نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 7، شماره 4، زمستان 1394، ص. 455-446

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 7, No. 4, Winter 2016, p. 447-455

اثر سطوح مختلف عصاره روغنی گل همیشه‌بهاربرعملکرد، فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی در جوجه‌های گوشتی درگیر شده با تتراکلریدکربن

ریحانه واحد[1]- حسن کرمانشاهی[2*]- حسن نصیری‌مقدم[2]- احمد حسن‌آبادی[2]- سارا بهشتی مقدم[3]

تاریخ دریافت: 1392/03/08
تاریخ پذیرش: 1393/09/24

چکیده

این مطالعه به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف عصاره روغنی گل همیشه‌بهار بر عملکرد، فراسنجه‌های خون و سیستم‌ایمنی جوجه‌های گوشتی طی یک دوره 42 روزه انجام گرفت. تعداد 200 قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس 308 در یک طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار و 10 پرنده در هر تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه کنترل منفی (فاقد افزودنی عصاره گل همیشه‌بهار و تتراکلریدکربن)، کنترل مثبت (یک میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و سه سطح عصاره گل همیشه بهار (150، 300 و 450 میلی‌گرم‌بر کیلوگرم خوراک) به‌همراه تتراکلریدکربن و جیره پایه بود. از روز 21 تا 30 آزمایش، هر دو روز، تتراکلریدکربن به‌عنوان عامل درگیرکننده‌ی کبد، به‌صورت داخل‌صفاقی و در طول این مدت به گروه کنترل منفی یک میلی‌گرم در کیلوگرم وزن‌بدن محلول کلریدسدیم 0/9% تزریق شد. صفات مربوط به عملکرد اختلاف معنی‌داری را از نظر آماری نشان ندادند. جوجه های تغذیه شده با تترا کلرید کربن بالاترین وزن نسبی کبد را در مقایسه با تیمارهای دریافت کننده‌ی عصاره گل همیشه بهار داشتند. وزن نسبی تیموس و سطح ایمنوگلوبولینG در تیماری که علاوه بر تتراکلریدکربن، سطح 300 میلی‌گرم عصاره گل همیشه‌بهار را دریافت کرده بودند، به صورت معنی‌داری بالاتر بود. فراسنجه‌های خون (SGOT وSGPT) که در اثر تزریق تتراکلریدکربن، سطح‌شان در خون افزایش یافته بود، عصاره گل همیشه بهار توانست اثرات منفی ناشی از این ماده سمی را تقلیل دهد. سطوح کلسترول و تری‌گلیسرید در تیمار 150 و 450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره همیشه‌بهار نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش معنی‌دار داشت. نتایج نشان داد عصاره گل همیشه‌بهار می تواند به عنوان محافظت کننده کبد در مواجهه با سموم مختلف در تغذیه طیور مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تتراکلریدکربن، کبد، جوجه گوشتی، عصاره گل همیشه‌بهار.

مقدمه

با وجود تمامی اثرات مثبت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، تحقیقات نشان داد بقایای آنتی‌بیوتیک‌های موجود در لاشه‌ی طیور منجربه ایجاد سویه‌های مقاوم در بدن انسان‌ها و مانع از درمان بسیاری از بیماری‌هایی شده که در درمان آن‌ها از آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌شد؛ لذا عصاره‌های گیاهی، پروبیوتیک‌ها، آنزیم‌ها و غیره به‌عنوان جایگزین در جیره طیور در نظر گرفته شدند (43). گیاهان دارویی به گیاهانی اطلاق می‌شود که یکی از اجزای آن (ساقه، ریشه، گل، برگ و میوه) دارای ماده مؤثره‌ی مشخصی باشد (این ماده کمتر از 1٪ وزن خشک گیاه را تشکیل می‌دهد) که به آن Active substance گویند، در درمان بیماری یا پیش‌گیری از بروز آن مورد استفاده قرار گیرد و نام آن در یکی از فارماکوپه‌های بین‌المللی ذکر شده باشد (1). گل همیشه‌بهار از خانواده کمپوزیته و یکی از گیاهان پراهمیت جنس کالندولا محسوب می‌شود که دارای چندین خاصیت دارویی است (24). این گیاه بومی منطقه جنوب اروپا است اما از آن‌جایی که در مقیاس تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرد، در شمال آمریکا، شرق اروپا و هم‌چنین آلمان به‌طور وسیع کشت می‌شود (28). گل همیشه‌بهار از قرن دوازدهم در علم داروسازی مورد استفاده قرار گرفته است و نام آن برگرفته از یک کلمه‌ی لاتین به‌نام Calends به‌معنای اولین روز هر ماه، به‌خاطر دوره‌ی گل‌دهی طولانی آن است (19 و21). گل همیشه‌بهار با نام معمول English Garden Marigold نیز شناخته می‌شود (6). گل همیشه‌بهار حاوی ساپونین‌ها، فلاوونوییدها، موسیلاژ، عصاره‌ی روغنی، گلیکوزید، رزین و ترکیبات

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم دام دانشگاه فردوسی مشهد،
2- استاد گروه علوم دام دانشگاه فردوسی مشهد،
3- دانشجوی دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
(* نویسنده مسئول: kermansh@um.ac.ir)

استرواییدی است (4، 9 و 32).گل همیشه‌بهار به‌دلیل دارا بودن خواص ترمیم سلول، درمان زخم‌ها (15 و 34)، کاهش التهاب (34 و 35) و همچنین نرمی پوست؛ اغلب در فرآورده‌های مربوط به مراقبت از پوست به‌کار گرفته می‌شود (6). روغن استخراج شده از گل همیشه‌بهار دارای اثرات ضدمیکروب و آنتی‌باکتریال است (20). روغن گل همیشه‌بهار با داشتن پتانسیل بسیار بالا در مهار واکنش‌های رادیکال آزاد، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی می‌تواند در صنعت آرایشی و بهداشتی مؤثر واقع شود (7 و 16). گل و برگ‌های این گیاه بخش‌های اصلی دارای اهمیت تجاری و دارویی هستند. مشخص شده است که TNF-آلفا (فاکتور نکروزه شدن تومور) تولید شده توسط ماکروفاژها، بوسیله‌ی عصاره گل همیشه‌بهار مهار شده است. عصاره‌ی این گیاه در برابر سمیت کبد حاد ناشی از تتراکلریدکربن و سمیت کلیوی ناشی از سیس‌پلاتین اثرمحافظتی داشته است. عصاره‌ی همیشه‌بهار دارای چندین کاروتنویید غالب شامل لوتئین، زی- گزانتین و لیکوپن است (23). مکانیسم احتمالی عمل عصاره همیشه‌بهار به‌علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد است (34).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 5 تیمار و 4 تکرار و 10 پرنده در هر تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل گروه کنترل (فاقد افزودنی عصاره گل همیشه‌بهار و تتراکلریدکربن)،گروه تتراکلریدکربن و گروه‌های300،150 و450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره روغنی گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن (یک میلی‌گرم در کیلوگرم وزن‌بدن)، بر اساس روش آویجیت و همکاران بود (3). عصاره‌ی روغنی گل همیشه‌بهار از شرکت دارویی زردبند تهران خریداری شد. بخش مورد استفاده این گیاه گلبرگ‌های آن بود که از طریق هضم گل‌هادر روغن آفتابگردان (به میزان 200 گرم گل خشک در 1 کیلوگرم روغن) در دمای معمولی عصاره تهیه شد .مدل آماری این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی و جیره‌های غذایی بر اساس راهنمای مدیریت راس2009، با سطوح یکسان انرژی و پروتئین تنظیم شد. شرایط محیطی از جمله نور، رطوبت، تهویه برای تمامی تیمارها یکسان اعمال شد. در طول دوره پژوهش آب و خوراک به‌صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار داده شد. تیمارهای آزمایشی از یک روزگی در جیره اعمال شده است. ترکیب و اجزای تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی در جدول (1) ارایه شده است.برای به دست آوردن مقدار خوراک مصرفی دوره ای در هر واحد آزمایشی، مقدار دان برگشتی آن دوره وزن و از مقدار دان مصرفی آن واحد آزمایشی کسر تا مقدار دان مصرفی به‌دست آید. جوجه‌های هر تکرار به‌صورت گروهی در پایان هر دوره توزین شدند. از اختلاف وزن هر گروه در ابتدا و انتهای هر دوره، میزان افزایش وزن در آن دوره مشخص شد. ضریب تبدیل خوراک از تقسیم مصرف خوراک جوجه‌های هر پن در دوره به متوسط افزایش وزن روزانه هر پن در دوره محاسبه گردید. از روز 21 تا 30 آزمایش، هر دو روز، تتراکلریدکربن به‌عنوان عامل درگیر کننده‌ی کبد، به‌صورت داخل صفاقی و در طول این مدت به گروه کنترل یک میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن محلول کلریدسدیم 0/9% تزریق شد (5، 25 و 40). به‌منظور بررسی پاسخ‌های ایمنی، پس از پایان دوره تزریق تتراکلریدکربن در 33 روزگی، یک قطعه جوجه از هر تکرار انتخاب شد و از ورید بال خون‌گیری به‌عمل آمد، سپس به‌منظور بررسی وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی (تیموس، طحال و بورس‌فابرسیوس) کشتار انجام شد. تعداد هفت جفت از تیموس پرندگان مورد بررسی قرار گرفت. در 28 روزگی، دو قطعه از هر تکرار انتخاب و محلول 5% SRBC به‌صورت عضلانی (داخل سینه) تزریق شد. به‌منظور بررسی پاسخ ایمنی، هفت روز بعد از تزریق SRBC، خون‌گیری از پرندگان انجام شد؛ همچنین به همان پرندگان در 35 روزگی محلول SRBC تزریق شد و در 42 روزگی خون‌گیری به‌عمل آمد. در سن 33 روزگی از رگ بال یک قطعه جوجه از هر پن خون‌گیری شد و برخی فراسنجه‌های خون (کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین، بیلی‌روبین، SGPT وSGOT)، با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر اندازه‌گیری شد. در 33روزگی از هر واحد آزمایشی یک قطعه جوجه با وزن نزدیک به میانگین وزنی همان واحد آزمایشی انتخاب و پس از کشتار، وزن کبد به‌صورت درصدی از وزن بدن مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه وتحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزارآماری SAS و اختلاف معنی‌داری میانگین‌هاتوسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن بررسی شد (P<0/05).

نتایج وبحث

عملکرد

با توجه به جدول (2)، صفات عملکردی مورد بررسی (مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی)، اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان نداد (P>0/05). بیشترین میزان مصرف خوراک در دوره آغازین و رشد مربوط به تیمارهای سطوح مختلف عصاره گل همیشه‌بهار بود. در دوره پایانی و کل دوره بیشترین میزان مصرف خوراک به گروه کنترل اختصاص داشت. در هیچ‌کدام از دوره‌ها، افزایش وزن روزانه (گرم برای هر جوجه در روز) اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد.

جدول 1- ترکیب و اجزای تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی بر حسب درصد

Table 1- Ingredients and composition of experimental diets (%)

اجزای جیره (%) Ingredients (%)	دوره‌های آزمایش Experimental periods		
	دوره آغازین (1-10 روزگی) Starter (1-10 d)	دوره رشد (11-24 روزگی) Grower (11-24 d)	دوره پایانی (25-42 روزگی) Finisher (25-42 d)
ذرت Corn	50.19	53.43	59.28
کنجاله سویا Soybean meal	40.75	36.32	31.06
روغن سویا Soybean oil	4.55	6.00	5.76
دی کلسیم فسفات Di calcium Phosphate	1.68	1.72	1.06
سنگ آهک Limestone	1.30	1.07	1.04
نمک طعام Common salt	0.35	0.35	0.35
مکمل معدنی[1] Mineral premix[1]	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینی[1] Vitamin premix[1]	0.25	0.25	0.25
دی‌ال‌متیونین DL-methionine	0.32	0.30	0.26
ال‌لیزین L-lysine	0.30	0.31	0.15
ترئونین Threonine	0.06	-	-
ترکیبات شیمیایی(%) Chemical composition (%)			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) Metabolizable energy(Kcal/kg)	3025	3150	3200
پروتئین Protein	22.47	21.00	19.00
کلسیم Calcium	1.05	0.90	0.85
فسفر قابل دسترس Available phosphorous	0.50	0.45	0.42
سدیم Sodium	0.16	0.16	0.16
آرژنین Arginine	1.45	1.34	1.20
لیزین Lysine	1.43	1.34	1.09
متیونین Methionine	0.71	0.61	0.55
متیونین + سیستین Methionine + Cystine	1.07	0.95	0.86
ترئونین Threonine	0.94	0.83	0.76
فیبر خام Crude fiber	3.91	3.71	3.47

ادامه جدول 1

Continuation of Table 1

چربی خام Crude fat	6.52	7.72	7.68
توازن الکترولیت (mEq/kg) Electrolite balance (mEq/kg)	245	225	204

[1]مکمل ویتامینی و مواد معدنی به ازای هر کیلوگرم جیره: ویتامینA: 8800 واحد بین‌المللی، کوله کلسیفرول: 2500 واحد بین‌المللی، ویتامینE: 11 واحد بین‌المللی، ویتامین K3: 2/2 میلی‌گرم، ویتامینB12: 0/01 میلی‌گرم، تیامین: 1/5 میلی‌گرم، ریبوفلاوین: 4 میلی‌گرم، نیاسین: 35 میلی‌گرم، اسید فولیک: 0/5 میلی‌گرم، بیوتین: 0/15 میلی‌گرم پیرودوکسین: 2/5 میلی‌گرم، اسید پنتوتنیک: 8 میلی‌گرم، کولین کلراید: 50 میلی‌گرم، بتائین: 190 میلی‌گرم، روی: 65 میلی‌گرم، منگنز: 75 میلی‌گرم، سلنیوم: 0/2 میلی‌گرم، ید: 0/9 میلی‌گرم، مس: 6 میلی‌گرم، آهن، 75 میلی‌گرم.

[1]Vitamin and mineral premix provided (per kilogram of diet): Vitamin A: 8800 IU; Cholecalsiferol: 2500 IU; Vitamin E: 11 IU; Vitamin K_3: 2.2 mg; Vitamin B12: 0.01 mg; Thiamin: 1.5 mg; Riboflavin: 4 mg; Niacin: 45 mg; Folic Acid: 0.5 mg; Biotin: 0.15 mg; Pyridoxine: 2.5 mg; Pantothenic acid: 8 mg; Colin chloride: 50 mg; Betaiene: 190 mg; Zn: 65 mg; Mn: 75 mg; Se: 0.2 mg; I: 0.9 mg; Cu: 6 mg; Fe: 75 mg.

جدول 2- اثر سطوح مختلف عصاره گل همیشه‌بهار بر صفات عملکرد جوجه‌های گوشتی درگیر شده با تتراکلریدکربن

Table 2- Effect of different levels of marigold oil extract on broiler chickens challenged by CCl4

تیمار[1] Treatment[1]	عملکرد Performance											
	مصرف خوراک روزانه (پرنده/گرم) Daily feed intake				افزایش وزن روزانه (پرنده/گرم) Daily weight gain				ضریب تبدیل خوراک Feed conversation ratio			
	آغازین Starter 10-0	رشد Grower 24-11	پایانی Finisher 42-25	کل Total 42-0	آغازین Starter 10-0	رشد Grower 24-11	پایانی Finisher 42-25	کل Total 42-0	آغازین Starter 10-0	رشد Grower 24-11	پایانی Finisher 42-25	کل Total 42-0
A	24.9	63.9	113.4	79.0	15.4	31.9	59.2	40.1	1.6	2.0	1.9	1.9
B	25.7	64.7	114.1	76.3	15.4	30.1	50.9	37.7	1.7	2.1	2.0	2.1
C	25.4	36.9	49.6	28.7	16.1	28.7	49.6	36.9	1.5	1.9	2.0	2.0
D	25.9	36.5	55.7	30.9	16.4	30.9	55.7	36.4	1.5	2.1	2.0	2.1
E	26.3	38.8	56.5	32.9	15.8	32.9	56.5	38.8	1.6	1.9	1.9	1.9
SEM	0.70	2.19	5.18	2.15	0.77	2.15	5.18	2.19	0.12	0.07	0.06	0.14
P-values	0.87	0.68	0.24	0.51	0.73	0.51	0.24	0.68	0.13	0.43	0.29	0.10

[1]A : کنترل، B: تتراکلریدکربن، C: تتراکلریدکربن+ 150 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار، D: تتراکلریدکربن+ 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار، E: تتراکلریدکربن+ 450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار.

[1]A: Control, B: CCl4, C: CCl4+ per kg marigold extract 150 mg, D: CCl4+ per kg marigold extract 300 mg, E: CCl4+ per kg marigold extract 450 mg.

در دوره‌ی آغازین بیشترین میزان افزایش وزن روزانه مربوط به تیمار دُز 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن و کمترین میزان افزایش وزن روزانه مربوط به گروه تتراکلریدکربن بود. طی دوره‌ی رشد بیشترین میزان افزایش وزن بدن مربوط به تیمار دُز 450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره‌ی گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن و کمترین میزان آن در دُز 150 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن مشاهده شد. در دوره‌ی پایانی، بیشترین مقدار افزایش وزن مربوط به گروه کنترل و کمترین میزان مربوط به تیمار دُز 150 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن بود. تیمارهای آزمایشی تأثیری بر ضریب تبدیل غذایی در طول دوره پرورشی نداشتند. در دوره آغازین، مناسب‌ترین ضریب تبدیل مربوط به تیمار دُز 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار+ تتراکلریدکربن و نامناسب‌ترین ضریب تبدیل مربوط به گروه تتراکلریدکربن بود. در دوره رشد، پایانی و کل دوره مناسب‌ترین ضریب تبدیل را تیمار دُز 450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار + تتراکلریدکربن داشت و نامناسب‌ترین ضریب تبدیل در دوره رشد مربوط به تیمار دُز 150 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن و در دوره پایانی و کل مربوط به گروه تتراکلریدکربن بود. دلایل ممکن برای عدم تأثیر بر عملکرد در دوره آغازین می‌تواند استفاده از عصاره گیاه به جای ترکیبات فعال گیاه و اسانس‌های گیاهی و مناسب نبودن سطوح استفاده شده باشد. طی دوره‌های رشد و پایانی که تتراکلریدکربن اعمال شده بود، انتظار می‌رفت سطوح مختلف عصاره گل همیشه‌بهار بتواند اثرات منفی ناشی از این ماده سمی بر عملکرد را تا حدودی بهبود بخشد، اما همانطور که در جدول (2) مشاهده می‌شود، نتوانست تأثیر معنی‌داری داشته باشد. برخی از اسانس‌های گیاهی ترشح آنزیم‌های هضمی را

تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. نتایج متغیری بر تأثیر افزودنی‌ها بر عملکرد گزارش شده است (7). نتایج اکثر محققان مطابق با این تحقیق، عدم تأثیر این فایتوبیوتیک‌ها را بر عملکرد با استفاده از جیره‌های مکمل‌شده با اسانس مرزن‌جوش، آویشن، همیشه‌بهار، دارچین و پودر سیر را گزارش کرده‌اند (17). شاید استفاده از ترکیبات فعال گیاه و اسانس‌های گیاهی در مقایسه با خود گیاه نتایج بهتری بر عملکرد حیوان داشته باشد. هم‌چنین مشخص شده است که اثر فایتوبیوتیک‌ها وروغن‌های ضروری جیره زمانی‌که جوجه‌هادرمعرض شرایط غیر بهینه (نظیرقابلیت هضم پایین جیره و یا پاکیزه نبودن محیط) باشند ظاهر می‌گردد (22). همچنین مناسب نبودن سطوح استفاده شده نیزممکن است عامل دیگری درکاهش عملکرد باشد. افزودن اسانس رازیانه در سطوح 100و200میلی‌گرم درکیلوگرم خوراک نتوانست تفاوت معنی‌داری را روی عملکرد در مقایسه باگروه کنترل در جوجه‌های گوشتی ایجاد کند، حال‌آن‌که همین اسانس در سطح400 میلی‌گرم درکیلوگرم خوراک متوسط افزایش وزن روزانه را به طورمعنی‌داری بهبود بخشید (11).

جدول 3- اثر سطوح مختلف عصاره گل همیشه‌بهار بر ایمنوگلوبولین‌های سرم خون در تزریق SRBC در جوجه‌های گوشتی درگیر شده با تتراکلریدکربن[1]

Table 3- Effect of different levels of marigold oil extract on blood serum in SRBC injected broiler chicks challenged with CCl4[1]

تیمار[2] Treatment[2]	ایمینوگلوبولین‌های سرم خون Immunoglobulin blood serum					
	28 روزگی Day 28			35 روزگی Day 35		
	IgT[3] (Log_2)	IgG (Log_2)	IgM (Log_2)	IgT[3] (Log_2)	IgG (Log_2)	IgM (Log_2)
A	4.7	1.2^{b}	3.5	5.5	3.0^{a}	2.5
B	3.7	1.5^{ab}	2.2	5.7	1.2^{b}	4.5
C	5.7	1.2^{b}	4.5	4.5	1.5^{ab}	3.3
D	7.5	2.5^{a}	5.0	5.5	1.7^{ab}	3.7
E	4.5	1.7^{ab}	2.7	5.0	1.2^{b}	3.7
SEM	0.51	0.13	0.45	0.33	0.20	0.26
P-values	0.133	0.025	0.206	0.681	0.034	0.106

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

[2] A : کنترل، B: تتراکلریدکربن، C: تتراکلریدکربن+ 150 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار، D: تتراکلریدکربن+ 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار، E: تتراکلریدکربن+ 450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار.

[3]میانگین اعداد در هر ستون تیتر IgT (Anti-SRBC)، IgG و IgM به‌صورت $\log_2$ معکوس کسر آخرین رقّت مشاهده شده آگلوتیناسیون است.

[1]Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

[2]A: Control, B: CCl4, C: CCl4+ per kg marigold extract 150 mg, D: CCl4+ per kg marigold extract 300 mg, E: CCl4+ per kg marigold extract 450 mg.

جدول4- اثر سطوح مختلف عصاره گل همیشه‌بهار بر وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی (نسبت به وزن لاشه) در جوجه‌های گوشتی درگیر شده با تتراکلریدکربن (33 روزگی)[1]

Table 4- Effect of different levels of marigold oil extract on relative weight of lymphoid organs (relative to body weight) in broiler chicks challenged with CCl4 (day 33)[1]

تیمار[2] Treatment[2]	وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی Relative weight of lymphoid organs			
	تیموس(%) Timus (%)	بورس‌فابرسیوس (%) Bursa-Fabriscius (%)	بورس‌فابرسیوس (%) Bursa-Fabriscius (%)	طحال (%) Spleen (%)
A	0.251^{ab}	0.0137	0.127	0.068
B	0.236^{b}	0.0139	0.139	0.050
C	0.296^{ab}	0.0120	0.120	0.079
D	0.652^{a}	0.149	0.149	0.051
E	0.324^{ab}	0.041	0.141	0.069
SEM	0.046	0.005	0.005	0.004
P-values	0.043	0.0465	0.465	0.189

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

[2] A : کنترل، B: تتراکلریدکربن، C: تتراکلریدکربن+ 150 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار، D: تتراکلریدکربن+ 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار، E: تتراکلریدکربن+ 450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار.

[1]Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

[2]A: Control, B: CCl4, C: CCl4+ per kg marigold extract 150 mg, D: CCl4+ per kg marigold extract 300 mg, E: CCl4+ per kg marigold extract 450 mg.

فراسنجه‌های خونی

آنزیم‌های خونی نشان‌دهنده آسیب کبد، شامل SGPT و SGO که در اثر تزریق تتراکلریدکربن مقدارشان افزایش یافته بود، در تیمارهای دارای عصاره گل همیشه‌بهار به‌صورت معنی‌داری کاهش داشت (P<0/05) (جدول 5). در آزمایشی که پریتی و کوتان (34) روی موش‌های ماده نژاد ویستار صورت دادند، مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های کبدSGPT وSGOT در تیماری که تنها ماده‌ی افزودنی تتراکلریدکربن استفاده کرده بود نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرده بود و اما فعالیت آن‌ها در تیمارهای حاوی عصاره گل همیشه‌بهار به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت (5، 24، 33، 34 و 44). در مطالعه‌ای استفاده از سیلیمارین به عنوان داروی کبد استاندارد مشخص کرد که اثر محافظتی در برابر سمیت ناشی از تتراکلریدکربن داشته و سبب کاهش آنزیم‌های درون سلولی کبد شامل SGPT و SGOT در مقایسه با سایر گروه‌هامی‌شود (5). همان‌طور که در جدول (5) قابل مشاهده است، سطوح کلسترول و تری‌گلیسرید به‌ترتیب در تیمار 150و 450میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن نسبت به تیمار تتراکلریدکربن کاهش معنی‌داری داشت (P<0/05). در مطالعه‌ای که کبد موش‌های نژاد ویستار توسط استامینوفن درگیر شد و از عصاره‌ی هیدروالکلی گل همیشه‌بهار استفاده شد، مقدار کلسترول و تری‌گلیسرید در سطوح مختلف عصاره‌ی گل همیشه‌بهار نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌داری را نشان نداد (13). مقدار بیلی‌روبین سرم خون در تیمار تتراکلریدکربن نسبت به سایر تیمارها به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت (P<0/05) (جدول 5). تتراکلریدکربن با ایجاد آسیب در سلول کبد باعث افزایش غلظت بیلی‌روبین سرم می‌شود (18 و 37). در موش‌هایی که تتراکلریدکربن را به‌تنهایی دریافت کردند در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش غلظت بیلی‌روبین مشاهده شد (5 و 34). وزن نسبی کبد در تیمار 450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن نسبت به تیمار تتراکلریدکربن به‌صورت معنی‌داری کمتر بود (P<0/05).

سنجش سیستم ایمنی(وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی و سنجش ایمنی هومورال (تیتر SRBC))

بیماری‌های کبد و درمان آن هم‌چنان به‌عنوان یک مشکل اساسی در حال بررسی می‌باشد و در کانون توجه جامعه که در آن اهمیت سلامت کبد بر سلامت سایر ارگان‌ها برتری دارد، است (39). تتراکلریدکربن به‌عنوان یک عامل هپاتوتوکسین قوی ایجاد طیف گسترده‌ای از اختلالات سلول‌های کبد از جمله خون‌ریزی سطحی، کاهش ترشح چربی و کبد چرب می‌کند (26). همچنین تتراکلریدکربن سبب آسیب‌های سیروز کبد می‌شود که در برخی از موارد این حالت‌ها در نهایت منجربه بروز سرطان کبد می‌شود (31). در این مطالعه به‌عنوان یک مدل از آسیب کبد ناشی از مواد شیمیایی مورد استفاده قرار گرفته است. تغییرات ناشی از تتراکلریدکربن شبیه بیماری‌های کبد مزمن ناشی از ویروس‌ها می‌باشد. تتراکلریدکربن توسط سیستم سیتوکروم P450 به رادیکال‌های آزاد تری‌کلرومتیل تبدیل می‌شود. رادیکال‌های آزاد تولید شده به‌طور کووالانی با غشاهای سلولی و اندامک‌ها متصل شده و باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع و اختلال در هموستاز کلسیم ودر پایان مرگ سلولی می‌شود (14، 29، 30، 42 و 45). رادیکال‌های آزاد حاصل ازتتراکلریدکربن با تخریب غشای هپاتوسیت، باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کبد شده و همین عامل باعث می‌شود آنزیم‌هایی که در حالت طبیعی درون سیتوزول سلولی قرار دارند، وارد جریان خون شوند و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها بیان‌گر مقدار و نوع آسیب‌های کبد است (46). نتایج حاصل از تزریق علیه SRBC در 28 روزگی بیان‌گر این امر است که غلظت ایمنوگلوبولین‌های T و M اختلاف معنی‌داری را در تیمارها نشان نمی‌دهند؛ اما سطح ایمنوگلوبولین G در تیمار دارای تتراکلرید کربن+300 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار نسبت به گروه کنترل و تیمار 150 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن افزایش معنی‌داری داشت. نتایج حاصل از تزریق علیهSRBC در 35 روزگی نشان می‌دهد سطح ایمنوگلوبولین‌هایAnti-SRBC) T) و M اختلاف معنی‌داری در میان تیمارها ندارند؛ اما سطح ایمنوگلوبولین G در گروه کنترل نسبت به تیمار تتراکلریدکربن و تیمار 450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار افزایش معنی‌داری داشت (P<0/05). دلایل ممکن براین نتیجه به‌دست آمده می تواند این باشد که تتراکلریدکربن اثر منفی بر سیستم ایمنی جوجه‌ها گذاشته و تیمار 450 عصاره گل همیشه‌بهار شاید به‌دلیل دز بالا، آنتی‌اکسیدان‌های آن اثر معکوس گذاشته و به‌عنوان پرواکسیدان عمل کرده؛ یعنی باعث افزایش اکسیداسیون شده است (جدول 3). در میان تیمارها از نظر وزن نسبی بورس‌فابرسیوس و طحال اختلاف معنی‌داری حاصل نشده است؛ اما وزن نسبی تیموس در تیمار300 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار+تتراکلریدکربن افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار تتراکلریدکربن داشت (جدول 4) (P<0/05). گل همیشه‌بهار به‌دلیل دارا بودن ماده مؤثره‌ی فلاوونوئید توانسته از طریق افزایش سطح IgG، سیستم ایمنی هومورال را تقویت کند (10). به‌نظر می‌رسد عصاره برخی گیاهان از راه افزایش تیتر آنتی‌بادی موجب افزایش ایمنی بدن گردیده و احتمال داده شده که این عصاره‌ها از راه اثر بر

لمفوسیت‌های زیرمخاطی دستگاه گوارش و تحریک ایمنی موضعی موجب افزایش فاکتورهای ایمنی هومورال شود (38). هم‌چنین محققان دیگر گزارش کردند که برخی عصاره‌های گیاهی موجب افزایش تیتر آنتی‌بادی در بدن مرغ و بوقلمون می‌شوند (17). داروهای گیاهی سبب افزایش رشد اندام‌های ایمنی می‌شوند (38) که در مورد تیموس در این آزمایش صدق می‌کند، اما در رابطه با بورس‌فابرسیوس و طحال مغایرت دارد. گیاهان غنی از فلاوونوئید و ترکیبات فنولیک دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (36)؛ در این رابطه مشخص شده که اصلی‌ترین ماده مؤثره‌ی گل همیشه‌بهار فلاوونوئید است. فلاوونوئیدهای موجود در گل‌برگ‌های گیاه همیشه‌بهار اثر محافظت کبد از خود نشان داده‌اند (5). نتایج نشان داد که عصاره گل همیشه‌بهار توانسته در سطح 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک موجب افزایش کارایی سیستم ایمنی طیور شود. اثر محافظتی عصاره گل همیشه‌بهار شاید به مهار رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه مربوط باشد که بوسیله کوردووا و همکاران (12) ذکر شده است؛ بیان‌گر این امر است که عصاره‌ی گیاه همیشه‌بهار سرشار از متابولیت‌های فعال زیستی از جمله فلاوونوئیدها و ترپنوئیدها است؛ این مواد تشکیل دهنده‌ی فعال، فعالیت‌های قوی برای مهار رادیکال‌های سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل حاصل از متابولیت‌های تتراکلریدکربن دارند. این مطالعه نشان داد که اثر عصاره گل همیشه‌بهارمربوط به مواد مؤثره‌ی موجود در آن (فلاوونوئید) است واز آنجایی که در تیمار300عصاره گل همیشه‌بهار هم تیموس و هم IgG به صورت معنی داری نسبت به سایر تیمارها در سطح بالاتر قرار دارد؛ می توان نتیجه گرفت که در این سطح عصاره همیشه بهار توانسته بر سیستم ایمنی بدن موثر واقع شود.

جدول5- اثر سطوح مختلف عصاره گل همیشه‌بهار بر فراسنجه‌های خون و وزن نسبی کبد جوجه‌های گوشتی درگیر شده با تتراکلریدکربن (33 روزگی)[1]

Table 5- Effect of different levels of marigold oil extract on blood parameters and relative weight of liver of broiler chicks challenged with CCl4 (day 33)[1]

تیمار[2] Treatment[2]	فراسنجه‌های خون و وزن نسبی کبد Blood parameters and relative weight of liver					
	بیلی‌روبین(mg/dl) Bilirubin	کلسترول (mg/dl) Chlostrol	تری‌گلیسرید(mg/dl) Triglyceride	SGPT[3] (IU/L)	SGOT[4] (IU/L)	کبد (%) Liver
A	0.42^{b}	123.5^{ab}	70.50^{ab}	20.75^{b}	197.75^{d}	1.451^{ab}
B	3.40^{a}	141.0^{a}	73.25^{a}	$30/75^{a}$	295.25^{a}	1.581^{a}
C	1.25^{b}	113.5^{b}	64.25^{ab}	23.75^{b}	269.75^{ab}	1.432^{ab}
D	1.00^{b}	127.0^{ab}	53.50^{ab}	23.25^{b}	233.00^{c}	1.461^{ab}
E	0.50^{b}	127.0^{ab}	51.50^{b}	22.5^{b}	256.75^{cb}	1.350^{b}
SEM	0.107	1.86	2.134	0.529	3.436	0.034
P-values	0.0001	0.005	0.017	0.0003	0.0001	0.047

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0.05$).

[2]A : کنترل، B: تتراکلریدکربن، C: تتراکلریدکربن+ 150 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار، D: تتراکلریدکربن+ 300 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار، E: تتراکلریدکربن+ 450 میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک عصاره گل همیشه‌بهار.

[1]Means within same column with different superscripts differ ($P<0.05$).

[2]A: Control, B: CCl4, C: CCl4+ per kg marigold extract 150 mg, D: CCl4+ per kg marigold extract 300 mg, E: CCl4+ per kg marigold extract 450 mg.

[3]SGPT: Serum Glutamic Pyruvic Trans Aminas, [4]SGOT: Serum Glutamic Oxalic Trans Aminas.

منابع

1- Beygi, A. 2000. Production and processing of medicinal plants. N.3. Khorasan Razavi. Astan Ghods publication (In persian).

2- Sadeghi, H., A. Gheytasi., N. Mazrooghi., S. Sabz Ali. 2007. Investigation of liver protective effects of Durema aucheri L. on toxicity treatment by ccl4 in glosbe. Medical university of Shahre-Kord. 6(4): 38.43 (In persian).

3- Avijeet, J., S. Manish., D. Lokesh., J. Anuurekha., V. Gupta., and K. Krishna. 2008. Antioxidant and hepatoprotectiveactivity of ethanolic and aqueousextracts of Momordicadioica Roxb. Journal of Ethnicity, 115: 61-66.

4- Azzaz, N. A., E. A. Hassan., and F. A. Emarey. 2009. Physiological, anatomical, and biochemical studies on pot marigold (Calendula officinalis L.) plants.African Crop Science Conference Proceedings, 8:1727-1738.

5- Basavaraj, V. C., V. B. Karnakumar., and S. Sh. Rajabhau. 2011. Evaluation of Hepatoprotective Activity of Flowers of "Tagetes erecta linn". International Journal of Pharmacology & Biology, 2:692-695.

6- Basch, E., S. Bent., I. Foppa., S. Haskmi., D. Krol., M. Mele., P. Szapary., C. Ulbricht., M. Vora., and S. Yong.

2006. Marigold (Calendula officinalis L.): An evidence-based systematic reviewby the natural standard research collaboration. Journal of Herb Pharmacother, 6 :(3-4) 135.
7- Brenes, A., and E. Roura. 2010. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. Animal Feed Science &Technology, 158: 1-14.
8- Braga, P.C., S. M. Dal., M. Culici., A. Spallino., M. Falchi., A. Bertelli., R. Morelli., and S. R. Lo. 2009. Antioxidant activity of Calendula officinalis extract: inhibitory effects on chemiluminescence of human neutrophil bursts and electron paramagnetic resonance spectroscopy. Journal of Pharmacology, 83(6): 348-55.
9- Chalchat, J. C., R. P. Garry., and A. Michet. 2009. Chemical composition of essential oil of Calendula officinalis L. (pot marigold) Flavour and Fragrance. Indian Journal of Pharmacology, 6(3): 189–192.
10- Christake, E., V. Paneri., I. Giannenas., M. Papazahariadou., N. A. Botsoglou., and A. B. Spais. 2004. Effect of mixture of herbal extract on broiler chicken infected with eimeria tenella. Animal Research, 53: 137-144.
11- Ciftci, M., T. Güler., B. Dalkiliç., and N. Ertas. 2005.The effect of anise oil (Pimpinella anisum L.) on broiler performance. International Journal of Poultry Science, 4: 851-855
12- Cordova, C. A., I. R. Siqueira., C. A. Netto., R. A. Yunes., A. M. Volpato., V. Cechinel Filho., R. Curi-Pedrosa., and T. B. Creczynski-Pasa. 2002. Protective properties of butanolic extract of the Calendula officinalis L. (marigold) against lipid peroxidation of rat liver microsomes and action as free radical scavenger. Redox Report, 7: 95-102.
13- Erick, J. R., E. S. Silva., F. A. Gonçalves., B. Liriane., M. M. A. Evêncio., O. C. Lyra., C. A. Coelho, Maria do Carmo., and G. Almir.. 2007. Toxicological studies on hydroalcohol extract of *Calendula officinalis* L. Phytology Research, 332–336.
14- Ferre, N., K. Camps., M. Cabre., A. Paul., and J. Joven. 2001. Hepatic paraoxygenase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. Indian Journal of pharmacology, 50: 997-1000.
15- Fronza, M., B. Heinzmann., M. Hamburger., S.Laufer., I. Merfort. 2009. Determination of the wound healing effect of Calendula extracts using the scratch assay with 3T3 fibroblasts. Journal Ethnicity Pharmacology, 126(3): 463-7.
16- Guinot, P., A. Gargadennec., G. Valette., A. Fruchier., and C. Andary. 2008. Primary flavonoids in marigold dye: extraction, structure and involvement in the dyeing process. Phytology Annal, 19(1): 46-51.
17- Hernandez, F., J. Madrid., V. Garcia., J. Orengo., and M. D. Megias. 2004. Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility and digestive organ size. Poultry Science, 83: 169-174.
18- Jayasekhar, P., and P. V. Mohanan. 1997. Rathinam K. Hepatoprotective activity of ethyl acetate extract of Acacia catechu. Indian Journal of Pharmacology, 29: 426-8.
19- Kassab, S., M. Cummings., S. Berkovitz., H. R. Van., and P. Fisher. 2009. Homeopathic medicines for adverse effects of cancer treatments. Cochrane Data base of Systematic Reviews, 15(2): CD004845.
20- Kasprzyk, Z., and J. Pyrek. 1968. Triterpenic alcohols of Calendula officinalis L. flowers Phytochemistry. Journal of Animal Science, 7(9): 1631-1639.
21- Krag, K. 1976. Plants used as contraceptives by the North American Indians: an ethnobotanical study. Botanical Museum Cambridge Harward University, 1177.
22- Lee, K. W., H. Everts., H. J. Kappert., M. Frehner., R. Losa., A. C. Beynen. 2003. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. British Journal of Poultry Science, 3: 738-752.
23- Lin, L. T., Liu, L. T., Chiang, L. C., Lin, C. C. 2002. In vitro anti-hepatoma activity of fifteen natural medicines from Canada. Phytology Research, 16: 440-444.
24- Manal, S. H., H. Osama., S. El-Tawil., Y. Nour El-Hoda., and A. A. Khalid. 2010. The protective effect of *Morus Alba*and *Calendula Officinalis*plant extracts on Carbon Tetrachloride- induced hepatotoxicity in isolated rat hepatocytes. Journal of American Science, 6: 78-90.
25- Manoj, B., and U. K. Aqueed. 2003. Protective role of Lawsonia Alba Lam against CCl4 induced hepatic damage in albino rats. Indian Journal of Exprimental Biology, 41:85-87.
26- Masuda, Y. 2006. Learning toxicology from Carbon Tetrachloride-induced hepatotoxicity. Journal Pharmacology Society Japanis, 126(10): 885-899.
27- Muley, B. P., S. S. Khadabadi., and N. B. Banarase. 2009. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* L. Review Tropical Journal Pharmacology Research, .8: 455-465.
28- Neukiron, H., M. Ambrosio., J. Dovia., and A. Guerriero. 2004. Simultaneous quantitative determination of eight triterpenoid monoesters from flowers of 10 varieties of Calendula officinalis L. and characterisation of a new triterpenoid monoester. Phytology Annal, 15: 30-35.
29- Noguchi, T., K. L. Fong., E. Lai., L. Olson., and P. B. McCay. 1982. Selective early loss of polypeptides in liver microsomes of CCl_4 treated rats_ Relationship to cytochrome p-450 content. Biology Pharmacology, 31-60.
30- Ozbek, H., M. Ozturk., I. Bayarm., S. Ugras., G. S. Citoglu. 2003. Hypoglycemic and hepatoprotective effects of Foeniculum vulgar Miller seed fixed oil extract in mice and rats. East Journal Medicine, 8: 35-40.
31- 31.Park, S. W., C. H. Lee., Y. S. Kim., S. S. Kang., S. J. Jeon., K. H. Son., and S. M. Lee. 2008. Protective effect

of baicalin against Carbon Tetrachloride-induced acute hepatic injury in Mice. Journal Pharmacology Science, 11:121-140.
32- Pietta, P., A. M. P. Bruno., and A. Rava. 1992. Separation of flavonol-2-O-glycosides from Calendula officinalis and Sambucus nigra by high-performance liquid and micellar electrokinetic capillary chromatography. Journal of Chromatography, 593:165-170.
33- Pradeep, K., and C. V. Mohan., K. Gobianand., and S. Karthikeyan. 2007. Silymarin modulates the oxidant-antioxidant imbalance during diethylnitrosamine induced oxidative stress in rats. Europe Journal of Pharmacology, 560(2-3): 110-6.
34- Preethi, K. C., and G. Kuttan. 2009. Antiinflammatory activity of flower extract of*Calendula officinalis* L. and its possible mechanism of action. Indian Journal Exprimental Biology, 47(2): 113-20.
35- Ríos, J. L., M. C. Recio., S. Máñez., and R. M. Giner. 2000. Natural triterpenoids as anti inflammatory agents. Studies in Natural Products Chemistry, 22(3): 93- 143.
36- Saman, S. and N. C. Cook. 1996. Flavonoids chemistry, metabolism, cardio protective effects, dietary sources. Journal Nutrient Biology, 7: 66-76.
37- Sethuraman, M. G., K. G. Lalitha., and B. Rajkapoor. 2003. Hepatoprotective activity of sarcostemma brevistigma against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. Current Science, 84: 1186-7.
38- Shams Ghafarokhi, M., M. Razafsha., A. Allameh., and M. Razzaghi Abyaneh. 2003. Inhibitory effect of *Aqueous Onion* and *Garlic* Extracts on growth and keratinase activity in trichophyon *Mentagro* phytes. Journal of Iranian Biomededical, 7: 113-118.
39- Smets, F., M. Najimi., and E. M. Sokal. 2008. Cell transplantation in the treatment of liver diseases. Pediatr Transplant, 12:6-13.
40- Sonkusale, P., A. G. Bhandarker., N. V. Kurkare., K. Ravikanth., S. Maini., and D. Sood. 2011. Hepatoprotective activity of superliv liquid and repchol in CCl4 induced FLKS Syndrome in broilers. Poultry Science, 10 (1): 49-55.
41- Takahashi, K., T. Mashiko., and Y. Akiba. 2000. Effects of dietary concentration of xylitol on growth in male broiler chicks during immunological stress. Poultry Science, 79: 743-747.
42- Taniguchi, M., T. Takeuchi., R. Nakatsuka., T. Watanabe., and K. Sato. 2004. Molecular process in acute liver injury and regeneration induced by carbon tetrachloride. Life Science, 75. 1539.
43- Thomke, S., and K. Elwinger. 1998. Growth promotes in feeding pigs and poultry. II. Mode of action of antibiotic growth promotes. Annal Zootechnic, 47: 153-167.
44- Vengerovskiĭ, A. I., and V. A. Khazanov. 2007. Effects of silymarin and its combination with succinic acid on brain bioenergetics in rats with experimental inhibition of beta-oxidation of fatty acids. Eksp Klin Farmakology, 70(2): 51-5.
45- Venukumar, M. R., and M. S. Latha. 2002. Hepatoprotective of the methanolic extract of Curculigo orchioides in CCl4-treated male rats. Indian Journal Pharmacology, 34: 269-75.
46- Yang, H., M. K. Lee., and Y. C. Kim. 2005. Protective activities of stilbene glycosides from Acer mono leaves against H2O2-induced oxidative damage in primary cultured rat hepatocytes. Journal Agricultural Food Chemistry, 53: 4182-6.