

## اثر پودر پوست سبز گردو (*Juglans regia*) بر برخی پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی

بهناز موسوی‌راضی<sup>۱</sup>، محمد روستائی‌علی‌مهر<sup>۲\*</sup> و مازیار محیطی‌اصلی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۹

تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۵

### چکیده

آزمایش به منظور بررسی اثر پودر پوست سبز گردو بر پاسخ‌های ایمنی، با استفاده از ۲۰۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی انجام شد. جوجه‌ها به پنج گروه و هر گروه به ۴ زیر گروه ۱۰ قطعه‌ای تقسیم شدند. مقادیر صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد پودر پوست سبز گردو به جیره اضافه شد. تزریق داخل عضلانی ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۲۵ درصد گلبول قرمز گوسفند در روزهای ۸ و ۲۲ انجام شد و عیار پادتن IgM و IgG از طریق آزمایش هم‌آگلوتیناسیون در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ تعیین شد. در ۴۲ روزگی، نمونه‌ی خون جمع‌آوری شد و سلول‌های قرمز و سفید خون شمارش شده و بعد از ذبح پرند و وزن چربی احشایی و اندام‌های احشایی تعیین گردید. در ۲۱ روزگی عیار پادتن IgM تیمارهای ۴ درصد پودر پوست سبز گردو (۲/۹۳) بیشتر از شاهد (۲/۱۲) بود ( $P < 0.05$ ). در ۴۲ روزگی عیار پادتن IgG تیمارهای ۴ (۵/۵)، ۳ (۵/۲۵) و ۲ درصد (۴/۸۱) پودر پوست سبز گردو بیشتر از شاهد (۳/۶۸) بود ( $P < 0.05$ ). نسبت هتروفیل به لنفوسیت و درصد هتروفیل در تیمار ۴ درصد پودر پوست سبز گردو (به ترتیب ۰/۵۵ و ۳۳/۲۳) کمتر از شاهد بود ( $P < 0.05$ ). همچنین درصد لنفوسیت در تیمار ۴ درصد پودر پوست سبز گردو (۵۹/۹۶) بیشتر از شاهد (۵۶/۸۷) بود ( $P < 0.05$ ). بالاترین درصد وزن نسبی بورس در تیمار ۲ (۰/۱۷)، ۳ (۰/۱۷) و ۴ (۰/۱۶) درصد پودر پوست سبز گردو مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). علاوه بر آن درصد وزن نسبی تیموس در تیمار ۳ (۰/۵۹) و ۴ (۰/۵۴) درصد پودر پوست سبز گردو بیشتر از شاهد بود ( $P < 0.05$ ). بنابراین با توجه به یافته‌های حاصل از این مطالعه افزودن پودر پوست سبز گردو به جیره می‌تواند سبب بهبود عملکرد ایمنی جوجه‌های گوشتی گردد.

کلمات کلیدی: پوست سبز گردو، جوجه‌ی گوشتی، سیستم ایمنی

### مقدمه

مطلوبی بر عملکرد سیستم ایمنی دارند (Rathert et al. 2010).

در چند سال اخیر به منظور مقابله با اجرام بیماری‌زا، استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک‌های جدید سیستم ایمنی توجه زیادی را به خود معطوف کرده است (Lavinia et al. 2009). گردو گیاهی از خانواده‌ی *Juglandaceae* و جنس *Juglans regia* است. پایه‌های وحشی گردو ایرانی در شرق اروپا، سرتاسر ترکیه، عراق، روسیه جنوبی و افغانستان تا شمال غربی هیمالیا یافت

در صنعت پرورش جوجه‌های گوشتی عملکرد سیستم ایمنی و مقابله با بیماری‌های عفونی اهمیت زیادی در نتیجه‌ی اقتصادی تولید دارد. عوامل مختلف از قبیل واکسیناسیون ناموفق، بیماری‌های عفونی تحت بالینی و استفاده‌ی نامتعارف از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث کاهش پاسخ ایمنی می‌شوند (Allen 2003). مشخص شده است ترکیبات فعال زیستی موجود در بسیاری از گیاهان شامل آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، گلوکوزیدها، موسیلاژ، ساپونین‌ها، فنول‌ها، اسیدهای فنولیک و کاروتنوئیدها آثار

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه گیلان

<sup>۲\*</sup> دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه گیلان

<sup>۳</sup> استادیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه گیلان

(نویسنده‌ی مسئول)

E-mail: roostaei.a.m@gmail.com

## مواد و روش کار

پوست سبز گردو از باغ‌های شهرستان تویسرکان در شهریور ماه جمع‌آوری و در سایه خشک و بسته‌بندی شد و به دور از رطوبت در آزمایشگاه ذخیره و در زمان انجام آزمایش با استفاده از آسیاب به پودر تبدیل شد (سلامت و همکاران ۱۳۸۵). جهت انجام این پژوهش از تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی یک روزه سویه‌ی راس ۳۰۸ با میانگین وزن یک روزگی ۳۹/۱ گرم استفاده شد. جوجه-ها به مدت ۶ روز با جیره‌ی غذایی پایه تغذیه شدند سپس جوجه‌ها به ۵ گروه (تیمار)، ۴ زیر گروه (تکرار) و ۱۰ قطعه در هر تکرار با میانگین وزنی ۱۴۴/۴ گرم در هر قفس تقسیم شدند. از روز ششم پرورش، میزان‌های صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد پودر پوست سبز گردو به جیره-ی هر تیمار اضافه شد. جیره‌ی غذایی مورد استفاده در دوره‌ی پرورش بر اساس توصیه سویه‌ی راس ۳۰۸ تهیه شد و اکسیناسیون بر علیه نیوکاسل، برونشیت و گامبورو براساس برنامه‌ی سازمان دامپزشکی انجام گردید.

به منظور ارزیابی پاسخ‌های ایمنی سلولی در روز ۱۶ پرورش ۳ جوجه از هر قفس با میانگین وزنی مشابه انتخاب و مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از بافر فسفات و محلول فیتوهمگلوتنین (۰/۱ mg/ml) به ترتیب در چین پوستی بال چپ و راست جوجه‌ها به صورت داخل جلدی تزریق شد. قبل از تزریق و همچنین ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق ضخامت پوست به وسیله‌ی کولیس اندازه‌گیری شد. افزایش ضخامت پوست (ضخامت قبل از تزریق - ضخامت بعد از تزریق) در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت تعیین شد. سپس بر اساس معادله‌ی زیر شاخص تحریک پوست به تزریق فیتوهمگلوتنین مشخص شد (روستائی-علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۲).

شاخص تحریک = افزایش ضخامت پوست بال راست - افزایش ضخامت پوست بال چپ

برای ارزیابی پاسخ‌های ایمنی هومورال در روزهای ۸ و ۲۱ پرورش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۲۵ درصد

شده است. در نتیجه محققین معتقدند که منشاء گردو، ایران و مناطق اطراف آن است (Beauquesne 1990). محصولات درخت گردو واجد مواد مختلف با آثار بیولوژیک است (Stampar et al. 2006). مشخص شده است که اسانس برگ گردو دارای اثر ضد میکروبی است و به شدت مانع رشد باکتری‌های گرم مثبت می‌شود (Rather et al. 2012). در شرایط آزمایشگاهی، عصاره‌ی متانولی پوست سبز گردو روی ۴ گونه از قارچ‌های میکروسپوروم کانیس، ترایکوفایتون متاگروفایتیس، اپیدرموفایتون فلوکوزوم و کاندیدا آلبیکنس اثر بازدارندگی داشته و به میزان ۶۰ درصد باعث توقف رشد قارچ‌ها می‌شود (سلامت و همکاران ۱۳۸۵). به علاوه بررسی‌های درمانی و فارماکولوژی نشان داده است که برگ گردو دارای آثار ضد حساسیت و کاهش دهنده‌ی قند است (Girzu et al. 1998, Cheniany et al. 2013). برگ و پوست سبز گردو غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و پلی‌فنلی مانند هیدروکسی سینامیک اسیدها، هیدروکسی بنزوئیک اسیدها، فلاونوئیدها و ژوگلون است (رضایی‌ارمی و همکاران ۱۳۹۱).

امروزه ایجاد ایمنی در برابر اجرام مضر با استفاده از واکسن‌ها یکی از اقدامات اساسی در پرورش جوجه‌های گوشتی به منظور بهبود تولید محسوب می‌شود. زمان-بندی نامناسب واکسیناسیون، حضور نامحسوس مواد سمی مانند آفلاتوکسین در غذا و بروز استرس‌های محیطی سبب شده است که واکسیناسیون به تنهایی نتواند مانع بروز خسارات ناشی از اجرام بیماری‌زا شود (روستائی‌علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۱). از طرفی به اثبات رسیده است که ترکیبات فلاونوئیدی سبب بهبود پاسخ-های ایمنی می‌شوند (Park et al. 2004, Goel et al. 2002). به علاوه گزارش شده که استفاده از ترکیبات گیاهی حتی در شرایط استرس نیز سبب بهبود پاسخ‌های ایمنی می‌شوند (روستائی‌علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۳). لذا، هدف این آزمایش بررسی اثر پودر پوست سبز گردو بر برخی پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی است.

## نتایج

پودر پوست سبز گردو سبب افزایش معنی داری در درصد لنفوسیت و کاهش درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد (جدول ۱،  $P < 0/05$ ). به طوری که با افزایش مصرف پودر پوست سبز گردو درصد لنفوسیت افزایش و نسبت هتروفیل به لنفوسیت کاهش یافته و درصد لنفوسیت در تیمار ۴ درصد پودر پوست سبز گردو از شاهد بیش تر بود ( $P < 0/05$ ). درصد هتروفیل در تیمار ۴ درصد پودر پوست سبز گردو از شاهد و تیمار ۱ درصد پودر پوست سبز گردو کم تر بود ( $P < 0/05$ ) ولی با تیمار ۳ و ۲ درصد پودر پوست سبز گردو تفاوتی را نشان نداد ( $P > 0/05$ ). نسبت هتروفیل به لنفوسیت در تیمار ۴ درصد پودر پوست سبز گردو کم تر از شاهد، ۱ و ۲ درصد پودر پوست سبز گردو بود ( $P < 0/05$ ).

در ۲۱ روزگی تیمار ۴ درصد پودر پوست سبز گردو افزایش معنی داری در عیار پادتن کل نسبت به تیمار شاهد و ۱ درصد پودر پوست سبز گردو داشت (جدول ۲،  $P < 0/05$ ). کم ترین میزان عیار پادتن کل در ۲۸ روزگی مربوط به تیمار شاهد بود ( $P < 0/05$ ). در ۳۵ روزگی تیمار ۴ درصد پودر پوست سبز گردو و در ۴۲ روزگی تیمارهای ۳ و ۴ درصد پودر پوست سبز گردو افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد از نظر عیار پادتن کل علیه SRBC داشتند ( $P < 0/05$ ). در ۲۸ روزگی تیمارهای ۲، ۳ و ۴ درصد پودر پوست سبز گردو افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد از نظر عیار پادتن IgG داشتند ( $P < 0/05$ ). کم ترین عیار پادتن IgG در ۳۵ روزگی مربوط به تیمار شاهد و در ۴۲ روزگی مربوط به تیمار شاهد و ۱ درصد پودر پوست سبز گردو بود ( $P < 0/05$ ). در ۲۱ روزگی تیمار ۴ درصد پودر پوست سبز گردو افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد از نظر عیار پادتن IgM داشت ( $P < 0/05$ ). اما در ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی اختلاف معنی داری بین تیمارها از نظر عیار پادتن IgM مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

گلوبول قرمز گوسفندی در بافر فسفات به عضله سینه جوجه‌ها تزریق شد (روستائی علی مهر و همکاران ۱۳۹۱). در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ از دو قطعه جوجه‌ی گوشتی در هر تکرار خون‌گیری شد. سرم‌های به دست آمده تا انجام آزمایش در ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد ذخیره شدند. پس از یخ‌گشایی عیار پادتن IgM، IgG و تام ضد گلوبول قرمز به کمک آزمایش هم‌آگلوتیناسیون تعیین شد (Grasman 2010). نتایج حاصل از عیار پادتن‌ها به صورت لگاریتم بر پایه‌ی ۲ گزارش شدند.

در روز ۴۲ پرورش، جهت شمارش گلوبول‌های قرمز و سفید و تعیین درصد افتراقی گلوبول‌های سفید خون (مونوسیت، ائوزینوفیل، بازوفیل، هتروفیل و لنفوسیت) به کمک سرنگ آغشته به اتیلن دی آمین تترا استیک اسید از ورید بال دو پرنده از هر تکرار نمونه‌ی خون جمع‌آوری شد. برای شمارش گلوبول‌های سفید خون نمونه‌های خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول نات و هریک در لوله‌ی آزمایش، رقیق شد. سپس با سمپلر مقدار کمی از این محلول برداشته و به آرامی روی لام هموسیتمتر ریخته شد و زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی  $\times 40$  شمارش گلوبول سفید خون انجام گرفت. جهت شمارش افتراقی گلوبول‌های سفید، گسترش خون بر روی لام تهیه شد و با رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شد. سپس نمونه با کمک میکروسکوپ نوری بررسی شدند (Akbay et al. 2003).

در روز ۴۲ پرورش، دو پرنده از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب شدند. بعد از اندازه‌گیری وزن زنده، پرنده ذبح شد و وزن چربی احشایی، کبد، سنگدان، تیموس، بورس و طحال اندازه‌گیری شد (روستائی علی مهر و همکاران ۱۳۹۱).

نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار با استفاده از رویه‌ی GLM نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها برای صفات مورد نظر از آزمون توکی در سطح آماری ۵ درصد استفاده شد.

جدول ۱: اثر مکمل کردن پودر پوست سبز گردو در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی بر تعداد گلبول سفید و لکوسیت‌های خون در روز ۴۲ پرورش (معیار خطا  $\pm$  میانگین)

| پودر پوست گردو (%)             |                          |                           |                           |                           |                          |
|--------------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| پارامتر                        | ۰                        | ۱                         | ۲                         | ۳                         | ۴                        |
| گلبول سفید خون ( $10^3/mm^3$ ) | ۸۸۲۰±۲۹۸/۴               | ۸۸۲۹±۱۹۳/۴                | ۸۹۴۲±۱۲۷/۰                | ۹۱۶۰±۱۶۷/۴                | ۸۸۹۳±۱۰۴/۴               |
| مونوسیت (%)                    | ۲/۸۴±۰/۱۴۲               | ۳/۰۳±۰/۰۶۴                | ۲/۸۷±۰/۱۷۱                | ۳/۰۰±۰/۰۹۰                | ۳/۰۰±۰/۱۵۰               |
| ائوزینوفیل (%)                 | ۲/۲۲±۰/۱۷۹               | ۲/۴۲±۰/۱۷۱                | ۲/۲۱±۰/۲۲۸                | ۲/۵۷±۰/۱۰۳                | ۲/۰۵±۰/۱۵۳               |
| بازوفیل (%)                    | ۱/۵۵±۰/۰۹۷               | ۱/۳۴±۰/۰۷۲                | ۱/۳۶±۰/۰۶۳                | ۱/۳۸±۰/۱۴۱                | ۱/۴۷±۰/۱۰۲               |
| هتروفیل (%)                    | ۳۴/۵۵±۰/۳۳۸ <sup>a</sup> | ۳۴/۳۷±۰/۲۲۲ <sup>a</sup>  | ۳۴/۱۵±۰/۳۱۳ <sup>ab</sup> | ۳۳/۸۵±۰/۳۰۳ <sup>ab</sup> | ۳۳/۲۳±۰/۱۴۸ <sup>b</sup> |
| لنفوسیت (%)                    | ۵۶/۸۷±۰/۲۹۶ <sup>b</sup> | ۵۷/۹۰±۰/۶۶۶ <sup>ab</sup> | ۵۸/۰۹±۰/۶۷۳ <sup>ab</sup> | ۵۸/۸۸±۰/۵۲۲ <sup>ab</sup> | ۵۹/۹۶±۰/۲۳۹ <sup>a</sup> |
| هتروفیل به لنفوسیت (%)         | ۰/۶۰±۰/۰۰۶ <sup>a</sup>  | ۰/۵۹±۰/۰۰۵ <sup>ab</sup>  | ۰/۵۹±۰/۰۱۰ <sup>ab</sup>  | ۰/۵۷±۰/۰۰۶ <sup>bc</sup>  | ۰/۵۵±۰/۰۰۳ <sup>c</sup>  |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲: اثر سطوح مختلف پودر پوست سبز گردو بر عیار پادتن علیه SRBC در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی (معیار خطا  $\pm$  میانگین)

| تیماها                 | ۲۱ روزگی |                         |                        | ۲۸ روزگی                |                         |           |
|------------------------|----------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------|
|                        | Total    | IgG                     | IgM                    | Total                   | IgG                     | IgM       |
| پودر پوست سبز گردو (%) | ۰        | ۲/۱۲±۰/۱۸ <sup>b</sup>  | ۱/۱۲±۰/۰۸              | ۳/۲۵±۰/۱۶ <sup>b</sup>  | ۴/۴۷±۰/۱۳ <sup>b</sup>  | ۱/۴۳±۰/۱۴ |
|                        | ۱        | ۲/۲۵±۰/۱۳ <sup>ab</sup> | ۱/۱۲±۰/۱۲              | ۳/۳۷±۰/۱۵ <sup>b</sup>  | ۵/۴۳±۰/۳۸ <sup>ab</sup> | ۱/۵۶±۰/۱۹ |
|                        | ۲        | ۲/۵۶±۰/۲۲ <sup>ab</sup> | ۱/۰۶±۰/۱۱              | ۳/۶۲±۰/۱۲ <sup>ab</sup> | ۵/۸۷±۰/۲۲ <sup>a</sup>  | ۱/۶۸±۰/۱۸ |
|                        | ۳        | ۲/۶۵±۰/۱۵ <sup>ab</sup> | ۱/۰۰±۰/۰۰              | ۳/۶۲±۰/۱۵ <sup>ab</sup> | ۵/۸۷±۰/۲۹ <sup>a</sup>  | ۱/۵۶±۰/۲۲ |
|                        | ۴        | ۲/۹۳±۰/۱۴ <sup>a</sup>  | ۱/۰۶±۰/۰۶              | ۴/۰۰±۰/۰۹ <sup>a</sup>  | ۶/۲۵±۰/۲۵ <sup>a</sup>  | ۱/۵۰±۰/۲۹ |
| تیماها                 | ۳۵ روزگی |                         |                        | ۴۲ روزگی                |                         |           |
|                        | Total    | IgG                     | IgM                    | Total                   | IgG                     | IgM       |
| پودر پوست سبز گردو (%) | ۰        | ۲/۱۲±۰/۲۲               | ۴/۰۰±۰/۱۸ <sup>b</sup> | ۶/۱۲±۰/۲۰ <sup>c</sup>  | ۳/۶۸±۰/۱۸ <sup>c</sup>  | ۱/۴۳±۰/۱۱ |
|                        | ۱        | ۲/۰۰±۰/۲۸               | ۵/۰۶±۰/۲۲ <sup>a</sup> | ۷/۰۶±۰/۱۴ <sup>bc</sup> | ۴/۰۶±۰/۲۲ <sup>c</sup>  | ۱/۷۵±۰/۱۸ |
|                        | ۲        | ۲/۱۸±۰/۳۶               | ۵/۸۱±۰/۰۹ <sup>a</sup> | ۸/۰۰±۰/۲۹ <sup>ab</sup> | ۴/۸۱±۰/۲۳ <sup>b</sup>  | ۱/۶۲±۰/۱۸ |
|                        | ۳        | ۲/۳۷±۰/۲۷               | ۵/۵۶±۰/۱۹ <sup>a</sup> | ۷/۹۳±۰/۲۲ <sup>ab</sup> | ۵/۲۵±۰/۳۱ <sup>ab</sup> | ۱/۴۳±۰/۱۷ |
|                        | ۴        | ۲/۲۵±۰/۲۵               | ۵/۹۳±۰/۱۹ <sup>a</sup> | ۸/۱۸±۰/۱۸ <sup>a</sup>  | ۵/۵۰±۰/۱۶ <sup>a</sup>  | ۱/۵۰±۰/۱۶ |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

شد (جدول ۴،  $P < 0.05$ ). بالاترین درصد وزن نسبی بورس در تیمار ۳ و ۴ درصد پودر پوست سبز گردو مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). درصد وزن نسبی تیموس در تیمار ۳ و ۴ درصد پودر پوست سبز گردو بیش‌تر از تیمار ۱ درصد پودر پوست سبز گردو و تیمار شاهد بود

نتایج پاسخ پوست به تزریق فیتوهمگلوتینین (جدول ۳) نشان داد که مصرف پوست سبز گردو اثری بر واکنش‌های التهابی پوست نداشت ( $P > 0.05$ ).

مصرف سطوح مختلف پودر پوست سبز گردو سبب افزایش معنی‌داری در وزن نسبی بورس، تیموس و کبد

( $P < 0/05$ ). همچنین درصد وزن نسبی کبد نیز در تیمار ۳ و ۴ درصد پودر پوست سبز گردو بیشتر از تیمار ۱ و ۲ درصد پودر پوست سبز گردو و تیمار شاهد بود ( $P < 0/05$ ).

جدول ۳: اثر سطوح مختلف پودر پوست سبز گردو بر پاسخ‌های پوست بال به فیتوهماگلوئینین (معیار خطا  $\pm$  میانگین)

| تیمارها | شاخص تحریک پس از ۲۴ ساعت (میلی‌متر) | شاخص تحریک پس از ۴۸ ساعت (میلی‌متر) |
|---------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| ۰       | ۱/۰۵ $\pm$ ۰/۱۱                     | ۰/۹۱ $\pm$ ۰/۱۶                     |
| ۱       | ۱/۱۸ $\pm$ ۰/۱۰                     | ۱/۲۳ $\pm$ ۰/۱۱                     |
| ۲       | ۱/۰۰ $\pm$ ۰/۱۲                     | ۱/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳                     |
| ۳       | ۱/۱۱ $\pm$ ۰/۰۹                     | ۱/۲۰ $\pm$ ۰/۱۱                     |
| ۴       | ۰/۹۹ $\pm$ ۰/۱۵                     | ۱/۰۹ $\pm$ ۰/۱۶                     |

جدول ۴: اثر پودر پوست سبز گردو بر وزن نسبی اندام‌های داخلی (وزن اندام داخلی / وزن زنده) (معیار خطا  $\pm$  میانگین)

| احشا            | پودر پوست سبز گردو (درصد)    |                              |                               |                              |                              |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                 | ۰                            | ۱                            | ۲                             | ۳                            | ۴                            |
| کبد             | ۲/۰۶ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>b</sup> | ۲/۱۹ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>b</sup> | ۲/۴۷ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>ab</sup> | ۲/۷۷ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>a</sup> | ۲/۸۰ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>a</sup> |
| سنگدان          | ۱/۴۶ $\pm$ ۰/۰۷              | ۱/۴۶ $\pm$ ۰/۰۶              | ۱/۴۸ $\pm$ ۰/۰۷               | ۱/۵۷ $\pm$ ۰/۰۷              | ۱/۵۵ $\pm$ ۰/۰۳              |
| قلب             | ۰/۵۵ $\pm$ ۰/۰۲              | ۰/۵۳ $\pm$ ۰/۰۲              | ۰/۶۱ $\pm$ ۰/۰۳               | ۰/۶۲ $\pm$ ۰/۰۴              | ۰/۵۶ $\pm$ ۰/۰۱              |
| چربی محوطه بطنی | ۱/۴۴ $\pm$ ۰/۱۶              | ۱/۴۰ $\pm$ ۰/۰۷              | ۱/۴۹ $\pm$ ۰/۱۴               | ۱/۵۲ $\pm$ ۰/۰۷              | ۱/۶۷ $\pm$ ۰/۰۸              |
| تیموس           | ۰/۲۷ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>b</sup> | ۰/۳۱ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>b</sup> | ۰/۴۱ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>ab</sup> | ۰/۵۹ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>a</sup> | ۰/۵۴ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup> |
| بورس            | ۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>b</sup> | ۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>b</sup> | ۰/۱۷ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>  | ۰/۱۷ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup> | ۰/۱۶ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup> |
| طحال            | ۰/۲۹ $\pm$ ۰/۰۳              | ۰/۲۸ $\pm$ ۰/۰۱              | ۰/۳۱ $\pm$ ۰/۰۱               | ۰/۳۱ $\pm$ ۰/۰۱              | ۰/۳۱ $\pm$ ۰/۰۱              |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار است ( $P < 0/05$ ).

## بحث

لنفوسیت در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Al-Kassie et al. 2010). در این خصوص مشخص شده است که مکمل کردن جیره‌ی جوجه‌های گوشتی با پودر آویشن (نویخت و همکاران ۱۳۹۱) و همچنین آویشن و گزنه (نویخت ۱۳۹۱) سبب افزایش درصد لنفوسیت، کاهش درصد هتروفیل و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت می‌شود. افزایش تعداد لنفوسیت‌ها و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت‌ها شاخص مهمی در ارزیابی سطح ایمنی بدن محسوب می‌شوند و نشان می‌دهند به همین مقدار نیز

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد مصرف پودر پوست سبز گردو سبب کاهش درصد هتروفیل‌ها، افزایش درصد لنفوسیت‌ها و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در جوجه‌ها شد. مشخص شده است که فلاونوئیدها می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند و موجب تقویت سیستم ایمنی شوند (Cook et al. 1996). همچنین، بیان شده است که افزودن فلاونوئیدها به جیره سبب افزایش لنفوسیت‌ها در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Akbay et al. 2003). به علاوه، گزارش شده است که استفاده از گیاهان دارویی حاوی فلاونوئید سبب کاهش نسبت هتروفیل به

گردو در جیره احتمالاً مربوط عملکرد مواد آنتی‌اکسیدان موجود در این فرآورده باشد.

نتایج نشان داد که مکمل کردن جیره‌ی جوجه‌های گوشتی با پودر پوست سبز گردو تا چهار درصد اثری بر ازدیاد حساسیت پوست به تزریق داخل جلدی فیتو-هماگلوتینین نداشت. فیتوهماگلوتینین میتوزنی است که از لکتین گیاهان، مانند دانه‌ی لوبیای قرمز به دست می‌آید و به منظور ارزیابی پاسخ‌های ایمنی سلولی در آزمایش ازدیاد حساسیت (پوست) مورد استفاده قرار می‌گیرد (Grasman 2010). فیتوهماگلوتینین در آزمایش ازدیاد حساسیت از طریق القای واکنش‌های التهابی در موضع تزریق فعالیت سلول‌های لنفوسیت T را بر می‌انگیزد (Schrank et al. 1990). مقدار تورم پوستی به وجود آمده در محل تزریق فیتوهماگلوتینین ناشی از حضور گلبول‌های سفید، فیلتراسیون مایع و التهاب ایجاد شده است (Grasman 2010). مشخص شده است که ژوگلون، که یکی از ترکیبات نفتوکوئینونی موجود در پوست گردو است، دارای اثر ضد التهابی است (Konoshima et al. 1989). به علاوه بیان شده است که فلاونوئیدها از طریق مهار تولید سایتوکین‌ها واجد اثر ضد التهابی هستند (Pandey et al. 2005). گزارش شده است تزریق درون صفاقی کوئرستین (۷۴ میلی‌گرم کوئرستین بر کیلوگرم وزن بدن) سبب کاهش التهاب مزمن و حاد در موش‌ها شد (Rotelli et al. 2003). همچنین مکمل کردن جیره با کوئرستین یا گیاهانی که از نظر کوئرستین غنی هستند مانند خرفه، اثری بر شاخص تحریک پوست به تزریق فیتوهماگلوتینین در جوجه‌های گوشتی نداشت (صفری و همکاران ۱۳۹۴، Hager-Theodorides et al. 2014). فلاونوئیدها با افزایش IL-4 و کاهش IL-12 سبب هدایت تمایز سلول‌های T کمکی از Th1 به Th2 می‌شوند (Middleton et al. 2000). به علاوه، مواد تولید شده از سلول‌های Th2 از جمله IL-4 در درجه‌ی اول سبب افزایش فعالیت سلول‌های B و افزایش تکثیر و بقای سلول‌های T می‌شود ولی قادرند که فعالیت ماکروفاژها و

سطح ایمنی بدن افزایش و احتمال مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا بهبود یافته است (Sturkie 1995).

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پودر پوست سبز گردو تا ۴ درصد جیره سبب بهبود پاسخ ایمنی هومورال می‌شود. مطالعات نشان داده است که فعالیت سلول‌های ایمنی سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود (Hörak et al. 2007). به علاوه، لنفوسیت‌های B حساسیت زیادی به آسیب‌های اکسیداتیو نشان می‌دهند (Von Schantz et al. 1999). از طرفی فلاونوئیدها با حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب افزایش عملکرد آنتی‌اکسیدان‌های داخلی سلول می‌شوند (Nijveldt et al. 2001). همچنین، فلاونوئیدها می‌توانند سبب باز تولید سایر آنتی‌اکسیدان‌ها شوند و بدین ترتیب باعث افزایش فعالیت سلول‌های لنفاوی گردند (Zhu et al. 2000). فلاونوئیدها ترکیبات اصلی فنولی موجود در پوست سبز گردو محسوب می‌شوند (Stampar et al. 2006). میزان کل ترکیبات فنولیک موجود در پوست سبز گردو برابر با ۸۰۲ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم پوست خشک است (Stampar et al. 2006). فلاونوئید پوست سبز گردو، شامل اسید کافئیک، اسید گالیک، مریستین، کوئرستین و ژوگلون است (Cosmulescu et al. 2010). بررسی‌ها نشان می‌دهد که مصرف سایر گیاهان حاوی فلاونوئیدها مانند سرخارگل (Allen 2003)، گزنه (زمزمی و همکاران ۱۳۹۳)، درمنه (Gholamrezaie Sani et al. 2013)، خرفه (صفری و همکاران ۱۳۹۴) و علف چشمه (روستائی‌علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۳) در جوجه‌های گوشتی سبب افزایش پاسخ‌های ایمنی هومورال شده است. کوئرستین از جمله ترکیبات فلاونوئیدی موجود در پوست سبز گردو است که می‌تواند عملکرد لنفوسیت‌های B را تحریک کند (Sharififar et al. 2009). مصرف کوئرستین ۱ گرم بر کیلوگرم جیره سبب افزایش IgG در جوجه‌های گوشتی شده است (Hager-Theodorides et al. 2014). بنابراین یافته‌ها نشان می‌دهد که افزایش پاسخ‌های هومورال به واسطه‌ی مصرف پودر پوست سبز

کبد بدون تغییر در چربی احشایی به دنبال مصرف ۳ تا ۴ درصد پودر پوست سبز گردو نشان می‌دهد که احتمالاً افزایش وزن کبد به دلیل افزایش متابولیسم ناشی از ژوگلون است.

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پودر پوست سبز گردو تا ۴ درصد جیره سبب افزایش وزن نسبی بورس و تیموس شد. گیاهان دارویی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، از بافت‌های لنفوئیدی محافظت می‌کنند و کارایی آن‌ها را افزایش می‌دهند (Al-Khalifa et al. 2012). به علاوه، نتایج استفاده بلند مدت از آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی مانند گزنه (زمزمی و همکاران ۱۳۹۳) و سرخارگل (Habibian et al. 2011) نشان داده است که وزن اندام داخلی مرتبط با سیستم ایمنی (بورس و تیموس) افزایش می‌یابد. به خوبی روشن است که روند بلوغ لنفوسیت‌های T و B به ترتیب در تیموس و بورس انجام می‌شود (Sturkie 1995). افزودن آنتی‌اکسیدان به جیره‌های جوجه‌های گوشتی سبب بهبود بلوغ لنفوسیت‌های T-CD4 به خصوص T کمکی و تنظیمی در تیموس می‌شود (Erf et al. 1998). در این تحقیق علی‌رغم افزایش وزن تیموس که ممکن است به دلیل تمایز بیش‌تر سلول‌های T به سمت Th2 و کاهش Th1 باشد، افزایش پاسخ ایمنی سلولی مشاهده نشده است. در مجموع بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق نشان داده شد که مکمل کردن جیره-ی جوجه‌های گوشتی با پودر پوست سبز گردو تا ۴ درصد سبب بهبود پاسخ ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی شده ولی اثری بر پاسخ‌های ایمنی سلولی نداشته است.

سلول‌های Th1 را مهار کنند (Messaoudene et al. 2011). بنابراین به نظر می‌رسد افزودن پودر سبز گردو به جیره سبب بهبود ایمنی سلول وابسته به التهاب نمی‌شود ولی احتمالاً قادر است پاسخ‌های سیستم ایمنی را از نوع سلولی به سمت هومورال هدایت کند.

نتایج نشان داد که افزودن پودر پوست سبز گردو به جیره‌ی جوجه‌های گوشتی بدون این که میزان چربی‌های احشایی را تغییر دهد سبب افزایش وزن نسبی کبد شد. گزارش شده است که میزان ژوگلون در هر ۱۰۰ گرم پوست سبز گردو ۴۸/۷۷ میلی‌گرم است (Stampar et al. 2006). مصرف ۰/۱ تا ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ژوگلون به صورت خوراکی سبب افزایش متابولیسم و همچنین افزایش وزن کبد در موش‌ها شد (Che et al. 2005). مصرف ۵ تا ۵۰ میکرومتر ژوگلون به صورت خوراکی سبب افزایش متابولیسم و همچنین افزایش وزن کبد در موش‌های نر نژاد ویستار شد (Saling et al. 2011). همچنین، تزریق درون صفاقی ۲۰۰ ppm ژوگلون به موش‌های نر سبب افزایش وزن کبد نسبت به گروه شاهد شد (Sugie et al. 1998). از طرفی بیان شده است که وزن کبد در زمان استرس‌های غذایی نیز زیاد می‌شود (Brenes et al. 1993). البته در زمان استرس تغذیه‌ای ترشح کورتیکواسترون از بخش قشر غده‌ی فوق کلیه افزایش می‌یابد (Geraert et al. 1996). نتیجه‌ی افزایش کورتیکواسترون در جوجه‌های گوشتی، افزایش میزان چربی‌های احشایی است (Dulin 1956). با توجه به این که تاکنون فاکتور ضد تغذیه‌ای در پوست سبز گردو گزارش نشده است (Oliveira et al. 2008) لذا تغییر وزن

## منابع

پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۲، شماره ۱، صفحات ۳۹-۵۰.

رضایی‌ارمی، سمیه؛ جعفری، سیدمهدی؛ خمیری، مرتضی و بیات، هومان (۱۳۹۱). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست سبز گردو و اریته توپسرکان و مقایسه فعالیت ضد رادیکالی آن با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، نشریه

صفری، حسن؛ محیط، اردشیر و محیطی‌اصلی، مازیار (۱۳۹۴). تأثیر افزودن پودر گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L) به جیره بر عملکرد، پاسخ ایمنی و برخی صفات خونی جوجه‌های گوشتی، مجله تولیدات دامی، دوره ۱۷، شماره ۲، صفحات ۲۶۷-۲۵۷.

نوبخت، علی (۱۳۹۱). اثرات گیاهان دارویی آویشن، گزنه به همراه یونجه بر عملکرد، اجزای لاشه، فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی، مجله دانش و پژوهش علوم دامی، جلد ۱۰، صفحات ۷۲-۶۰.

نوبخت، علی؛ آتش‌زمزم، افشین و مظلوم، فرشید (۱۳۹۱). اثرات استفاده از سطوح مختلف پودر و عصاره آویشن شیرازی بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و فراسنجه‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون مرغ‌های تخم‌گذار، مجله دانش و پژوهش علوم دامی، جلد ۱۱، صفحات ۶۹-۵۷.

Akbay, P.; Basaran, A.; Underger, U. and Basaran, N. (2003). In vitro immunomodulatory activity of flavonid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytotherapy Research*, 17: 34-37.

Al-Kassie, G.A.M. (2010). The role of peppermint (*Mentha piperita*) on performance in broiler diets. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(5): 1009-1013.

Al-Khalifa, H.; Givens, I.; Rymer, C. and Yaqoob, P. (2012). Effect of n-3 fatty acids on immune function in broiler chickens. *Poultry Science*, 91(1): 74-88.

Allen, P.C. (2003). Dietary supplementation with *Echinacea* and development of immunity to challenge infection with coccidia. *Parasitology Research*, 91(1): 74-78.

Beauquesne, L.B.; Pinkas, M.; Torck, M. and trotin, F. (1990). *Plantes Medicinales des Regions Temerees*, 2nd ed. Paris, Maloine, P: 58.

Brenes, A.; Smith, M.; Guenter, W. and Marquardt, T.T. (1993). Effect of beta-glucanase / pentosanase enzyme supplementation on the performance of chickens and laying hens fed wheat, barley, naked oats and rye diets. *Canadian Journal of Animal Science*, 73: 941-651.

روستائی‌علی‌مهر، محمد؛ قهرمانی‌زهرائی، باهره و حقیقیان‌رودسری، محمود (۱۳۹۲). اثر عصاره گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال جوجه‌های گوشتی. مجله دامپزشکی ایران، جلد ۹، شماره ۱، صفحات ۶۰-۷۰.

روستائی‌علی‌مهر، محمد؛ میربازل، محدثه و حقیقیان‌رودسری، محمود (۱۳۹۳). اثر عصاره گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال جوجه‌های گوشتی در شرایط تضعیف سیستم ایمنی. مجله دامپزشکی ایران، جلد ۱۰، شماره ۱، صفحات ۴۸-۵۸.

روستائی‌علی‌مهر، محمد؛ میرباقری، سیدهاشمیه و حقیقیان‌رودسری، محمود (۱۳۹۳). اثر پودر خشک گیاه علف چشمه (*Nasturtium officinale*) بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال جوجه‌های گوشتی، نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی)، جلد ۱۰۲، شماره بهار، صفحات ۱۰۷-۹۸.

زمزمی، زهره؛ محمدی، مهرداد و روستائی‌علی‌مهر، محمد (۱۳۹۳). اثر استفاده از سطوح مختلف پودر برگ گیاه گزنه (*Urtica dioica*) بر عملکرد، صفات لاشه و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی، نشریه پژوهش‌های علوم دامی، جلد ۴۲، شماره ۲، صفحات ۶۲-۵۴.

سلامت، فیروزه؛ کیوانی، سوگل؛ امامی، مسعود؛ امین، غلامرضا و عدیمی، پروانه (۱۳۸۵). بررسی اثر پوست گردو در جلوگیری از رشد قارچ‌های میکروسپوروم کانیس، ترایکوفایتون متاگروفایتیس، اپیدرموفایتون فلوکوزوم، اسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس به روش Broth Dilution، مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، جلد ۱۶، شماره ۴، صفحات ۲۰۵-۲۰۱.



- Che, L.J.; Lebetkin, E.H. and Burka, L.T. (2005). Metabolism and disposition of juglone in male F344 rats. *Xenobiotica*, 35(10-11): 1019-1034.
- Cheniany, M.; Ebrahimzadeh, H.; Vahdati, K.; Preece, J.E.; Masoudinejad, A. and Mirmasoumi, M. (2013). Content of different groups of phenolic compounds in microshoots of *Juglans regia* cultivars and studies on antioxidant activity. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(2): 443-450.
- Cook, N.C. and Samman, S. (1996). Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(2): 66-76.
- Cosmulescu, S.; Trandafir, I.; Achim, G.; Botu, M.; Baci, A. and Gruia, M. (2010). Phenolics of green husk in mature walnut fruits. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1): 53-56.
- Dulin, W.E. (1956). Effects of corticosterone and hydrocortisone on fat metabolism in the chick. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 92: 253-255.
- Erf, G.F.; Bottje, W.G.; Bersi, T.K.; Headrick, M.D. and Fritts, C.A. (1998). Effects of dietary vitamin E on the immune system in broilers: altered proportions of CD4 T cells in the thymus and spleen. *Poultry Science*, 77: 529-537.
- Geraert, P.A.; Padilha, J.C.F. and Guillaumin, S. (1996). The phenomenon could be attributed to hormonal control of lipid metabolism in heat stressed chickens. *British Journal of Nutrition*, 75: 205-216.
- Gholamrezaie Sani, L.; Mohammadi, M.; Jalali Sendi, J.; Abolghasemi, S.A. and Roostaie Ali Mehr, M. (2013). Extract and leaf powder effect of *Artemisia annua* on performance, cellular and humoral immunity in broilers. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 14(1): 15-20.
- Gîrzu, M.; Carnat, A.; Privat, A.M.; Fialip, J.; Carnat, A.P. and Lamaison, J.L. (1998). Sedative effect of walnut leaf extract and juglone, an isolated constituent. *Pharmaceutical Biology*, 36(4): 280-286.
- Goel, V.; Chang, C.; Sloma, J.V.; Barton, R.; Bauer, R. and Basu, T.K. (2002). Alkylamides of *Echinacea purpurea* stimulate alveolar macrophage function in normal rats. *International Journal of Immunopharmacology*, 2 (2-3): 381-387.
- Grasman, K.A. (2010). In vivo functional tests for assessing immunotoxicity in birds. In: Dietert, RR (Ed.), *Immunotoxicity testing: methods and protocols, methods in molecular biology*. 1<sup>st</sup> ed. New York, Humana Press. Pp: 387-397.
- Habibian Dehkordi, S.; Fallah, V. and Habibian Dehkordi, S. (2011). Enhancement of broiler performance and immune response by *Echinacea purpurea* supplemented in diet. *African Journal of Biotechnology*, 10: 11280-11286.
- Hager-Theodorides, A.L.; Goliomytis, M.S. and Delis, S. (2014). Effects of dietary supplementation with quercetin on broiler immunological characteristics. *Animal Feed Science and Technology*, 198: 224-230.
- Hörak, P.; Saks, L.; Zilmer, M.; Karu, U. and Zilmer, K. (2007). Do dietary antioxidants alleviate the cost of immune activation? An experiment with greenfinches. *The American Naturalist*, 170(4): 625-635.
- Lavinia, S.; Gabi, D.; Drinceanu, D.; Daniela, D.; Stef, D.; Daniela, M.; Julean, C.; Tetileanu, R. and Corcionivoschi, N. (2009). The effect of medicinal plants and plant extracted oils on broiler duodenum morphology and immunological profile. *Romanian Biotechn Letters*, 14(4): 4606-4614.
- Messaoudene, D.; Belguendouz, H.; Ahmedi, M.L.; Benabdelkader, T.; Otmani, F.; Terahi, M. Youinou, P. and Touil, B.C. (2011). Ex vivo effects of flavonoids extracted from *Artemisia herba alba* on cytokines and nitric oxide production in Algerian patients with adamantiades-behcet's disease. *Journal of Inflammation*, 8 (35): 2-9.
- Middleton, E. Jr., Kandaswami, C. and Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4): 673-751.
- Nijveldt, R.J.; Van Nood, E.; Van Hoorn, D.E.C.; Boelens, P.G.; Van Norren, K. and Van Leeuwen, P.A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4): 418-425.
- Oliveira, I.; Sousa, A.; Ferreira, I.C.F.R.; Bento, A.; Estevinho, L. and Pereira, J.A. (2008). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L) green husks. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (7): 2326-2331.
- Pandey, R.; Maurya, R.; Singh, G.; Sathiamoorthy, B. and Naik, S. (2005). Immunosuppressive properties of flavonoids isolated from *Boerhaavia diffusa* Linn. *International Immunopharmacology*, 5(3): 541-553.

- Park, J.H.; Lee, J.K.; Kim, H.S.; Chung, S.T.; Eom, J.H. and Paik, S.Y. (2004). Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. *International Immunopharmacology*, 4(3): 429-436.
- Rather, M.A.; Dar, B.A.; Dar, M.Y.; Wani, B.A.; Shah, W.A.; Bhat, B.A. et al. (2012). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of *Juglans regia* L. and its constituents. *Phytomedicine*, 19(13): 1185-1190.
- Rathert, T.C.; Gokmen, C. and Gurbuz, Y. (2010). Effect of Watercress (*Nasturtium officinale* R.Br.) on egg quality, yolk colour and yolk fatty acid composition in laying hens. *European Poultry Science*, 74 (3): 178-182.
- Schrank, C.S.; Cook, M.E. and Hansen, W.R. (1990). Immune response of mallard ducks treated with immunosuppressive agent: antibody response to erythrocytes and in vivo response to phytohemagglutinin-p. *Wildlife Diseases*, 26(3): 307-315.
- Sharififar, F.; Pournourmohammadi, S. and Arabnejad, M. (2009). Immunomodulatory activity of aqueous extract of *Heracleum persicum* Desf. In mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8(4): 287-292.
- Stampar, F.; Solar, A.; Hudina, M.; Veberic, R. and Colaric, M. (2006). Traditional walnut liqueurcocktail of phenolics. *Food Chemistry*, 95: 627- 631.
- Sturkie, P.D. (1995). *Avian Physiology*. Springer Verlag, New York, 4<sup>th</sup> ed. Pp: 115-270.
- Von Schantz, T.; Bensch, S.; Grahn, M.; Hasselquist, D. and Wittzell, H. (1999). Good genes, oxidative stress and condition-dependent sexual signals. *Proceedings of the Royal Society of London*, 266(1414): 1-12.

## Effect of walnut green husk (*Juglans regia*) powder on immune responses of broiler chickens

Mousavi Razi, B.<sup>1</sup>; Roostaei-Ali Mehr, M.<sup>2</sup> and Mohiti Asli, M.<sup>3</sup>

Received: 28.03.2016

Accepted: 26.09.2016

### Abstract

The experiment was conducted to evaluate the effect of green husk of walnut powder on immune responses, by using 200 broilers. Birds were split into five groups and each group into four sub groups which include 10 birds. The levels of 0, 1, 2, 3 and 4% powder of green husk of walnut were added to diet of each group. Intramuscular injection of 0.1 mL of the 25% SRBC suspension was performed at 8 and 22 d and the titers of IgG and IgM were determined by haemagglutination test at 21, 28, 35 and 42 d. Blood samples were collected to determine the count of red and white blood cells and after that birds were slaughter to evaluate weight of visceral fat and organelles at 42 d. Titer IgM was higher in treated birds with 4% green husk (2.93) than control (2.12) at 21 d ( $P<0.05$ ). Titer IgG was higher in treated birds with 4 % green husk (5.5), 3% green husk (5.25) and 2% green husk (4.81) than control (3.68) at 42 d ( $P<0.05$ ). The ratio of heterophil to lymphocyte and percentage of heterophil were lower in treated birds with 4% green husk (0.55 and 33.23 respectively) than control ( $P<0.05$ ). Percentage of lymphocytes was higher in treated birds with 4 % green husk (59.96) than control (56.87,  $P<0.05$ ). The highest percentage relative weight of bursa was observed in treated birds with 2 (0.17), 3 (0.17) and 4% green husk (0.16,  $P<0.05$ ). The percentage relative weight of thymus was higher in treated birds with 3% green husk (0.59) and 4% green husk (0.54) than control ( $P<0.05$ ). Therefore, supplementation diet with a green husk of walnut powder improved the function of broiler immune system.

**Key words:** Broiler, Green husk of walnut, Immune system

---

1- MSc Student of Animal Physiology, Faculty of Agriculture Science, University of Guilan, Rasht, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

**Corresponding Author:** Roostaei-Ali Mehr, M., E-mail: roostaei.a.m@gmail.com