانین، ضمن حمایت از میکروب‌های مفید مانند لاکتوباسیلوس و کاهش میکروب‌های مضر مانند کلستریدیوم، تأثیر مثبتی بر باکتری‌های روده دارد (Saeed *et al.*, 2019). علت تفاوت معنی‌دار چای سبز با آنتی بیوتیک آویلامایسین در کاهش باکتری اشرشیاکلی را می‌توان به دوز مورد استفاده آنتی‌بیوتیک محرک رشد و همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت داد. ترکیبات پلی‌فنولی چای سبز به ویژه کاتچین‌ها در دو لایه فسفولیپیدی غشا قرار گرفته و این احتمال وجود دارد که با ایجاد اختلال در عملکرد فرآیندهای کلیدی مرتبط با غشای سیتوپلاسمی باکتری، بر حدت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی تأثیر بگذارند. علاوه بر این، مکانیسم عمل پلی‌فنول‌ها کاملاً متنوع است و دیواره سلولی، غشای لیپیدی، گیرنده های غشایی و کانال‌های یونی، متابولیت‌های باکتری و تشکیل بیوفیلم را هدف قرار می‌دهند (Álvarez-Martínez et al., 2020).

طبق یافته‌های این تحقیق، فایتوزوم محتوی عصاره چای سبز، اولین پاسخ ایمنی به تزریق گلبول‌های قرمز گوسفندی، ایمنوگلبولین G و ایمنوگلبولین M را به طور معنی‌داری در مقایسه با عصاره چای سبز افزایش داد. پلی‌فنول‌ها از نظر ساختاری با حضور دو یا چند واحد فنول متمایز می‌شوند. وجود گروه‌های هیدروکسیل و پیوندهای دوگانه در حلقه‌های بنزن، اگرچه این ترکیبات را از نظر زیستی فعال کرده است؛ اما به طور قابل توجهی بر جذب، متابولیسم و فعالیت‌های زیستی آن‌ها تأثیر می‌گذارد. جذب ضعیف عمدتاً از دو ویژگی پلی‌فنل‌ها ناشی می‌شود. (۱) ساختار شیمیایی نسبتاً بزرگ پلی‌فنول‌ها که از انتشار غیرفعال آن‌ها جلوگیری می‌کند و (۲) حلالیت ضعیف این محصولات در محیط‌های لیپیدی که عبور آن‌ها از غشای سلولی را به چالش می‌کشد (Yin et al., 2022). بررسی خونی پاسخ ایمنی تزریق دوم و میزان پادتن‌ها در سن ۴۲ روزگی گروه‌های مورد بررسی با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. در پژوهش (Abbas *et al.*, 2017) گزارش شد که پاسخ ایمنی جوجه‌ها در جیره مکمل شده با ۶-۴ درصد چای سبز بعد از اولین تزریق اثر معنی داری نشان نداد، همچنین پاسخ ۷ و ۱۴ روز بعد از تزریق ثانویه با تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. این شرایط برای ایمونوگلبولین G و M هم ایجاد شد. محققین در مطالعه دیگری (Seidavi *et al.*, 2017) اضافه نمودن ۰/۲۵ تا ۱ درصد پودر چای سبز به جیره را در تحریک پاسخ ایمنی اولیه متوسط ارزیابی کردند. آن‌ها نتیجه گرفتند که بیشترین عیار پادتن در پاسخ ثانویه به تیمار فاقد مکمل چای سبز اختصاص دارد. در این مطالعه افزایش معنی‌داری در متوسط عیار آنتی‌بادی ایجاد شده بعد از دومین تزریق مشاهده شد. گزارش شده که پاسخ ایمنی در تزریق دوم سریع و بادوام‌تر است. علت چنین تاثیری این است که سیستم ایمنی بدن می‌تواند برخورد اول با آنتی‌ژن را به خاطر داشته باشد. به این دلیل، واکنش ثانویه را پاسخ آنامنستیک[1] می‌نامند (Tizard, 2012). در پژوهش (Besharati *et al.*, 2014) پاسخ ثانویه بالاتری در استفاده از عصاره استویا نسبت به پاسخ اولیه بدست آمد که با نتایج این بررسی مطابقت دارد. استفاده از سالینومایسین در شرایط بدون چالش اثر معنی‌داری در تیتر آنتی‌بادی G و M ایجاد نکرد (Xue *et al.*, 2017). شیوه اصلی اثر ترکیبات فنولی بر عملکرد سیستم ایمنی، تولید ایمونوگلوبولین و ترشح سیتوکین، افزایش فاگوسیتوز و تقویت آزادسازی اینترفرون گاما است. پلی‌فنول‌ها می‌توانند سلول‌های تک هسته‌ای را فعال کرده و پاسخ فاگوسیتی را با تأثیرگذاری بر مسیرهای سیگنالینگ پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK[2]) و فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-κB[3]) افزایش دهند. پلی‌فنول‌های موجود در چای سبز می‌توانند سلامت روده را با تحریک ایمونوگلوبولین‌ها و همچنین ممانعت از ترشح سیتوکین‌های پیش التهابی بهبود بخشند. علاوه بر این، ترکیبات فنولی می‌توانند بیان بیش از حد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را

1 Anamnestic response
2 Mitogen-activated protein kinase
3 Nuclear factor kappa B

القا کنند که ممکن است التهاب را کاهش دهد. طی یک مطالعه، مکمل حاوی پلی‌فنول چای به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ایمنی مخاطی روده را از طریق افزایش محتوای اینترلوکین۲ (IL-2)، اینترلوکین۱۰ (IL-10) در ژژنوم و ایلئوم و همچنین فعال‌کردن مسیر سیگنالینگ Notch2 در روده کوچک بهبود بخشید (Mahfuz *et al.*, 2021). علاوه بر پلی‌فنول‌ها، اسیدآمینه ال–تیانین موجود در چای سبز پتانسیل تعدیل سیستم ایمنی روده را دارد (Qui *et al.*, 2022).

اینترفرون– گاما یک گلیکوپروتئین محلول با کارایی و فعالیت بالا و یک سیتوکین مهم است که توسط لنفوسیت‌های T (CD4+ یا CD8+) ترشح و آزاد شده، فعالیت سلولی را تنظیم و نقش مهمی در ایمنی سلولی ایفا می‌کند. این فاکتور نه تنها ماکروفاژها، بلکه سلول‌های NK [2] را نیز فعال کرده و یک سیتوکین ضد ویروسی بسیار قوی با اثرات تعدیل‌کننده ایمنی با طیف وسیع است (Schroder *et al.*, 2004). در این مطالعه، فایتوزوم چای سبز بیان ژن IFN-γ mRNA را به طور معنی داری افزایش داد. افزودن برگ سبز چای به دلیل داشتن پلی‌فنول‌ها (به خصوص کاتچین) باعث افزایش معنی‌دار سطح بیان IL-2 و اینترفرون گاما در سرم جوجه‌ها و افزایش معنی‌دار تولید سیتوکین‌های ضدالتهابی می‌شود (Alagawany *et al.*, 2020). اینترفرون گاما با تحریک عمل فاگوسیتوز توسط ماکروفاژها، تنظیم سیتوکین‌های پیش التهابی و القای پروتئین‌هایی با قابلیت اتصال به آهن، دسترسی به آهن مورد نیاز عوامل بیماری‌زا را مهار و آن‌ها را محدود می‌کند (Sheikh Zadeh et al., 2019).

نتیجه گیری

از یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزودن فایتوزوم محتوی عصاره چای سبز منتج به کاهش مصرف افزودنی گیاهی با عملکرد یکسان شده و روش پوشش‌دار کردن مبتنی بر لیپید می‌تواند ضمن حفظ اثرات عصاره گیاهی، مقدار دوز مصرفی را کاهش دهد. همچنین شکل فایتوزوم عصاره چای سبز موجب کاهش تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین با چگالی، بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش بیان ژن اینترفرون گاما در طیور گوشتی می شود.

منابع

نعمتی، محمد حسین؛ الماسی، حسن؛ معصومی، رضا و شهیر، محمد حسین (۲۰۲۱). مقایسه اثر پروبیوتیک‌های داخلی و وارداتی بر عملکرد رشدی، شاخص‌های لیپیدی خون و ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی. *تولیدات دامی*، ۲۳(۳)، ۴۴۷–۴۵۷.

بشارتی، زهرا؛ محمدی، مهرداد؛ روستایی علی مهر، محمد و حمید اوغلی، یوسف (۲۰۱۵). تاثیر عصاره الکلی استویا (*Stevia rebaudiana*) بر عملکرد و پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی. *پژوهشهای تولیدات دامی*، ۶(۱۱)، ۵۹–۵۱.

Aarestrup, F. M., Bager, F., & Andersen, J. S. (2000). Association between the use of avilamycin for growth promotion and the occurrence of resistance among Enterococcus faecium from broilers: Epidemiological study and changes over time. *Microbial Drug Resistance*, *6*(1), 71–75. https://doi.org/10.1089/mdr.2000.6.71

Abbas, A., Iqbal, Z., Abbas, R. Z., Khan, M. K., Khan, J. A., Hussain, K., … Rizwan, H. M. (2017). Immunomodulatory effects of Camellia sinensis against coccidiosis in chickens. *Journal of Animal and Plant Sciences*, *27*(2), 415–421.

Abdel-Moneim, A. M. E., Shehata, A. M., Alzahrani, S. O., Shafi, M. E., Mesalam, N. M., Taha, A. E., … Abd El-Hack, M. E. (2020). The role of polyphenols in poultry nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *104*(6), 1851–1866. https://doi.org/10.1111/jpn.13455

Alagawany, M. (2017). Effect of some phytogenic additives as dietary supplements on performance , egg quality , serum biochemical ... *Indian Journal of Animal Sciences*, *87*(June), 900–905.

Álvarez-Martínez, F. J., Barrajón-Catalán, E., Encinar, J. A., Rodríguez-Díaz, J. C., & Micol, V. (2020). Antimicrobial capacity of plant polyphenols against gram-positive bacteria: A comprehensive review.

1Notch Receptor 2
2Natural killer cell

Current medicinal chemistry, 27(15), 2576-2606.
Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2019). An overview of lipid-based nanostructures for encapsulation of food ingredients. Lipid-based nanostructures for food encapsulation purposes, 1-34.
Aviagen. (2022). Ross 308 broiler: Nutrition specification. Aviagen Limited, Newbridge Midlothian EH28 8SZ, Scotland, UK
Ayalew, H., Zhang, H., Wang, J., Wu, S., Qiu, K., Qi, G., … Chanie, D. (2022). Potential Feed Additives as Antibiotic Alternatives in Broiler Production. *Frontiers in Veterinary Science*, *9*(June), 1–15. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.916473
Besharati, Z., Mohammadi, M., Roostaei Ali-Mehr, M., & Hamidoghli, Y. (2015). Effect of Stevia (Stevia rebaudiana) alcoholic extract on performance and humoral immunity response in broilers. Research on Animal Production (Scientific and Research), 6(11), 51-59. (In Persian)
Chauvin, C., Gicquel-Bruneau, M., Perrin-Guyomard, A., Humbert, F., Salvat, G., Guillemot, D., & Sanders, P. (2005). Use of avilamycin for growth promotion and avilamycin-resistance among Enterococcus faecium from broilers in a matched case-control study in France. *Preventive Veterinary Medicine*, *70*(3–4), 155–163. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.03.004
Choi, J. H., Lee, K., Kim, D. W., Kil, D. Y., Kim, G. B., & Cha, C. J. (2018). Influence of dietary avilamycin on ileal and cecal microbiota in broiler chickens. *Poultry Science*, *97*(3), 970–979. https://doi.org/10.3382/ps/pex360
Direito, R., Reis, C., Roque, L., Gonçalves, M., Sanches-Silva, A., Gaspar, M. M., … Figueira, M. E. (2019). Phytosomes with persimmon (Diospyros kaki l.) extract: Preparation and preliminary demonstration of in vivo tolerability. *Pharmaceutics*, *11*(6). https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11060296
El-Deek, A. A., Al-Harthi, M. A., Osman, M., Al-Jassas, F., & Nassar, R. (2012). Effect of different levels of green tea (Camellia sinensis) as a substitute for oxytetracycline as a growth promoter in broilers diets containing two crude protein levels Einfluss des Zusatzes von grünem Tee (Camellia sinensis) in verschiedener Höhe zu . *Archiv Fur Geflugelkunde*, *76*(2), 88–98.
El-Hack, M. E. A., Elnesr, S. S., Alagawany, M., Gado, A., Noreldin, A. E., & Gabr, A. A. (2020). Impact of green tea (Camellia sinensis) and epigallocatechin gallate on poultry. *World's Poultry Science Journal*, *76*(1), 49–63. https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1729672
Ferdji, A., Mimoune, N., Amrouche, T., Degui, D., Temim, S., & Khelef, D. (2022). determination of ionophore province (Algeria), *53*(3), 261–271.
Flores, R. A., Nguyen, B. T., Cammayo, P. L. T., Võ, T. C., Naw, H., Kim, S., … Min, W. (2022). Epidemiological investigation and drug resistance of Eimeria species in Korean chicken farms. *BMC Veterinary Research*, *18*(1), 1–13. https://doi.org/10.1186/s12917-022-03369-3
Gaweł, S., Wardas, M., Niedworok, E., & Wardas, P. (2004). Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*, *57*(9-10), 453–455.
Gurbuz, Y., Abdullah, M. D., & Cetin, M. (2019). Effects of Phytogenic Feed Additives as an Alternative to Antibiotic on Broiler Performance and Carcass Characteristics. Journal of Poultry Research, 16(2), 62-67.
Hassanpour, H., Moghaddam, A. K. Z., Yazdani, A., & Bashi, M. C. (2010). Evaluation of intestinal morphology and nitric oxide metabolites in broiler chickens supplemented by green tea. *Comparative Clinical Pathology*, *19*(1), 43–47. https://doi.org/10.1007/s00580-009-0831-x
Hu, R., He, Y., Arowolo, M. A., Wu, S., & He, J. (2019). Polyphenols as potential attenuators of heat stress in poultry production. *Antioxidants*, *8*(3), 1–11. https://doi.org/10.3390/antiox8030067
Hussein, E. O. S., , Shamseldein H. Ahmed 2, A. M. A. 1, 1, G. M. S., 3, M. E. A. E.-H., & , Ayman A. Swelum 1, 4 and Abdullah N. Alowaimer. (2020). animals Clostridium perfringens -Infected Broilers.
Iqbal, Y., Cottrell, J. J., Suleria, H. A. R., & Dunshea, F. R. (2020). Gut microbiota-polyphenol interactions in chicken: A review. *Animals*, *10*(8), 1–18. https://doi.org/10.3390/ani10081391
Jelveh, K., Rasouli, B., Kadim, I. T., Slozhenkina, M. I., Gorlov, I. F., Seidavi, A., & Phillips, C. J. C. (2022). The effects of green tea in the diet of broilers challenged with coccidiosis on their

performance, carcass characteristics, intestinal mucosal morphology, blood constituents and ceca microflora. *Veterinary Medicine and Science*, *8*(6), 2511–2520. https://doi.org/10.1002/vms3.923

Jelveh, K., Rasouli, B., Seidavi, A., & Diarra, S. S. (2018). Comparative effects of Chinese green tea (Camellia sinensis) extract and powder as feed supplements for broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, *46*(1), 1114–1117. https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1466707

Khan, S. H. (2014). The use of green tea (Camellia sinensis) as a phytogenic substance in poultry diets. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 81(1), 1-8.

Mahfuz, S., Shang, Q., & Piao, X. (2021). Phenolic compounds as natural feed additives in poultry and swine diets: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *12*(1), 1–18. https://doi.org/10.1186/s40104-021-00565-3

Mahlake, S. K., Mnisi, C. M., Kumanda, C., Mthiyane, D. M. N., & Montso, P. K. (2022). Green Tea (Camellia sinensis) Products as Alternatives to Antibiotics in Poultry Nutrition: A Review. *Antibiotics*, *11*(5). https://doi.org/10.3390/antibiotics11050565

Mak, P. H. W., Rehman, M. A., Kiarie, E. G., Topp, E., & Diarra, M. S. (2022). Production systems and important antimicrobial resistant-pathogenic bacteria in poultry: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *13*(1), 1–20. https://doi.org/10.1186/s40104-022-00786-0

Maria Cardinal, K., Kipper, M., Andretta, I., & Machado Leal Ribeiro, A. (2019). Withdrawal of antibiotic growth promoters from broiler diets: performance indexes and economic impact. *Poultry Science*, *98*(12), 6659–6667. https://doi.org/10.3382/ps/pez536

Martins, R. R., Silva, L. J. G., Pereira, A. M. P. T., Esteves, A., Duarte, S. C., & Pena, A. (2022). Coccidiostats and Poultry: A Comprehensive Review and Current Legislation. *Foods*, *11*(18), 1–20. https://doi.org/10.3390/foods11182738

Mohammadpour, F., Darmani-kuhi, H., Mohit, A., & Sohani, M. M. (2021). Effects of dietary fat source and green tea (Camellia sinensis) extract on genes associated with lipid metabolism and inflammatory responses in female broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, *20*(1), 578–586. https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1898292

Nemati, M. H., Almasi, H., Masomi, R., & Shahir, M. H. (2021). Comparison of the effect of domestic and imported probiotics on growth performance, blood lipid parameters and small intestine morphology of broilers. Animal Production, 23(3), 647-657. (In Persian)

Parker, C. D., Lister, S. A., & Gittins, J. (2021). Impact assessment of the reduction or removal of ionophores used for controlling coccidiosis in the UK broiler industry. *Veterinary Record*, *189*(11), no. https://doi.org/10.1002/vetr.513

Pliego, A. B., Tavakoli, M., Khusro, A., Seidavi, A., Elghandour, M. M. M. Y., Salem, A. Z. M., … Rene Rivas-Caceres, R. (2022). Beneficial and adverse effects of medicinal plants as feed supplements in poultry nutrition: a review. *Animal Biotechnology*, *33*(2), 369–391. https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1798973

Qui, N. H. (2022). Immune-boosting role of L-theanine in broiler poultry production under stress conditions. *Open Veterinary Journal*, *12*(2), 250–255. https://doi.org/10.5455/OVJ.2022.v12.i2.13

Rafiq, K., Tofazzal Hossain, M., Ahmed, R., Hasan, M. M., Islam, R., Hossen, M. I., … Islam, M. R. (2022). Role of Different Growth Enhancers as Alternative to In-feed Antibiotics in Poultry Industry. *Frontiers in Veterinary Science*, *8*(February), 1–9. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.794588

Rahman, M. R. T., Fliss, I., & Biron, E. (2022). Insights in the Development and Uses of Alternatives to Antibiotic Growth Promoters in Poultry and Swine Production. *Antibiotics*, *11*(6), 1–29. https://doi.org/10.3390/antibiotics11060766

Rashid, M., Das, S., Hossain, M., & Hossain, M. (2020). Use of garlic and green tea as alternative feed additives in broiler. *Journal of Bangladesh Agricultural University*, *18*(0), 1. https://doi.org/10.5455/jbau.2939

Ri, C. S., Jiang, X. R., Kim, M. H., Wang, J., Zhang, H. J., Wu, S. G., … Qi, G. H. (2017). Effects of dietary oregano powder supplementation on the growth performance, antioxidant status and

meat quality of broiler chicks. *Italian Journal of Animal Science*, *16*(2), 246–252. https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1274243

Roila, R., Branciari, R., Ranucci, D., Miraglia, D., Cristofani, E., Carloni, C., … Fioroni, L. (2021). Incidence of ionophore and non-ionophore anticoccidials residues in poultry meat and eggs and their risk characterization. *Italian Journal of Food Safety*, *10*(1). https://doi.org/10.4081/ijfs.2021.9332

Saeed, M., Khan, M. S., Kamboh, A. A., Alagawany, M., Khafaga, A. F., Noreldin, A. E., … Chao, S. (2020). L-theanine: an astounding sui generis amino acid in poultry nutrition. *Poultry Science*, *99*(11), 5625–5636. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.07.016

Saeed, M., Xu, Y., Zhang, T., Ren, Q., & Sun, C. (2019). 16S ribosomal RNA sequencing reveals a modulation of intestinal microbiome and immune response by dietary L-theanine supplementation in broiler chickens. *Poultry Science*, *98*(2), 842–854. https://doi.org/10.3382/ps/pey394

Schroder, K., Hertzog, P. J., Ravasi, T., & Hume, D. A. (2004). Interferon-γ: an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of Leukocyte Biology*, *75*(2), 163–189. https://doi.org/10.1189/jlb.0603252

Seidavi, A., Belali, M., Elghandour, M. M. Y., Adegbeye, M. J., & Salem, A. Z. M. (2020). Potential impacts of dietary inclusion of green tea (Camellia sinensis L.) in poultry feeding: a review. *Agroforestry Systems*, *94*(4), 1161–1170. https://doi.org/10.1007/s10457-019-00444-x

Seidavi, A., Dadashbeiki, M., Asadpour, L., van den Hoven, R., Alimohammadi-Saraei, M. H., Alise, M., & Santini, A. (2017). Dietary green tea powder affects the immunologic parameters of broiler chicks. *Italian Journal of Animal Science*, *16*(1), 108–114. https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1261007

Sheikh Zadeh, N., Nootash, S., Khani Oushani, A., Mousavi, S., & Tahapour, K. (2019). Expression analysis of IFN-γ, MX1, MX2, MX3 and HSP70 genes in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) administrated with green tea (Camellia sinensis). Iranian Veterinary Journal, 15(3), 32-40.

Sugiharto, S., & Ayasan, T. (2022). Encapsulation as a way to improve the phytogenic effects of herbal additives in broilers - an overview. *Annals of Animal Science*, (May). https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0045

Tan, Z., Halter, B., Liu, D., Gilbert, E. R., & Cline, M. A. (2022). Dietary Flavonoids as Modulators of Lipid Metabolism in Poultry. *Frontiers in Physiology*, *13*(April), 1–17. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.863860

Thomas, D. V., Molan, A. L., Singh, Y., & Ravindran, V. (2022). Influence of green tea powder on the performance, nutrient utilisation, caecal microbiota profile and meat quality of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Nutrition*, *10*(2), 83–90. https://doi.org/10.3920/JAAN2022.0004

Tizard, I. (2012). Veterinary immunology. English editon. Press of Saunders Philadelphia, pp: 568.

Trela, J., Kierończyk, B., Hautekiet, V., & Józefiak, D. (2020). Combination of bacillus licheniformis and salinomycin: Effect on the growth performance and git microbial populations of broiler chickens. *Animals*, *10*(5). https://doi.org/10.3390/ani10050889

Usman, R. M. (2021). Phytosomes: A Mini Review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, *33*(1), 25507–25508. https://doi.org/10.26717/bjstr.2021.33.005343

Xue, G. Da, Wu, S. B., Choct, M., & Swick, R. A. (2017). Effects of yeast cell wall on growth performance, immune responses and intestinal short chain fatty acid concentrations of broilers in an experimental necrotic enteritis model. *Animal Nutrition*, *3*(4), 399–405. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.08.002

Yang, M., Lu, Y., Zhu, Q., Gao, P., Xie, X., & Yu, D. (2019). Effect of Tea Polyphenol on Serum Hormone, Serum Enzyme Activity and Antioxidant-Related Gene Expression in Chinese Yellow Chicken under Heat Stress, (August). https://doi.org/10.20944/preprints201908.0009.v1

Yin, Z., Zheng, T., Ho, C. T., Huang, Q., Wu, Q., & Zhang, M. (2022). Improving the stability and

bioavailability of tea polyphenols by encapsulations: a review. *Food Science and Human Wellness*, *11*(3), 537–556. https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.12.011