

## Research Paper

# The Effect of Different Levels of CLA and Omega-3 Supplements Along with Essential Oils of Fennel, Peppermint, and Eucalyptus Medicinal Plants on Production Performance, Blood Parameters, and Reproductive Performance Activity in Laying Hens of the Lehman Breed

Yadollah Chashnidel<sup>1</sup>, Matin Movagharneshad<sup>2</sup>  and Mehdi Jafary charati<sup>3</sup>

1- Associate Professor, Department of Animal Nutrition, Faculty of Animal and Fishery Sciences, Sari University of Agriculture and Natural Resources, Sari, Iran

2- Ph.D., Department of Animal Nutrition, Faculty of Animal and Fishery Sciences, Sari University of Agriculture and Natural Resources, Sari, Iran, (Corresponding author: [matin.movagharneshad@gmail.com](mailto:matin.movagharneshad@gmail.com))

3- Ph.D. at veterinary, Babolsar, Iran

Received: 29 April, 2024

Revised: 01 June, 2024

Accepted: 28 August, 2024

## Extended Abstract

**Background:** Fats and fatty acids in the poultry diet have major physiological roles. A good source of oil or fat should have an ideal ratio of saturated and unsaturated fatty acids. The increase in the consumption of fat sources increases the possibility of oxidative corruption, which is very dangerous. It is better to use sources containing antioxidant compounds along with sources containing fatty acids to reduce the occurrence of these risks. Medicinal plants have antioxidant properties that play an essential role in improving the immune system and preventing various infections. The ability of a mixture of medicinal plants to show their beneficial biological effects is much stronger than the individual effect. This study investigated the effect of different levels of conjugated linoleic acid and omega-3 supplements along with the essential oils of medicinal plants, such as fennel powder, peppermint, and eucalyptus, on production performance, blood parameters, and reproductive performance activity in laying hens of the Lehman breed.

**Methods:** This experiment was conducted on 60 chickens with an average weight of  $1.5 \pm 0.2$  and an age of 34 weeks in four treatments with five replications and three chickens in each replication in a completely randomized design for 42 days. The experimental diets included a control treatment (without additives) and treatments containing 0.25, 0.375, and 0.5% CLA and omega-3 enriched with medicinal plants at three levels (0.25, 0.375, and 0.5%) in the diets. A separate cage was considered for every three chickens for one week before the start of the experiment. Habituation to the ration and uniformity of the weight of the chickens was done in the cage. During the experimental period, the chickens had full access to water freely. Functional traits of the egg production rate and the average weight of eggs were measured daily, and feed consumption and conversion factor were measured weekly. At the end of the test period, two pieces of eggs were randomly selected from each replication and weighed with a digital scale with an accuracy of 0.001 g. Then, the eggs were broken to measure the Haugh unit, yolk color, and quality characteristics of the shell. To measure blood parameters at the end of the experiment (day 42), blood samples were collected from the wing vein of two laying hens per experimental unit and analyzed in the laboratory for glucose, triglyceride, cholesterol, total protein, and uric acid levels. Additionally, the liver fat profile and amount were measured by selecting two chickens from each group at the end of the study and examining their livers post-slaughter. Reproductive characteristics were also investigated by randomly selecting two chickens from each treatment and evaluating the contents of their abdominal cavity, including the ovary, oviduct, stroma, and follicles.

**Results:** The results of production performance showed that the high level of supplementation (1%) caused better production performance than the other levels and the control treatment ( $p < 0.05$ ). The results of the produced egg weight also showed a statistically significant difference between all levels of the conjugated linoleic acid supplement with omega-3 and the mixture of medicinal plants used in the control treatment ( $p < 0.05$ ). In the results of shell thickness, there were no significant differences between experimental treatments ( $p > 0.05$ ). The results of blood serum parameters at the end of the test period showed a significant difference in the blood serum



Copyright © 2025 Chashnidel et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

lipid parameters between the experimental treatments ( $p < 0.05$ ). The lowest amount of cholesterol was observed in the treatment containing 1% conjugated linoleic acid supplement along with omega-3 and a mixture of medicinal plants. With the increase of the supplement level in the experimental diets, a significant decrease was observed in other blood serum parameters, except for VLDL and HDL. The results of ovarian follicle activity showed that the highest ovarian function belonged to treatments 2 and 3 ( $p < 0.05$ ). The best results of evaluating the appearance of the liver and the amount of total liver fat were obtained in treatments 2 and 3 ( $p < 0.05$ ). The overall results showed that the high level of CLA and Omega-3 supplements together with medicinal plants could improve the functional traits of laying hens of the Lehman breed. In the activity of ovarian follicles, an increase in the activity of follicles was observed with an increase in the supplement level in the diet compared to the control treatment.

**Conclusion:** In general, the results showed that the use of supplements not only does not have a negative effect but positive results are obtained in production performance, blood parameters, liver characteristics, and reproductive performance activity in laying hens of the Lohman breed, especially at the high level.

**Keywords:** CLA, fatty acid profile, Omega-3, performance, Medicinal plant

**How to Cite This Article:** Chashnidel, Y., Movagharneshad, M., & Jafary charati, M. (2025). The Effect of Different Levels of CLA and Omega-3 Supplements Along with Essential Oils of Fennel, Peppermint, and Eucalyptus Medicinal Plants on Production Performance, Blood Parameters, and Reproductive Performance Activity in Laying Hens of the Lehman Breed. *Res Anim Prod*, 16(1), 38-52. DOI: 10.61186/rap.16.1.38



## مقاله پژوهشی

# اثر سطوح مختلف مکمل اسیدلینولئیک کنژوگه و امگا ۳ به همراه اسانس گیاهان دارویی پودر رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس بر عملکرد تولیدی، غلظت فراسنجه‌های خونی و عملکرد تولیدمثلی در مرغ‌های تخم‌گذار نژاد لاهمن

یدا... چاشنی‌دل<sup>۱</sup>، متین موقرنژاد<sup>۲</sup>، مهدی جعفری چراتی<sup>۳</sup><sup>۱</sup>- دانشجویار، گروه تغذیه دام، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران<sup>۲</sup>- دکتری، گروه تغذیه دام، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران،

(نویسنده مسوول: martin.movaghamezhad@gmail.com)

<sup>۳</sup>- دکتری دامپزشکی، بایلسر، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۰۷

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۲  
صفحه: ۳۸ تا ۵۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۰

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** چربی‌ها و اسیدهای چرب موجود در جیره طیور، دارای نقش‌های فیزیولوژیکی عمده‌ای می‌باشند. یک منبع روغن یا چربی مناسب باید از نسبت ایده‌آل اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع برخوردار باشد. زیرا اسیدهای چرب غیر اشباع می‌توانند در فرایند جذب، به اسیدهای چرب اشباع کمک کنند. افزایش مصرف منابع چربی باعث افزایش احتمال ایجاد فساد اکسیداتیو می‌گردد؛ که بسیار خطرناک است. بهتر است همراه با استفاده از منابع حاوی اسیدهای چرب، از منابع دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی برای کاهش بروز این خطرات استفاده کرد. گیاهان دارویی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشند که نقش اساسی در ارتقای سیستم ایمنی و جلوگیری از بروز انواع عفونت‌ها را دارند. قابلیت مخلوط گیاهان دارویی در بروز تأثیرات مفید بیولوژیک آن‌ها بسیار قوی‌تر از تأثیر انفرادی است. در این مطالعه، اثر سطوح مختلف مکمل اسیدلینولئیک مزدوج و امگا۳ به همراه اسانس گیاهان دارویی هم‌چون پودر رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس بر عملکرد تولیدی، فراسنجه‌های خونی و فعالیت عملکرد تولیدمثلی در مرغ‌های تخم‌گذار نژاد لاهمن بررسی شد.

**مواد و روش:** این آزمایش روی ۶۰ قطعه مرغ با چهار تیمار با پنج تکرار و سه قطعه مرغ در هر تکرار با میانگین وزن  $145 \pm 0.2$  و سن ۳۴ هفته‌گی در قالب طرح کاملاً تصادفی به مدت ۴۲ روز انجام شد. جیره‌های مورد استفاده به ترتیب شامل تیمار شاهد (فاقد افزودنی) و تیمارهای حاوی ۰/۲۵، ۰/۳۷۵ و ۰/۵ درصد اسیدلینولئیک کنژوگه و امگا۳ غنی‌شده با گیاهان دارویی در ۳ سطح ۰/۲۵، ۰/۳۷۵ و ۰/۵ درصد در جیره بودند. به‌ازای هر ۳ مرغ یک قفس جداگانه در نظر گرفته و به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش، عمل عادت‌دهی به جیره و یکنواخت‌سازی وزن مرغ‌ها در قفس انجام گرفت. در طی دوران آزمایش، مرغ‌ها به‌صورت آزادانه به آب دسترسی کامل داشتند. اندازه‌گیری صفات عملکردی میزان تولید تخم‌مرغ و وزن متوسط تخم‌مرغ‌ها به‌طور روزانه، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. در پایان دوره‌ی آزمایش از هر تکرار تعداد دو قطعه تخم‌مرغ به تصادف انتخاب و با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. سپس تخم‌مرغ‌ها شکسته و واحد هاو، رنگ زرده و صفات کیفی پوسته اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی در انتهای آزمایش (روز ۴۲)، از سیاهرگ زیربالب دو قطعه مرغ از هر واحد آزمایشی نمونه خون تهیه، به آزمایشگاه منتقل و سپس در آزمایشگاه فراسنجه‌های خونی (گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین تام، اسیداوریک) اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری مشخصات و میزان چربی کبد، تعداد ۲ قطعه مرغ از هر گروه آزمایشی به‌صورت تصادفی در پایان دوره انتخاب و پس از کشتار مرغ‌ها، میزان چربی، مشخصات کبد و عملکرد تولیدمثلی و ریخت‌شناسی تخمدان ارزیابی شدند.

**یافته‌ها:** نتایج عملکرد تولیدی نشان داد که سطح بالای دریافت مکمل (۱ درصد) نسبت به دیگر سطوح و تیمار شاهد، باعث عملکرد تولیدی بهتری شد ( $p < 0.05$ ). نتایج وزن تخم‌مرغ تولیدی نیز نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین تمامی سطوح مختلف حاوی مکمل اسیدلینولئیک مزدوج به همراه امگا۳ و مخلوط گیاهان دارویی استفاده شده با تیمار شاهد وجود داشت ( $p < 0.05$ ). نتایج فراسنجه‌های سرم خون در پایان دوره آزمایش نشان داد که بین فراسنجه‌های لیپیدی سرم خون اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ( $p < 0.05$ )، طوری که پایین‌ترین مقدار کلسترول در تیمار حاوی ۱ درصد مکمل اسیدلینولئیک مزدوج به همراه امگا۳ و مخلوط گیاهان دارویی مشاهده شد. همچنین، با افزایش سطح مکمل در جیره‌های آزمایشی به جز VLDL و HDL، در سایر فراسنجه‌های سرمی خون روند کاهشی معنی‌دار مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). نتایج فعالیت فولیکول‌های تخمدانی نشان داد که بالاترین عملکرد تخمدانی برای تیمار ۳ و ۲ بود ( $p < 0.05$ ). همچنین نتایج ارزیابی ظاهری کبد و میزان چربی تام کبدی در تیمار ۲ و ۳ بهترین بود ( $p < 0.05$ ). نتایج نشان داد سطح بالای استفاده از مکمل CLA و امگا۳ به همراه گیاهان دارویی توانست صفات عملکردی مرغ‌های تخم‌گذار نژاد لاهمن را بهبود ببخشد. در فعالیت فولیکول‌های تخمدانی، افزایش فعالیت فولیکول‌ها با افزایش سطح مکمل در جیره نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** به‌طور کلی، نتایج نشان داد که استفاده از مکمل نه‌تنها تأثیر منفی ندارد، بلکه به‌ویژه در سطح بالای مصرف شده، نتایج مثبتی بر عملکرد تولیدی، فراسنجه‌های خونی، ویژگی‌های کبدی و فعالیت عملکرد تولیدمثلی در مرغ‌های تخم‌گذار نژاد لاهمن به همراه دارد.

واژه‌های کلیدی: امگا۳، پروفاایل اسیدچرب، عملکرد، گیاهان دارویی، CLA

## مقدمه

می‌باشند (Shahriar et al., 2013). یک منبع روغن یا چربی مناسب باید از نسبت ایده‌آل اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع برخوردار باشد. زیرا اسیدهای چرب غیر اشباع می‌توانند در فرایند جذب، به اسیدهای چرب اشباع کمک کنند (Smitalhis et al., 2005). اسیدهای چرب امگا۳ در هدایت مسیرهای بیولوژیک و ویژه‌ای چون تنظیم متابولیسم پروستاگلاندینها و بروز تأثیرات ضدالتهابی نقش ایفا می‌کنند.

طیور برای رشد سریع، نیازمند جیره‌های متراکمی به لحاظ مواد مغذی هستند و در این بین، یکی از مهم‌ترین اجزاء جیره، انرژی می‌باشد. برای تعادل جیره‌ها و تأمین نیازمندی‌های انرژی، استفاده از چربی‌ها و روغن‌ها در جیره‌های غذایی طیور الزامی بوده، و در این ارتباط مکمل‌های چربی می‌توانند به جیره طیور اضافه شوند. به‌طور کلی، چربی‌ها و اسیدهای چرب موجود در جیره طیور، دارای نقش‌های فیزیولوژیکی عمده‌ای

به عنوان مثال، شواهد تحقیقاتی نشان دادند که تغذیه با سطوح بالای اسیدلینولئیک، اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA) و اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA) باعث تحریک تکثیر لنفوسیت‌ها در طحال، تیموس و گره‌های لنفاوی می‌شود. اسیدچرب سی‌ال‌ای<sup>۱</sup> (اسید لینولئیک کنژوگه) و امگا ۳ دارای (پیوند دوگانه بین سومین و چهارمین کربن در زنجیره کربنی اسیدچرب) خانواده‌ای از اسیدهای چرب اشباع‌نشده هستند که در تغذیه طیور به خصوص مرغ‌های تخم‌گذار اثرات مثبت تغذیه‌ای بسیار مطلوبی دارند (Suxombat et al., 2006). از طرفی تأثیرات اسانس‌های گیاهان دارویی جهت بهبود عملکرد و پاسخ ایمنی پرندگان اخیراً مورد توجه قرار گرفته‌است. با این حال، اثرات اسانس گیاهان دارویی بر خصوصیات کیفی تخم‌مرغ در مطالعات اندکی گزارش شده‌است. اگرچه می‌توان میزان اسیدهای چرب امگا ۳ تخم‌مرغ را با تغذیه جیره‌های حاوی آن‌ها به آسانی افزایش داد، اما افزایش احتمال بروز فساد اکسیداتیو در این محصولات، محدودیت‌هایی را در این زمینه ایجاد کرده‌است (Lee et al., 2017). پراکسیدهای حاصل از این اسیدهای چرب اکسیدشده علاوه بر ضررهای اقتصادی فراوان، موجب آسیب‌های سلولی در پرنده و حتی مصرف‌کننده می‌شوند (Lee et al., 2017). به نظر می‌رسد که در صورت استفاده از منابع گوناگون اسیدهای چرب غیراشباع، استفاده از منابع خوراکی ترکیبات آنتی‌اکسیدان گیاهانی چون رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس و یا فراورده‌های حاصل از آن‌ها می‌تواند سودمند باشد. قابلیت مخلوط گیاهان دارویی در بروز تأثیرات مفید بیولوژیک آن‌ها بسیار قوی‌تر از تأثیر انفرادی است. بنابراین، به کارگیری این ترکیبات می‌تواند منجر به تقویت و تعدیل تأثیرات آنتی‌اکسیدانی و نیز شاخص‌های ایمنولوژیک و ضد میکروبی شود. در مطالعه آلوارز و همکاران (Alvarez et al., 2004) با بررسی اثر مکمل‌سازی لینولئیک‌اسید کنژوگه (۳،۱ و ۵ گرم در کیلوگرم) و روغن ماهی (صفر، ۱۴ و ۲۰ گرم در کیلوگرم) بر عملکرد و کیفیت تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار گزارش شد که عملکرد، غلظت اسیدهای چرب زرده و سفتی تخم‌مرغ‌ها با افزایش سطوح مکمل افزایش یافت. مطالعه‌ای با بررسی اثر مکمل‌سازی اسیدلینولئیک مزدوج در سطوح (صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد) در جیره بر ترکیبات اسیدهای چرب زرده تخم‌مرغ و عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار توسط سوکسومبات و همکاران (Soxumbat et al., 2006) انجام و گزارش شد که با افزایش سطح مکمل اسیدلینولئیک مزدوج به خوراک مرغ‌های تخم‌گذار، افزایش مقدار اسیدلینولئیک مزدوج در زرده تخم‌مرغ را در پی دارد (این افزایش همراه با کاهش میزان اسیدهای چرب اشباع‌نشده زرده و افزایش اسیدهای چرب اشباع‌شده زرده همراه است). در آزمایشی دیگر که توسط کرونوویکس و همکاران (kronovix et al., 2016) با بررسی اسیدلینولئیک مزدوج جیره غذایی بر پارامترهای خون، ریخت‌شناسی کبد و بیان ژن‌های کبدی انتخاب شده در مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش شد. همچنین در مطالعه‌ای که توسط میرقلنج و همکاران (Mirgholanj et al., 2019)

با بررسی اثرات اسیدچرب لینولئیک مزدوج در جیره مرغ‌های تخم‌گذار بر عملکرد تولید و صفات کیفی تخم‌مرغ در دما زمان‌های مختلف نگهداری آن انجام گرفت، گزارش شد که استفاده از اسیدلینولئیک مزدوج تا سطح ۰/۵ درصد جیره در دوره پس از تولد، توانست علاوه بر تأثیر مثبت بر عملکرد تولید، تغییرات pH و واحد هاو تخم‌مرغ‌ها را در طول دما و زمان‌های مختلف کنترل کند. همچنین در مطالعه‌ای دیگر که توسط برنجیان و همکاران (Berenjian et al., 2020) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا ۳ بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش فیزیولوژیکی القا شده با دگزامتازون انجام و گزارش شد استفاده از اسیدهای چرب امگا ۳ در مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش، با تشدید کاهش مصرف خوراک در این پرندگان می‌تواند اثرات زیان‌بار تنش بر عملکرد تولید و کیفیت پوسته تخم‌مرغ را افزایش دهد. در آزمایشی دیگر که توسط لی و همکاران (Lee et al., 2017) با بررسی اثرات مکمل بذر کتان بر تعادل اسیدهای چرب امگا ۶ به امگا ۳، مشخصات واسطه چربی، سیتوکین‌های پیش‌ التهابی و شاخص‌های استرس در مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش شد کاهش نسبت امگا ۶ به امگا ۳ و غنی‌سازی واسطه‌های چربی مشتق از امگا ۳ ناشی از بذر کتان در جیره غذایی به کاهش استرس در مرغ‌های تخم‌گذار کمک و عملکرد تخم‌گذاری را بهبود بخشید. در خصوص گیاهان دارویی و تأثیرات آن‌ها بر مرغ‌های تخم‌گذار تحقیقات متنوعی انجام شد که در ادامه به آن اشاره می‌گردد. در آزمایشی که توسط نسیمی و همکاران (Nasimi et al., 2011) با بررسی اثر عصاره‌های گیاهی رازیانه، آویشن، نعنای فلفلی و شوید بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار لگه‌ورن افزایش عملکرد تولیدی هم‌چون افزایش مصرف خوراک، افزایش واحد هاو و افزایش صفات کیفی تخم‌مرغ را مشاهده کردند. همچنین عبدالله و همکاران (Abdollah et al., 2011) با بررسی اثر استفاده از گیاهان دارویی (رازیانه، رازیانه‌رومی، شنبلیله و دارچین) به جیره مرغ تخم‌گذار بهبود باروری و درصد هچ کل تخم‌مرغ‌ها را نسبت به گروه شاهد مشاهده کردند. در مطالعه‌ای که توسط شمس‌الهی و همکاران (Shamsolahi et al., 2018) با بررسی تأثیر سطوح جیره‌ای اسانس نعنای فلفلی بر شاخص‌های تولید و پاسخ ایمنی در مرغ تخم‌گذار تحت تنش القا شده با دگزامتازون انجام و گزارش کردند که تنش فیزیولوژیک ناشی از تزریق دگزامتازون اثرات منفی بر ضریب تبدیل و تولید تخم در مرغ‌های تخم‌گذار دارد و افزودن اسانس نعنای فلفلی به جیره خوراکی می‌تواند برخی از این اثرات منفی مانند وزن تخم‌مرغ را تا حدودی بهبود می‌بخشد. در مطالعه‌ای که توسط معتمدی و همکاران (Motamedi et al., 2016) با بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی آویشن، نعنای فلفلی و ترکیب آن‌ها بر روی عملکرد (صفات کمی) تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار سویه لهنم لایت انجام و گزارش کردند که استفاده از ۰/۲۵ درصد آویشن باغی به همراه ۰/۲۵ درصد نعنای فلفلی در آب آشامیدنی مرغ‌های تخم‌گذار سویه لهنم لایت، اثرات مثبتی

<sup>۱</sup>CLA (Conjugated Linoleic Acid)

بر صفات کمی (عملکردی) در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی مشاهده شد. در مطالعه‌ای که توسط عبد و همکاران (Abd et al., 2008) با بررسی اثر خوراک مکمل‌سازی شده با اکالیپتوس بر عملکرد تولیدی و ایمنی در مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش شد که گنجاندن اکالیپتوس در سطح ۳ گرم در کیلوگرم جیره خوراکی برای بهبود عملکرد تولیدی و مصونیت مرغ‌های تخم‌گذار مفید است. در آزمایشی دیگر که توسط فابیو و همکاران (Fabio et al., 2003) با بررسی اثر گیاه اکالیپتوس و شنبلیله بر عملکرد و فراسنجه‌های خونی مرغان تخم‌گذار انجام و گزارش شد که تیمارهایی که شنبلیله به همراه اکالیپتوس مصرف کردند در آن‌ها بهبود عملکرد تولیدی و افزایش غلظت HDL خون مشاهده شد. در نتیجه آزمایش حاضر با بررسی اثر سطوح مختلف مکمل اسیدلینولئیک مزوج و امگا ۳ به همراه اسانس گیاهان دارویی هم‌چون پودر رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس بر عملکرد تولیدی، فراسنجه‌های خونی، فعالیت عملکرد تولیدمثلی و ریخت‌شناسی تخمدان در مرغ‌های تخم‌گذار نژاد لهنم انجام خواهد شد.

### مواد و روش‌ها

محل اجرای طرح در واحد پرورش و نگهداری مرغ تخم‌گذار واقع در شهرستان ساری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری بود. این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بود که اثر چهار تیمار با پنج تکرار و هر تکرار شامل سه قطعه پرند، در مجموع روی ۶۰ قطعه مرغ تخم‌گذار لهنم سویه اس ال لایت با میانگین وزن  $1/58 \pm 0/45$  کیلوگرم و با سن ۳۴ هفته‌گی به مدت ۴۲ روز مورد بررسی قرار گرفت. به‌ازای هر سه قطعه مرغ یک قفس جداگانه در نظر گرفته شد و بعد از هفت روز طی دوره عادت‌پذیری به جیره، ارزیابی‌ها صورت گرفت. همچنین طی دوران آزمایش، مرغ‌ها به‌صورت آزادانه به‌خوراک و آب دسترسی کامل داشتند. جیره‌های آزمایشی با نرم‌افزار UFFDA و براساس جداول احتیاجات غذایی (NRC, 1994) تنظیم و تغذیه شدند. جیره‌های مورد استفاده به‌ترتیب شامل تیمار شاهد (فاقد افزودنی)، تیمار یک حاوی ۰/۵ درصد (۰/۲۵ مکمل گیاهان دارویی + ۰/۲۵ مکمل امگا ۳ و سی‌ال‌ای)، تیمار دو حاوی ۰/۷۵ درصد (۰/۳۷۵ مکمل گیاهان دارویی + ۰/۳۷۵ مکمل امگا ۳ و سی‌ال‌ای) و تیمار سه حاوی ۱ درصد (۰/۵ مکمل گیاهان دارویی + ۰/۵ مکمل امگا ۳ و سی‌ال‌ای) در جیره بودند. افزودنی‌های مورد استفاده در این تحقیق از شرکت سیم‌مرغ بهین‌دارو در شمال کشور تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. مکمل امگا ۳ از نوع روغن سویا حاوی اسیدلینولئیک با خلوص ۹۰ درصد است. همچنین، مکمل CLA با خلوص بالای ۹۰ درصد دارای ۵۰ درصد ایزومر سیس ۹-ترانس ۱۱ و ۵۰ درصد ترانس ۱۰-سیس ۱۲ است. مکمل‌ها و افزودنی‌های گیاهی هر یک در نسبت‌های برابر با هم به جیره اضافه شدند. جیره غذایی مورد استفاده در این آزمایش بر پایه مواد خوراکی ذرت و کنجاله سویا بود و با توجه به محاسبات مصرف روزانه، مقدار مشخص تیمار در اختیار پرند قرار گرفت. در طول دوره اجرای آزمایش، شرایط محیطی برای تمامی گروه‌های آزمایشی به‌طور یکسان فراهم گردید و برنامه

نوردهی سالن‌ها برابر راهنمای مدیریت تجاری مرغ تخم‌گذار نژاد لهنم اس لایت، به‌صورت تناوب شبانه‌روزی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی اعمال شد. تمامی مرغ‌ها به‌صورت آزاد به آب آشامیدنی و خوراک مصرفی دسترسی کامل داشتند. در طی دوره آزمایش و اعمال تیمارها، کلیه تخم‌مرغ‌های هر قفس به‌طور روزانه جمع‌آوری و شمارش شدند. تولید تخم‌مرغ و همچنین وزن میانگین تخم‌مرغ‌ها به‌طور روزانه محاسبه و ثبت شد. میزان خوراک مصرفی مرغ‌های تخم‌گذار به‌صورت هفتگی محاسبه شد. از روی میزان خوراک مصرفی و تولید توده‌ای تخم‌مرغ، ضریب تبدیل غذایی برای هریک از تیمارهای آزمایشی مشخص شد. در پایان دوره‌ی آزمایش از هر تکرار تعداد دو قطعه تخم‌مرغ (هر تیمار ۱۰ عدد تخم مرغ) به‌تصادف انتخاب و با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. سپس تخم‌مرغ‌ها شکسته و واحد‌هاو در سفیده غلیظ آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری واحد‌هاو از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{واحد‌هاو} = 100 \times \log_{10} (H + 7/57 - 1/7 \times (W)^{0/37})$$

که در این رابطه، H ارتفاع سفیده برحسب میلی‌متر و W وزن زرده بر حسب گرم است. برای اندازه‌گیری ارتفاع زرده از دستگاه ارتفاع‌سنج استاندارد مدل (۳۰۰CE) ساخت کشور آلمان استفاده شد. محتویات پوسته‌ی تخم‌مرغ‌ها تمیز شده و پوسته‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت برای خشک‌شدن در دمای اتاق نگهداری شدند. بعد از خشک شدن، وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. ضخامت پوسته‌ی تخم‌مرغ‌ها با استفاده از میکرومتر با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر در وسط تخم‌مرغ و در سه نقطه اندازه‌گیری گردید و معدل آن‌ها به‌عنوان ضخامت نهایی پوسته در نظر گرفته شد. برای تخمین استحکام پوسته نیز از معیار میلی‌گرم وزن پوسته به‌ازای هر سانتی‌متر از سطح آن استفاده گردید:

سطح پوسته‌ی تخم‌مرغ‌ها با استفاده از فرمول کورتیس و ویلسون (Kortis & Wilson, 1990) به‌طریقه زیر محاسبه گردید:

$$0/7056 (\text{وزن تخم مرغ}) \times 3/9782 = \text{سطح پوسته}$$

که سطح پوسته بر حسب سانتی‌متر مربع، وزن تخم‌مرغ برحسب گرم و وزن پوسته در واحد سطح بر حسب میلی‌گرم در سانتی‌متر مربع تعیین گردید:

$$\text{وزن پوسته (میلی‌گرم/سطح پوسته (سانتی‌متر مربع))} = \text{وزن پوسته در واحد سطح (میلی‌گرم در سانتی‌متر مربع)}$$

برای محاسبه درصد تولید، تعداد تخم‌مرغ‌های هر واحد آزمایشی بر تعداد پرندگان زنده هر واحد تقسیم و درصد تولید مشخص گردید.

$$Pd = (Te/n) \times 100$$

Pd: درصد تولید روزانه، Te: تعداد تخم‌مرغ هر واحد آزمایشی و n: تعداد مرغ هر واحد آزمایشی

ضریب تبدیل خوراک با تقسیم خوراک مصرفی بر تولید توده‌ای تخم محاسبه گردید. همچنین برای اندازه‌گیری رنگ زرده تخم‌مرغ از شابلن‌های رنگی که از ۱ تا ۱۵ رنگ‌بندی شده‌اند، جهت تعیین کیفیت زرده تخم‌مرغ استفاده شد. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های خون در انتهای آزمایش (۲۱ روزگی)، از

اندازه‌گیری شد، بدین‌صورت که آن‌دسته از فولیکول‌ها که دارای قطر بالاتر از ۱۰ میلی‌متر بودند، فولیکول‌های زرد بزرگ نامیده شدند که وزن اولین فولیکول زرد بزرگ، تعداد آن‌ها، وزن کل و میانگین وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. آن‌دسته از فولیکول‌ها که دارای قطر ۵ تا ۱۰ میلی‌متر بودند، فولیکول‌های زرد کوچک و آن‌هایی که قطرشان کمتر از ۵ میلی‌متر بودند فولیکول‌های سفید نامیده شده و تعداد آن‌ها محاسبه شد. در نهایت تعداد فولیکول‌های تخمک‌ریزی شده بررسی شد (Renema, 2001). این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی بود که اثر ۴ تیمار با ۵ تکرار و هر تکرار شامل ۳ قطعه مرغ و در مجموع روی ۶۰ قطعه مرغ تخم‌گذار نژاد لاهمن اس‌ال‌لایت انجام شد. مدل ریاضی طرح آماری مورد استفاده به‌صورت زیر است:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

در این رابطه  $Y_{ij}$  مقدار هر مشاهده  $\mu$  میانگین جامعه،  $T_i$  اثر تیمار و  $E_{ij}$  خطای آزمایش است.

تجزیه و تحلیل نهایی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه (9/1) و مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

سیاهرگ بال دو قطعه مرغ از هر واحد آزمایشی نمونه خون تهیه شد. سرم جداشده از نمونه‌های خون در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و پس از یخ‌گشایی با استفاده از کیت‌های پارس آزمون، مقدار فراسنجه‌های خونی (گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، پروتئین تام، اسیداوریک) اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری مشخصات و میزان چربی کبد، تعداد دو قطعه مرغ از هر گروه آزمایشی به‌صورت تصادفی در پایان دوره انتخاب شد و پس از کشتار مرغ‌ها، کبد آن‌ها جدا و توزین شد. جهت کمی نمودن مشاهدات کبد چرب در مرغ‌ها از روش رتبه‌دهی با مقیاس ۱ تا ۵ استفاده شد. به‌طوری‌که عدد ۱ نمایان‌گر وضعیت مطلوب و کبد‌های قهوه‌ای رنگ بود و عدد ۵ کبد‌های چرب و زرد رنگ را مشخص می‌کرد (Gilbert et al., 1983). پس از آن درصد چربی کبد طبق روش (1984) AOAC تعیین شد. به‌منظور بررسی و اندازه‌گیری خصوصیات تولیدمثلی، از هر تیمار به‌صورت تصادفی دو قطعه مرغ در پایان دوره انتخاب و کشتار شد و سپس محتویات حفره شکمی از جمله تخمدان، اویدوکت و استروما و فولیکول‌ها بیرون کشیده شدند و وزن این قسمت‌ها ثبت شد. به‌منظور بررسی فولیکول‌های تخمدان ابتدا قطر فولیکول‌ها به وسیله کولیس

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه

Table 1. Diet components and chemical compounds of basal diet

| شاهد (Control) | اجزای جیره/ تیمارها (درصد) (Diet components/treatments (percentage)) |
|----------------|----------------------------------------------------------------------|
| 55.47          | ذرت (Corn)                                                           |
| 22.5           | کنجاله سویا (Soybean meal)                                           |
| 6.18           | سبوس گندم (Wheat bran)                                               |
| 2.6            | روغن سویا (Soybean oil)                                              |
| 1.59           | مونو کلسیم فسفات                                                     |
| 10.48          | Mono calcium phosphate                                               |
| 0.5            | کربنات کلسیم                                                         |
| 0.27           | Carbonate calcium                                                    |
| 0.02           | مکمل معدنی + ویتامینی <sup>۱</sup>                                   |
| 0.17           | Vitamin+Mineral supplement                                           |
| 0.2            | نمک                                                                  |
| 0.02           | Salt                                                                 |
| 0.17           | ال-لیزین هیدروکلراید                                                 |
| 0.2            | L-lysine hydrochloride                                               |
| 0.02           | دی ال-متیونین                                                        |
|                | DL-Methionine                                                        |
|                | بیکربنات سدیم                                                        |
|                | Sodium bicarbonate                                                   |
|                | ال-ترئونین                                                           |
|                | L-therionine                                                         |
| 2620           | ترکیب شیمیایی (Chemical analysis)                                    |
| 16.5           | انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم ماده خشک)                 |
| 2.67           | ME (Kcal/Kg)                                                         |
| 28.4           | پروتئین خام (درصد)                                                   |
| 4.15           | Crude protein (%)                                                    |
| 0.43           | فیبر خام (درصد)                                                      |
| 1.016          | Crude fibre (%)                                                      |
| 0.43           | الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)                                  |
| 0.74           | NDF (%)                                                              |
|                | کلسیم (درصد)                                                         |
|                | Calcium (%)                                                          |
|                | فسفر (درصد)                                                          |
|                | Phosphorous (%)                                                      |
|                | لیزین (درصد)                                                         |
|                | Lysine (%)                                                           |
|                | متیونین (درصد)                                                       |
|                | Methionine (%)                                                       |
|                | متیونین+سیستین (درصد)                                                |
|                | Methionine+Cysteine (%)                                              |

۱- مقدار ویتامین در هر کیلوگرم از جیره شامل 500000 واحد بین‌المللی ویتامین A، 100,000 international units of vitamin D و 0.1 گرم ویتامین E. مقدار مواد معدنی در هر کیلوگرم از جیره شامل 180 گرم کلسیم، 90 گرم فسفر، 20 گرم منیزیم، 60 گرم سدیم، 2 گرم منگنز، 3 گرم آهن، 0.3 گرم مس، 3 گرم روی، 1/0 گرم کبالت، 001/0 گرم سلنیوم، 1/0 گرم ید، 3 گرم آنتی‌اکسیدانت

1- Amount of vitamins in each Kg of ration includes: 500,000 international units of vitamin A, 100,000 international units of vitamin D and 0.1 gram of vitamin E. Amount of mineral in each Kg of ration includes: 180 grams of calcium, 90 grams of phosphorus, 20 grams of magnesium, 60 grams of sodium, 2 grams of manganese, 3 grams of iron, 0.3 grams of copper, 3 grams of zinc, 0.1 grams of cobalt, 0.001 grams of selenium, 0.1 grams of iodine, 3 grams of antioxidants

## نتایج و بحث عملکرد

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مصرف خوراک روزانه، درصد تولید، وزن تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک مصرفی به تخم‌مرغ تولیدی در جدول ۲ ارائه شده است. اعمال تیمارها باعث اختلاف معنی‌داری در مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل خوراکی نشد ( $p > 0.05$ ). با این حال، تفاوت معنی‌داری در درصد تولید و وزن تخم‌مرغ بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد. در این خصوص، سطوح ۰/۷۵ و ۱ درصد مکمل بیشترین درصد تولید و وزن تخم‌مرغ را داشتند و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). آلوارز و همکاران (Alvarez et al., 2004) با بررسی اثر مکمل‌سازی اسید لینولئیک کنزوگه و روغن ماهی بر عملکرد و کیفیت تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار گزارش دادند که تیمارها تأثیری بر مصرف خوراک مرغ‌های تخم‌گذار نداشت؛ با این حال، سبب افزایش درصد تولید، وزن و کیفیت تخم‌مرغ‌های تولیدی شد. همچنین برنجیان و همکاران (Berenjian et al., 2020) و جامروز و همکاران (Jamroz et al., 2003) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف امگا۳ بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار موثر بوده و باعث افزایش تولید و وزن تخم‌مرغ‌ها شد. امگا۳ باعث افزایش تولید پروستاگلندین‌ها در بدن می‌شود که در افزایش تخم‌گذاری در مرغ‌های تخم‌گذار نقش دارد (Jamroz et al., 2003). سی‌ال‌ای نیز با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، سبب حفظ سلامت بافت‌های تخمدانی و بهبود فعالیت

تخمدان‌ها می‌شود (Sahin et al., 2010). همچنین در خصوص تأثیر مصرف گیاهان دارویی بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار تاکی و همکاران (Taki et al., 2015)، معتمدی و همکاران (Motamedi et al., 2016) و چن و همکاران (Chen et al., 2016) به ترتیب با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسانس رازیانه، عصاره آویشن باغی و نعنای فلفلی به همراه پلی‌فنول‌های موجود در برگ‌های اکالیپتوس بر عملکرد تولیدی در مرغ‌های تخم‌گذار انجام گرفت، گزارش شد تیمارهایی که سطوح بالاتر گیاهان دارویی را مصرف کردند، عملکرد تولیدی بهتری داشتند. افزودن مخلوط گیاهان دارویی به همراه امگا۳ و اسیدلینولئیک کنزوگه باعث افزایش قابل‌وجهی در تولید و وزن تخم‌مرغ شد. عصاره گیاهان دارویی شامل ترکیبات فنولیکی و ترپنی است که می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و تنش اکسیداتیو را در بدن مرغ کاهش دهند (Jamroz et al., 2006). ترکیبات فنلی همچنین موجب بهبود جذب عناصر معدنی و ویتامین‌ها در روده می‌شوند. که برای بهبود عملکرد تخمدان مؤثر است (Berardi & Goldblatt, 2008). علاوه بر این، این گیاهان دارای خواص آروماتیک هستند که می‌توانند روی دستگاه هورمونی و عصبی مرغ تأثیر گذاشته و غلظت هورمون‌ها را تغییر دهند (Jamroz et al., 2006). به‌طور کلی، به نظر می‌رسد مکانیزم اصلی اثر این گیاهان ترکیبی از خواص آنتی‌اکسیدانی، جذب‌کنندگی و تأثیر بر سیستم عصبی هورمونی باشد.

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد در مرغ تخم‌گذار

Table 2. Effect of experimental treatments on performance of laying hens

| تیمار<br>Treatment    | مصرف خوراک (گرم در روز)<br>Feed intake (g/day) | تولید تخم مرغ (درصد)<br>Egg production (%) | وزن تخم مرغ (گرم)<br>Egg weight (g) | ضریب تبدیل<br>FCR |
|-----------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------|
| شاهد<br>Control       | 99.71                                          | 89.61 <sup>b</sup>                         | 57.92 <sup>c</sup>                  | 2.07              |
| تیمار ۱<br>Treatment1 | 99.43                                          | 88.83 <sup>b</sup>                         | 58.16 <sup>b</sup>                  | 2.03              |
| تیمار ۲<br>Treatment2 | 101.51                                         | 93.39 <sup>ab</sup>                        | 58.40 <sup>ab</sup>                 | 2.01              |
| تیمار ۳<br>Treatment3 | 102.25                                         | 93.84 <sup>a</sup>                         | 58.61 <sup>a</sup>                  | 2.02              |
| SEM <sup>1</sup>      | 1.26                                           | 2.24                                       | 0.4                                 | 0.04              |
| P-value <sup>2</sup>  | 0.115                                          | 0.015                                      | 0.005                               | 0.59              |

\* تیمار ۱ حاوی ۰/۵ درصد (۰/۲۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۲۵ مکمل امگا۳ و CLA)، تیمار ۲ حاوی ۰/۷۵ درصد (۰/۳۷۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۳۷۵ مکمل امگا۳ و CLA) و تیمار ۳ حاوی ۱ درصد (۰/۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۵ مکمل امگا۳ و CLA) در جیره

۱- حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. ۲- خطای استاندارد میانگین

\*Treatment 1 contains 0.5% (0.25% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.25% omega-3 and CLA supplements), Treatment 2 contains 0.75% (0.375% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.375 Omega 3 and CLA supplements) and Treatment 3 contains 1% (0.5 mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.5 Omega 3 and CLA supplements) in the diet

1. The same letters in each column indicate the absence of statistically significant differences at the 0.05 level. 2- Standard error of the mean

## خصوصیات کیفی تخم‌مرغ واحد هاو و رنگ زرده

افزودن سطوح مختلف مکمل به جیره مرغ تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری بر واحد هاو نداشت ( $p > 0.05$ ). با این حال، افزودن سطوح مختلف مکمل تأثیر معنی‌داری بر رنگ زرده داشت، به‌طوری‌که تمام سطوح این مکمل نسبت به تیمار شاهد

افزایش معنی‌داری را نشان دادند ( $p < 0.05$ ). برنجیان و همکاران (Berenjian et al., 2020) و جامروز و همکاران (Jamroz et al., 2003) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا۳ بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند که رنگ زرده در مرغ‌های تخم‌گذار تحت تأثیر امگا۳ قرار گرفت، اما بر مقدار واحد هاو تفاوت معنی‌داری نداشت.

خوراک استفاده کرده بودند، بیشتر بود و با افزایش سطح سی‌ال‌ای در خوراک ضخامت پوسته و وزن پوسته افزایش یافت. امگا ۳ دارای اثرات مثبتی بر جذب عناصر معدنی مانند کلسیم در مرغ است، باتوجه به این‌که کلسیم بر سختی و مقاومت پوسته تأثیر دارد، ممکن است امگا-۳ بر ضخامت تأثیر داشته باشد (Jamroz *et al.*, 2003). سی‌ال‌ای هم با کاهش تنش اکسیداتیو و تقویت سلامت جوجه‌ها می‌تواند توسعه بهتر پوسته را تسهیل کند (Jiang *et al.*, 2014). همچنین در خصوص تأثیر مصرف گیاهان دارویی بر ضخامت و وزن پوسته تخم‌مرغ مرغ‌های تخم‌گذار که توسط تاکی و همکاران (Taki *et al.*, 2015) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسانس رازیانه بر صفات تولیدی، خواص کیفی تخم‌مرغ و برخی فرآورده‌های تولیدمثلی مرغ تخم‌گذار انجام گرفت، گزارش شد سطوح مختلف اسانس رازیانه بر روی صفات کیفی تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری داشت و تمام سه سطح دارای رازیانه نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند که سطح مصرف (۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) رازیانه بیشترین وزن و ضخامت پوسته را داشت. از طرفی معتمدی و همکاران (Motamedi *et al.*, 2016) با بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی آویشن باغی، نعناع‌فللی و ترکیب آن‌ها بر عملکرد تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار سویه لاهمن لایت گزارش کردند استفاده توأم از گیاهان دارویی آویشن و نعناع‌فللی موجب بهبود صفات کیفی تخم‌مرغ نسبت به تیمار شاهد شد. در خصوص تأثیر اکالیپتوس بر صفات کیفی پوسته تخم‌مرغ، چن و همکاران (Chen *et al.*, 2016) با بررسی اثر پلی‌فنول‌های موجود در برگ‌های اکالیپتوس در بهبود کیفیت تخم‌مرغ و گوشت و محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از اتانول در مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش کردند که افزودن اکالیپتوس باعث بهبود صفات کیفی تخم‌مرغ نسبت به تیمار شاهد شد. با این‌حال، در آزمایشی دیگر درخصوص تأثیر اکالیپتوس بر صفات کیفی تخم‌مرغ، ایدل و همکاران (Abdel *et al.*, 2008) با بررسی اثر جیره‌های خوراکی همراه با اکالیپتوس بر عملکرد تولید و صفات کیفی تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش کردند که تیمارهای دارای اکالیپتوس نسبت به تیمار شاهد تأثیری بر صفات کیفی تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار نداشتند. استفاده از گیاهان دارویی و عصاره این گیاهان حاوی ترکیباتی مانند اسیدهای آلی، فیتواسترول‌ها و ترپنوئیدها می‌باشند که خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی دارند که این مواد می‌توانند تنش اکسیداتیو را در بدن مرغ کاهش داده و جذب عناصر معدنی مانند کلسیم و فسفر را بهبود داده و در نتیجه باعث افزایش ضخامت و وزن پوسته شوند (Jamroz *et al.*, 2006). استفاده از گیاهان دارویی (رازیانه، رازیانه‌رومی، شنبلیله و دارچین) به‌جیره مرغ تخم‌گذار بهبود باروری و درصد هچ کل تخم مرغ‌ها را نسبت به گروه شاهد مشاهده کردند.

شیفر و همکاران (Shiffer *et al.*, 2011) با بررسی ترکیب اسیدهای لینولئیک خوراک و لینولئیک کنژوگه و اثرات مرتبط بر تخم‌مرغ مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند که از سطوح بالاتر مکمل اسیدلینولئیک مزدوج در خوراک استفاده کرده‌بودند، بیشتر بود و با افزایش سطح اسیدلینولئیک مزدوج در خوراک، رنگ زرده افزایش یافت. درخصوص تأثیر مصرف گیاهان دارویی بر رنگ زرده و واحد‌هاو تخم‌مرغ مرغ‌های تخم‌گذار که توسط تاکی و همکاران (Taki *et al.*, 2015) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسانس رازیانه بر خواص کیفی تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار انجام گرفت، گزارش شد سطوح مختلف اسانس رازیانه بر واحد‌هاو و رنگ زرده در مرغ‌های تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری داشت. ازجمله دلیل احتمالی این موضوع می‌توان به‌ظرفیت بالای بدن مرغ در جذب و متابولیسم مواد مغذی و همچنین این موضوع که احتمالاً مقادیر استفاده شده از این مکمل‌ها برای بدن مرغ مقدار کافی بوده تا بر سلامتی عمومی آن تأثیر بگذارد، (Van Den Brand *et al.*, 2004). از طرفی معتمدی و همکاران (Motamedi *et al.*, 2016)، چن و همکاران (Chen *et al.*, 2016) و ایدل و همکاران (Abdel *et al.*, 2008) به‌ترتیب با بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی آویشن باغی و نعناع‌فللی، پلی‌فنول‌های موجود در برگ‌های اکالیپتوس و عصاره اکالیپتوس بر عملکرد تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند استفاده مخلوطی از گیاهان دارویی آویشن و نعناع‌فللی موجب کاهش واحد‌هاو و افزایش رنگ زرده تخم‌مرغ شد. از دلایل اصلی افزایش رنگ زرده توسط این ترکیبات، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌هاست. امگا۳، سی‌ال‌ای و ترکیبات فنولی موجود در اسانس گیاهان دارویی همگی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌توانند از اکسیداسیون لیپیدهای موجود در زرده جلوگیری کرده و باعث بهبود رنگ زرده شوند (Abdel *et al.*, 2008; Jamroz *et al.*, 2006).

### صفات کیفی پوسته تخم‌مرغ

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، افزودن مکمل به‌جیره باعث افزایش معنی‌دار وزن پوسته در نسبت به تیمار شاهد شد ( $p < 0.05$ )؛ به‌طوری‌که هر سه سطح مکمل نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (جدول ۳) ( $p < 0.05$ ). سطح ۱ درصد مکمل بیشترین ضخامت و وزن پوسته را در پی‌داشت ( $p < 0.05$ ). برنجیان و همکاران (Berenjian *et al.*, 2020) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا ۳ بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند که وزن پوسته و ضخامت پوسته در مرغ‌های تخم‌گذار تحت تأثیر امگا ۳ قرارگرفت و سطوح مصرف امگا ۳ باعث افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد در وزن و ضخامت پوسته تخم‌مرغ داشتند. در آزمایش حاضر افزودن مخلوط گیاهان دارویی به همراه امگا ۳ و اسیدلینولئیک کنژوگه باعث افزایش بیشتر رنگ زرده تخم‌مرغ شد. شیفر و همکاران (Shiffer *et al.*, 2011) با بررسی ترکیب اسیدهای لینولئیک خوراک و لینولئیک کنژوگه و اثرات مرتبط بر تخم‌مرغ مرغ‌های تخم‌گذار، گزارش کردند که وزن و ضخامت پوسته در مرغ‌های تخم‌گذاری که از سطوح بالاتر مکمل اسیدلینولئیک مزدوج (۰/۲۵ و ۰/۵ درصد) در

شد. در مطالعه‌ای که توسط عبد و همکاران (Abd et al., 2008) با بررسی اثر خوراک مکمل‌سازی شده با اکالیپتوس بر عملکرد تولیدی و ایمنی در مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش شد که گنجاندن اکالیپتوس در سطح ۳ گرم در کیلوگرم جیره خوراکی برای بهبود عملکرد تولیدی و مصونیت مرغ‌های تخم‌گذار مفید است. در آزمایشی دیگر که توسط فابیو و همکاران (Fabio et al., 2003) با بررسی اثر گیاه اکالیپتوس و شنبلیله بر عملکرد و فراسنجه‌های خونی مرغان تخم‌گذار انجام و گزارش شد که تیمارهایی که شنبلیله به‌همراه اکالیپتوس مصرف کردند در آن‌ها بهبود عملکرد تولیدی و افزایش غلظت HDL خون مشاهده شد. در نتیجه آزمایش حاضر با بررسی اثر سطوح مختلف مکمل CLA و امگا۳ به‌همراه اسانس گیاهان دارویی همچون پودر رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس بر عملکرد تولیدی، فراسنجه‌های خونی، فعالیت عملکرد تولیدمثلی و ریخت‌شناسی تخمدان در مرغ‌های تخم‌گذار نژاد لهن انجام خواهد شد.

در مطالعه‌ای که توسط شمس‌الهی و همکاران (Shamsolahi et al., 2018) با بررسی تأثیر سطوح جیره‌ای اسانس نعنای فلفلی بر شاخص‌های تولید و پاسخ ایمنی در مرغ تخم‌گذار تحت تنش القا شده با دگزامتازون انجام و گزارش کردند که تنش فیزیولوژیک ناشی از تزریق دگزامتازون اثرات منفی بر ضریب تبدیل و تولید تخم در مرغ‌های تخم‌گذار دارد و افزودن اسانس نعنای فلفلی به جیره خوراکی می‌تواند برخی از این اثرات منفی مانند وزن تخم‌مرغ را تا حدودی بهبود می‌بخشد. در مطالعه‌ای که توسط معتمدی و همکاران (Motamedi et al., 2016) با بررسی تأثیر عصاره هیپروالکلی گیاهان دارویی آویشن، نعنای فلفلی و ترکیب آن‌ها بر روی عملکرد (صفات کمی) تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار سویه لهن لایت انجام و گزارش کردند که استفاده از ۰/۲۵ درصد آویشن باغی به‌همراه ۰/۲۵ درصد نعنای فلفلی در آب آشامیدنی مرغ‌های تخم‌گذار سویه لهن لایت، اثرات مثبتی بر صفات کمی (عملکردی) در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی مشاهده

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر خواص کیفی تخم‌مرغ

Table3. Effect of experimental diets on egg quality

| وزن پوسته (گرم)<br>Shell weight (g) | ضخامت پوسته (میلی‌متر)<br>Shell thickness (mm) | رنگ زرده (مقیاس رش)<br>Yolk color (Roche criteria) | واحد هاو<br>Haugh unit | تیمار<br>treatment    |
|-------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------|-----------------------|
| 7.53 <sup>c</sup>                   | 0.358 <sup>c</sup>                             | 7.33 <sup>c</sup>                                  | 78.65                  | شاهد<br>Control       |
| 7.65 <sup>b</sup>                   | 0.362 <sup>b</sup>                             | 7.49 <sup>b</sup>                                  | 79.35                  | تیمار ۱<br>Treatment1 |
| 7.76 <sup>ab</sup>                  | 0.369 <sup>ab</sup>                            | 7.58 <sup>ab</sup>                                 | 78.93                  | تیمار ۲<br>Treatment2 |
| 7.81 <sup>a</sup>                   | 0.384 <sup>a</sup>                             | 7.76 <sup>a</sup>                                  | 79.72                  | تیمار ۳<br>Treatment3 |
| 0.12                                | 0.89                                           | 0.16                                               | 0.44                   | SEM <sup>1</sup>      |
| 0.003                               | 0.001                                          | 0.0001                                             | 0.15                   | P-value <sup>2</sup>  |

\* تیمار ۱ حاوی ۰/۵ درصد (۰/۲۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۲۵ مکمل امگا۳ و CLA)، تیمار ۲ حاوی ۰/۷۵ درصد (۰/۳۷۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۳۷۵ مکمل امگا۳ و CLA) و تیمار ۳ حاوی ۱ درصد (۰/۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعنای فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۵ مکمل امگا۳ و CLA) در جیره

۱- حروف یکسان در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. ۲- خطای استاندارد میانگین

\*Treatment 1 contains 0.5% (0.25% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.25% omega-3 and CLA supplements), Treatment 2 contains 0.75% (0.375% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.375 Omega 3 and CLA supplements) and Treatment 3 contains 1% (0.5 mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.5 Omega 3 and CLA supplements) in the diet

1. The same letters in each column indicate the absence of statistically significant differences at the 0.05 level. 2- Standard error of the mean

فراسنجه‌های خونی تخم‌گذار گزارش کردند که غلظت کلسترول کل، HDL، LDL، VLDL و همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم خون تحت تأثیر سطوح CLA قرارنگرفت، اما غلظت تری‌گلیسرید خون با افزایش سطوح مصرف CLA در خوراک، کاهش یافت، که در جیره حاوی ۰/۵ درصد CLA کمترین بود و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. تیواری و همکاران (Tiwari et al., 2017) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا۳، امگا۶ بر عملکرد، سلامت و فراسنجه‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار در مرحله تولید گزارش کردند که غلظت HDL، LDL و VLDL تحت تأثیر سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا۳، امگا۶ قرارنگرفت اما میزان کلسترول و تری‌گلیسرید خون با افزایش سطوح مصرف امگا۳، امگا۶ در خوراک، کاهش یافت. امگا۳ دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌تواند از اکسیداسیون LDL جلوگیری کند (Zhao et al., 2004). همچنین با تأثیر

## فراسنجه‌های سرم خون

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۴ آورده شده است. تأثیر سطوح مختلف بر غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL و LDL خون معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). با افزایش سطح مکمل در جیره، از مقدار تری‌گلیسرید، کلسترول و LDL خون به‌طور معنی‌داری کاسته شد. همچنین مقدار HDL خون در تیمارهای ۳ و ۴ (حاوی ۰/۷۵ و ۱ درصد مکمل) بیشترین بود که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی از نظر غلظت گلوکز، پروتئین تام و اسیداوریک خون مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). همچنین تیمارهای ۳ و ۴ حاوی مکمل سبب کاهش معنی‌دار LDL خون شدند ( $p < 0.05$ ). فتح‌اله‌زاده و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی اثرات افزودن سطوح مختلف اسیدچرب لینولئیک کنژوگه در جیره مرغ‌های تخم‌گذار در دوره پس از تولد ببری بر عملکرد تولید، پاسخ سیستم ایمنی و برخی

(Fathi et al., 2019) با بررسی اثر مکمل سازی برگ های اکالیپتوس در بهبود عملکرد، خصوصیات لاشه، فراسنجه های خونی و پاسخ ایمنی در مرغ های تخم گذار انجام و گزارش کردند که افزودن اکالیپتوس تنها باعث افزایش پروتئین تام خون نسبت به تیمار شاهد شد، اما در سایر موارد تاثیر معنی داری مشاهده نشد. این گیاهان معطر دارای ترکیبات فنولیک مانند کرسین، کارنوسول و رزمارینیک اسید و ترکیباتی مانند تانن ها و اسیدهای فنولیک موجود در این گیاهان، قادرند از تولید کلسترول توسط کبد جلوگیری کنند (Asgarpanah & Razzaghi-Asl, 2013). همچنین اسانس گیاهان مذکور دارای ترکیباتی مانند ترپنوئیدها هستند که مانع تولید کلسترول توسط کبد می شوند (Zhang et al., 2015). علاوه بر این، ممکن است اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی بر اکسیداسیون LDL تاثیر گذار باشد (Atta et al., 2012). همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی ترکیبات گیاهی مزبور می تواند از اکسیداسیون LDL جلوگیری کرده و سبب افزایش غلظت HDL می شود. این تأثیرات باعث کاهش غلظت کلسترول و تری گلیسرید خون و همچنین افزایش نسبت HDL به LDL می شود (Asgarpanah & Razzaghi-Asl, 2013).

بر ژن‌های مرتبط با متابولیسم لیپیدها موجب کاهش سختی عروق می‌شود (Leaf et al., 2003). مطالعات نشان داده‌اند سی‌ال‌ای نیز دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌تواند بر ژن‌بیان مرتبط با کلسترول تأثیرگذار باشد (Tiwari et al., 2017). این مکانیزم‌ها سبب کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید خون و افزایش HDL می‌شوند. همچنین در خصوص تأثیر مصرف گیاهان دارویی بر فراسنجه‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار که توسط شمس‌الهی و همکاران (Shamsollahi et al., 2018) با بررسی تأثیر سطوح جیره‌ای اسانس نعناع‌فللی بر شاخص‌های تولید و پاسخ ایمنی در مرغ تخم‌گذار تحت تنش القاشده با دگزامتازون انجام‌گرفت گزارش شد، سطوح مختلف نعناع‌فللی بر غلظت LDL و پروتئین تام خون تأثیر معنی‌داری داشت که البته سطح مصرف (۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) نعناع‌فللی بیشترین پروتئین تام و کمترین مقدار LDL را داشت. از طرفی، شهریاری و همکاران (Shahriari et al., 2008) با بررسی تأثیر رازیانه بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و فراسنجه‌های تولیدی در مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند استفاده از گیاه دارویی رازیانه موجب بهبود فراسنجه‌های خونی در تیمارهای دارای رازیانه نسبت به تیمار شاهد شد. در خصوص تأثیر اکالیپتوس بر فراسنجه‌های خونی، فتحی و همکاران

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت فراسنجه خونی مرغ‌های تخم‌گذار (میلی گرم در دسی لیتر)

Table 4. Effect of experimental diets on blood parameters of laying hens

| اسیداوریک<br>Uric acid | پروتئین تام<br>Total protein | LDL                 | HDL                 | تری گلیسرید<br>TG    | کلسترول<br>Cholesterol | گلوکز<br>Glucose | تیمار<br>Treatment    |
|------------------------|------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|------------------------|------------------|-----------------------|
| 4.58                   | 6.30                         | 57.43 <sup>a</sup>  | 42.01 <sup>b</sup>  | 754.23 <sup>a</sup>  | 148.75 <sup>a</sup>    | 219.01           | شاهد<br>Control       |
| 4.31                   | 6.42                         | 55.83 <sup>ab</sup> | 44.83 <sup>ab</sup> | 751.51 <sup>ab</sup> | 142.9 <sup>2b</sup>    | 213.14           | تیمار ۱<br>Treatment1 |
| 4.43                   | 6.58                         | 51.81 <sup>b</sup>  | 48.87 <sup>a</sup>  | 748.21 <sup>b</sup>  | 137.11 <sup>bc</sup>   | 209.31           | تیمار ۲<br>Treatment2 |
| 4.34                   | 6.46                         | 48.13 <sup>c</sup>  | 48.82 <sup>a</sup>  | 744.59 <sup>c</sup>  | 135.45 <sup>c</sup>    | 217.09           | تیمار ۳<br>Treatment3 |
| 0.12                   | 0.18                         | 1.43                | 0.87                | 1.26                 | 0.86                   | 1.29             | SEM <sup>1</sup>      |
| 0.23                   | 0.068                        | 0.013               | 0.047               | 0.068                | 0.045                  | 0.14             | P-value <sup>2</sup>  |

\*تیمار ۱ حاوی ۵/۵ درصد (۲۵/۰ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعناع فلفلی و اکالیپتوس + ۲۵/۰ مکمل امگا۳ و CLA)، تیمار ۲ حاوی ۷۵/۰ درصد (۳۷۵/۰ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعناع فلفلی و اکالیپتوس + ۳۷۵/۰ مکمل امگا۳ و CLA) و تیمار ۳ حاوی ۱ درصد (۵/۰ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعناع فلفلی و اکالیپتوس + ۵/۰ مکمل امگا۳ و CLA) در جیره

۱- حروف یکسان در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی دار در سطح ۰/۰۵ است. ۲- خطای استاندارد میانگین

\*Treatment 1 contains 0.5% (0.25% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.25% omega-3 and CLA supplements), Treatment 2 contains 0.75% (0.375% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.375 Omega 3 and CLA supplements) and Treatment 3 contains 1% (0.5 mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.5 Omega 3 and CLA supplements) in the diet

1. The same letters in each column indicate the absence of statistically significant differences at the 0.05 level. 2- Standard error of the mean

## مشخصات ظاهری و چربی کبد

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مشخصات ظاهری کبد و چربی کبد در جدول پنج ارائه شده است. وزن کبد در تیمار شاهد و تیمار ۱ حاوی مکمل نسبت به تیمار ۲ و ۳ حاوی مکمل به طور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). درصد چربی کبد به طور معنی داری در مرغ های تغذیه شده سطوح ۰/۷۵ و ۱ درصد مکمل پایین تر از تیمار شاهد و تیمار ۱ حاوی مکمل بود ( $P < 0.05$ ). اسکور کبد چرب نیز در مرغ های شاهد و تیمار سطح ۱ مکمل، بالاتر بود. همچنین وزن نسبی کبد در تیمار شاهد بسترین بود و در تیمارهای حاوی سطوح

بالا تر مکمل کمترین مقدار را داشت ( $p < 0.05$ ). موسوی و همکاران (Moosavi et al., 2016) با بررسی تأثیر استفاده از پسماند گیاهان دارویی در جیره‌های با نسبت‌های گوناگون اسیدهای چرب امگا ۶ به امگا ۳ بر مشخصات کبدی مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند که استفاده از نسبت پایین اسیدهای چرب امگا ۶ به امگا ۳ با ۵ درصد مخلوط گیاهان دارویی در جیره شاخص‌های کبدی را در مرغ‌های تخم‌گذار بهبود می‌بخشد. یوسفی و همکاران (Yousefi et al., 2006) با بررسی تأثیر سطوح مختلف اسیدلینولئیک مزدوج در درمان سندرم کبدچرب همراه با خون‌ریزی در مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش کردند که وزن کبد، درصد چربی کبدی و نمره

2009) با بررسی تأثیر سطوح جیره‌ای گیاهان دارویی بر شاخص‌های کبدی و پاسخ ایمنی در مرغ تخم‌گذار انجام گرفت، گزارش شد سطوح مختلف گیاهان دارویی بر فراسنجه‌های کبدی تأثیر معنی‌داری نداشت. در خصوص تأثیر اکالیپتوس بر فراسنجه‌های خونی، ال‌عامری (1993) با بررسی اثر مکمل‌سازی گیاهان دارویی مصری در بهبود عملکرد، فراسنجه‌های کبدی و پاسخ تولیدی در مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش کرد که افزودن اکالیپتوس باعث کاهش وزن کبد نسبت به تیمار شاهد شد، اما در سایر موارد تأثیر معنی‌داری مشاهده نشد. ترکیباتی مانند منتول و کارنوسول موجود در این گیاهان دارویی می‌توانند موجب کاهش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز اسیدهای چرب شوند (Eithan et al., 2009). علاوه بر این ترکیباتی مانند ترپنئوئیدها می‌توانند از طریق اثرات آنتی‌التهابی و آنتی‌اکسیدانی منجر به کاهش چربی کبدی شوند (Shahriari et al., 2008).

خون‌ریزی کبدی با افزایش سطح مصرف سی‌ال‌ای کاهش می‌یابد. نتایج این مطالعات با نتایج آزمایش حاضر هم‌سو می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهند امگا ۳ با تأثیر بر فاکتورهای PPAR- $\alpha$  و SREBP-1 که در بیان ژن‌های مربوط به اکسیداسیون و سنتز اسیدهای چرب مشارکت دارند، موجب کاهش بافت چربی کبد می‌شود (Flachs et al., 2015). همچنین سی‌ال‌ای با خاصیت آنتی‌اکسیدانیش بر روندهای التهابی مؤثر است که مرتبط با افزایش چربی کبد است (Zein et al., 2014). این مکانیزم‌ها باعث افزایش وزن کبد و کاهش چربی آن می‌شوند. از طرفی شهریاری و همکاران (2008) با بررسی تأثیر رازیانه بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و فراسنجه‌های تولیدی در مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند استفاده از گیاه دارویی رازیانه موجب بهبود فراسنجه‌های کبدی در تیمارهای دارای رازیانه نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین در خصوص تأثیر مصرف گیاهان دارویی بر فراسنجه‌های کبدی مرغ‌های تخم‌گذار که توسط ایتان و همکاران (Eithan et al., )

#### جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی‌های کبد

Table5. the effect of experimental diets on liver parameters

| تیمار                | وزن کبد (گرم)      | نمره کبد چرب      | وزن نسبی کبد (درصد)       | چربی کبد (درصد)    |
|----------------------|--------------------|-------------------|---------------------------|--------------------|
| Treatment            | Liver weight (g)   | Fatty liver score | Liver relative weight (%) | Liver fat (%)      |
| شاهد                 | 92.09 <sup>a</sup> | 4.41              | 2.41                      | 58.22 <sup>a</sup> |
| Control              |                    |                   |                           |                    |
| تیمار ۱              | 87.46 <sup>b</sup> | 4.33              | 2.35                      | 55.73 <sup>b</sup> |
| Treatment1           |                    |                   |                           |                    |
| تیمار ۲              | 85.02 <sup>c</sup> | 3.81              | 2.26                      | 51.13 <sup>c</sup> |
| Treatment2           |                    |                   |                           |                    |
| تیمار ۳              | 83.23 <sup>d</sup> | 3.69              | 2.19                      | 48.29 <sup>d</sup> |
| Treatment3           |                    |                   |                           |                    |
| SEM <sup>1</sup>     | 0.46               | 0.15              | 0.27                      | 0.39               |
| P-value <sup>2</sup> | 0.041              | 0.283             | 0.511                     | 0.018              |

\* تیمار ۱ حاوی ۰/۵ درصد (۰/۲۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعناع فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۲۵ مکمل امگا ۳ و CLA)، تیمار ۲ حاوی ۰/۷۵ درصد (۰/۳۷۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعناع فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۳۷۵ مکمل امگا ۳ و CLA) و تیمار ۳ حاوی ۱ درصد (۰/۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعناع فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۵ مکمل امگا ۳ و CLA) در جیره

۱- حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. ۲- خطای استاندارد میانگین

\*Treatment 1 contains 0.5% (0.25% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.25% omega-3 and CLA supplements), Treatment 2 contains 0.75% (0.375% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.375 Omega 3 and CLA supplements) and Treatment 3 contains 1% (0.5 mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.5 Omega 3 and CLA supplements) in the diet

1- The same letters in each column indicate the absence of statistically significant differences at the 0.05 level. 2- Standard error of the mean

#### عملکرد تولیدمثلی و ریخت‌شناسی تخمدان

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن تخمدان، اویدوکت، استروما و بررسی فولیکول‌های تخمدانی در جدول ۶ نشان داده شده‌است. داده‌های جدول ۶ نشان می‌دهد افزودن سطوح مختلف مکمل تأثیر معنی‌داری بر وزن تخمدان، اویدوکت، استروما، تعداد فولیکول‌ها و وزن بزرگترین فولیکول نداشت ( $p > 0.05$ ). وزن فولیکول‌های زرد بزرگ تحت تأثیر معنی‌دار اعمال تیمارها قرار گرفت، به‌طوری‌که سطح ۰/۷۵ درصد مکمل بالاترین وزن فولیکولی را در پی داشت ( $p > 0.05$ ). ابید (Ebeid, 2011) با بررسی تأثیر استفاده از اسیدهای چرب n-3 در تخمک بر رشد فولیکول تخمدانی در مرغ‌های تخم‌گذار با سن بالا، گزارش کردند گنجانیدن منابع ترکیبی اسیدچرب غیراشباع در خوراک به‌میزان متوسط (۲/۵ درصد) نه‌تنها هیچ تأثیر منفی بر رشد فولیکول تخمدان و ویژگی‌های استخوان

درشت نی نداشت بلکه باعث بهبود عملکرد تولیدمثلی در مرغ‌های تخم‌گذار با سن بالا (۶۸ هفتگی) شد. یانفو و همکاران (Yanfu et al., 2020) با بررسی تأثیر افزودن مکمل اسید لینولئیک مزدوج در جیره مرغ‌های تخم‌گذار بر رشد و توسعه دستگاه تولیدمثلی مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش کردند که افزودن اسید لینولئیک مزدوج در جیره به‌طور قابل‌توجهی باعث افزایش وزن تخمدان و دستگاه تولیدمثلی شده و عملکرد تولیدمثلی را در مرغ‌های تخم‌گذار بهبود می‌بخشد. مطالعات نشان می‌دهد که امگا ۳ توسط تأثیر بر فعال‌سازی ژن‌های مربوط به رشد و بافت‌سازی تخمدان، موجب افزایش سطح هورمون‌های جنسی خصوصاً استرادیول می‌شود (Zhang et al., 2015). همچنین سی‌ال‌ای با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود می‌تواند از تنش اکسیداتیو در بافت‌های تخمدان جلوگیری کرده و به افزایش فعالیت تخمک‌سازی کمک نماید (Atta et al., )

فولیکول‌های زرد بزرگ داشت. در خصوص تاثیر اکالیپتوس بر فراسنجه‌های تولیدمثلی، هرینگتون و همکاران (Herington *et al.*, 2020) با بررسی کاربرد گیاهان معطر و عصاره آن‌ها در جیره خوراکی مرغ‌های تخم‌گذار انجام و گزارش کردند که افزودن اکالیپتوس به جیره خوراکی باعث حفظ سلامت، افزایش تولید و بهبود فراسنجه‌های تولیدمثلی در مرغ‌های تخم‌گذار می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد ترکیباتی مانند منتول، اسانس‌های روغنی و فلاونوئیدها در این گیاهان بر ژن‌های مرتبط با باروری مانند FSH و LH، ترشح هورمون‌های جنسی به خصوص استرادیول را تشدید می‌کند. همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش تنش اکسیداتیو در بافت تخمدان و ترشح هورمون‌های مرتبط با باروری می‌شود (Herington *et al.*, 2020). از جمله دلایل احتمالی این تفاوت می‌تواند به دلیل شرایط آزمایش متفاوت بوده (حیوان مدل، جنس، سن، شدت بیماری و...)، روش مطالعه (مقدار و نوع مصرفی، زمان درمان)، ترکیب مواد مورد مطالعه (یک گیاه یا ترکیب مخلوط گیاهی) و عوامل محیطی و ژنتیکی فردی باشد.

این مکانیزم‌ها سبب بهبود عملکرد تولیدمثلی می‌شوند. گوناگونی در منابع خوراکی، شرایط آزمایش و شرایط فیزیولوژیکی حیوانات ممکن است بر تاثیر ترکیبات تاثیرگذار بوده باشند. از طرفی موسوی و همکاران (Moosavi *et al.*, 2016) با بررسی تاثیر استفاده از پسماند گیاهان دارویی در جیره‌های با نسبت‌های گوناگون اسیدهای چرب امگا۶ به امگا۳ بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار گزارش کردند استفاده از نسبت‌های پایین اسیدهای چرب امگا۶ به امگا۳ با ۵ درصد مخلوط گیاهان دارویی در جیره باعث بهبود صفات تولیدی و وزن اویدوکت می‌شود. همچنین در خصوص تاثیر مصرف گیاهان دارویی بر فراسنجه‌های تولیدمثلی مرغ‌های تخم‌گذار که توسط تاکی و همکاران (Taki *et al.*, 2015) با بررسی تاثیر سطوح مختلف اسانس رازیانه بر صفات تولیدی، خواص کیفی تخم‌مرغ و برخی فراسنجه‌های تولیدمثلی مرغ تخم‌گذار انجام گرفت، گزارش شد اعمال تیمارها تاثیر معنی‌داری بر وزن نسبی تخمدان، اویدوکت و وزن استروما نداشت؛ هرچند سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس رازیانه اثر معنی‌داری بر وزن

جدول ۶- اثر تیمارهای آزمایشی بر ریخت شناسی تخمدان مرغ‌های تخم‌گذار در پایان دوره آزمایش

Table6. Effect of experimental diets on reproductive performance activity in laying hen

| تیمارها (میلی‌گرم در کیلوگرم) |                  |                       |                       |                       |                    |                                                        |
|-------------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|--------------------------------------------------------|
| P value <sup>2</sup>          | SEM <sup>1</sup> | تیمار ۳<br>Treatment3 | تیمار ۲<br>Treatment2 | تیمار ۱<br>Treatment1 | شاهد<br>Control    | فراسنجه‌های ریخت‌شناسی<br>تخمدان<br>Oviduct morphology |
| 0.823                         | 0.17             | 3.68                  | 3.65                  | 3.42                  | 3.51               | وزن تخمدان (درصد)                                      |
|                               |                  |                       |                       |                       |                    | Ovary weight (%)                                       |
| 0.452                         | 0.14             | 5.08                  | 4.89                  | 4.43                  | 4.62               | وزن اویدوکت (درصد)                                     |
|                               |                  |                       |                       |                       |                    | Oviduct weight (%)                                     |
| 0.009                         | 0.09             | 5.6                   | 5.2                   | 5.8                   | 5.2                | تعداد فولیکول زرد بزرگ                                 |
|                               |                  |                       |                       |                       |                    | Number of big yellow follicle                          |
| 0.931                         | 1.05             | 19.4                  | 19.8                  | 18.8                  | 17.8               | تعداد فولیکول زرد کوچک                                 |
|                               |                  |                       |                       |                       |                    | Number of small yellow follicle                        |
| 0.614                         | 2.21             | 46.4                  | 46.6                  | 41.8                  | 38.6               | تعداد فولیکول سفیدبزرگ                                 |
|                               |                  |                       |                       |                       |                    | Number of big white follicle                           |
| 0.433                         | 0.18             | 3.9                   | 4.4                   | 3.8                   | 3.4                | تعداد فولیکول تخم‌ریزی کرده                            |
|                               |                  |                       |                       |                       |                    | Number of ovulated follicle                            |
| 0.127                         | 0.11             | 14.12                 | 14.31                 | 14.9                  | 14.11              | وزن بزرگ‌ترین فولیکول (گرم)                            |
|                               |                  |                       |                       |                       |                    | Biggest follicle weight (g)                            |
| 0.015                         | 0.72             | 40.33 <sup>ab</sup>   | 41.74 <sup>a</sup>    | 39.36 <sup>b</sup>    | 37.81 <sup>c</sup> | وزن فولیکول‌های زرد بزرگ (گرم)                         |
|                               |                  |                       |                       |                       |                    | Yellow big follicles weight (g)                        |
| 0.841                         | 0.28             | 8.24                  | 8.03                  | 7.97                  | 8.07               | وزن استروما (گرم)                                      |
|                               |                  |                       |                       |                       |                    | Stroma weight (g)                                      |

\* تیمار ۱ حاوی ۰/۵ درصد (۰/۲۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعناع فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۲۵ مکمل امگا۳ و CLA)، تیمار ۲ حاوی ۰/۷۵ درصد (۰/۳۷۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعناع فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۳۷۵ مکمل امگا۳ و CLA) و تیمار ۳ حاوی ۱ درصد (۰/۵ مخلوط گیاهان دارویی رازیانه، نعناع فلفلی و اکالیپتوس + ۰/۵ مکمل امگا۳ و CLA) در جیره

۱- حروف یکسان در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. ۲- خطای استاندارد میانگین

\*Treatment 1 contains 0.5% (0.25% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.25% omega-3 and CLA supplements), Treatment 2 contains 0.75% (0.375% mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.375 Omega 3 and CLA supplements) and Treatment 3 contains 1% (0.5 mixture of fennel, peppermint and eucalyptus + 0.5 Omega 3 and CLA supplements) in the diet

1- The same letters in each column indicate the absence of statistically significant differences at the 0.05 level. 2- Standard error of the mean

## نتیجه‌گیری کلی

نعناع‌فلغلی و اکالیپتوس در تغذیه مرغ تخم‌گذار به‌ویژه در سطوح بالاتر آن (۷۵٪ و ۱ درصد)، اثرات مثبتی بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار داشت.

نتایج کلی نشان داد که استفاده از مکمل اسیدلینولئیک مزدوج، امگا ۳ به‌همراه مخلوط گیاهان دارویی چون پودر رازیانه،

## References

- Abd, A., Lohakare J.D., & Brendich, L. (2008). Effect of dietary supplementation ocalyptus on performance, egg quality and serum metabolicprofile of Hy-Line of Brown hens during the late laying period. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 114-120.
- Abdalla, A. A., Ahmed, M. M., Aly. O. M., Abaza, I. M., & Hassan. E. Y. (2011). Effect of using some medicinal plants and their mixtures on production on productive and reproductive performance of gimmizah strain. *Poultry Science*, 39(11), 2037–2041.
- Abdel, R., Pariza, M.W. & Cook, M.E. (2008). Olive oil prevents the adverse effects of dietary conjugated linoleic acid on chick hatchability and egg quality. *Journal of Nutrition*, 131, 800-806.
- Al-Amari, A., Gabriel, E., & Machlin, L. J. (1993). Dietary vitamin E requirement for optimum immune response in the rat. *Journal of Nutrition*, 116, 675-681.
- Alvarez, C., Cachaldora, P., Mendez, J. & Garciarebollar, P. (2004). Effects of conjugated linoleic acid addition on its deposition in eggs of laying hens with no other fat source. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2:203-210.
- AOAC. (1984). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists; Washington.
- Asgarpanah, J., & Razzaghi-Asl, N. (2013). Potential role of Rosmarinus officinalis L. in disease treatment and health promotion. *Excli Journal*, 12, 1088–1105.
- Atta, M. B., Alkharfy, K. M., & Al-Daghri, N. M. (2012). Anti-atherogenic effects of phenolics extracted from dates (*Phoenix dactylifera* L.), lycopene from tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) and olive oil, individually or in combination. *Food and Function*, 3(8), 863-869.
- Berardi, L. C., & Goldblatt, L. A. (2008). Influence of quillaja saponin on chick performance. *Poultry Science*, 59(10), 2237–2241.
- Berenjian A., Sharifi S. D., Mohammadi-Sangcheshmeh A., & Ghazanfari S. (2019). Effect of chromium nanoparticles on physiological stress induced by exogenous dexamethasone in Japanese quails. *Biological Trace Element Research*, 184(2), 474-481.
- Chen, Y., Chen, H., Li, W., Miao, J., Chen, N., Shao, X., & Cao, Y. (2018). Polyphenols in Eucalyptus leaves improved the egg and meat qualities and protected against ethanol-induced oxidative damage in laying hens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(1), 214-223.
- Ebeid, T. A. (2011). The impact of incorporation of n-3 fatty acids into eggs on ovarian follicular development, immune response, antioxidative status and tibial bone characteristics in aged laying hens. *Cambridge Animal Journal*, 39, 601-618.
- Eitan, Y., & Soller, M. (2009). Problems associated with laying hens entry into lay: a review and hypothesis. *World's Poultry Sciences Journal*, 65, 641-648.
- Fabio, A., Corona, A., Forte, E., & P. Quaglio, (2003). Inhibitory activity of spices and essential oils on psychrotrophic bacteria. *New Microbiol*, 26, 115- 120.
- Fathi, M., Abdelsalam, M., Ebeid, T., & Mostafa, M. (2019). Effects of Supplemental effects of eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) leaves on growth performance, carcass characteristics, blood biochemistry and immune response of laying hens. *Egypt Journal of Agricultural Research*, 2, 403-410.
- Fathollah Zadeh, R., Aliaei, M., & Parizadian, B. (2018). The effect of fennel and thyme plant extracts with and without flax on yield and egg quality of laying hens. *Research Journal. Animal science of Iran*, 243-259.
- Flachs, P., Mohamed-Ali, V., Horakova, O., Rossmeisl, M., & Hosseini, E. (2015). Polyunsaturated fatty acids of marine origin induce adiponectin in mice fed a high-fat diet. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 435(1), 26–36.
- Gilbert, A. B., Perry, M. M. Waddington, D. & Hardie, M. A. (1983). Role of atresia in establishing the follicular hierarchy in the ovary of the domestic hen (*Gallus domesticus*). *Journal of Reprod Fertile*, 69: 221-227.
- Herington, Y.H., Kim, J., Yoon, H.S, & Choi, Y.H. (2020). Effects of dietary corticosterone on yolk colors and egg shell quality in laying hens. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, 28:840-846.
- Jamroz, D. P., Mendez, J. & Garciarebollar, P. (2006). The influence of phytogetic extracts on performance, nutrient digestibility, carcass characteristics, and gut microbial status in broiler chickens. *Journal of Animal Feed Science*, 15, 353–363.

- Jamroz, D., Korzekwa, C., Bobkowski, S., & Boros, D. (2003). Dietary soybean and rapeseed meal and omega-3 fatty acids in broiler nutrition. *British Poultry Science*, 44(1), 105–112.
- Jiang, S. Z., Zhao, X. Y., Cai, S. R., & Zheng, Q. H. (2014). Effects of dietary canthaxanthin supplementation on growth performance, egg production and quality, and antioxidant status in laying hens. *Animal Feed Science & Technology*, 190(1-4), 69-74.
- Kortis, A., M. & Wilson, M.M. (1990). Productive Performance and Immunocompetence of Commercial Laying Hens Given Diets Supplemented with Eucalyptus. *International Journal of Poultry Science*, 5:445-449.
- kronovix, W., E. Makonnen, L. Zerihun, & Debella, A. (2016). Effect of *Achyranthesaspera* L. on fetal abortion, uterine and pituitary weights, serum lipids and hormones. *African Health Sciences*, 6, 108–112.
- Leaf, A., Kang, J. X., Xiao, Y. F., & Billman, G. E. (2003). Clinical prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids and mechanism of prevention of arrhythmias by n-3 fish oils. *Circulation*, 107(21), 2646-2652.
- Lee, K.W., Everts, H., Kappert, H.J., Yeom, K.H., & Beynen, A.C. (2017). Dietary carvacrol lowers body weight gain but improves feed conversion in female broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 12: 394-399.
- Mirgholani, S., A. L., Fethullahzadeh., Kianfar, R., & Aliai, M. (2019). The effects of conjugated linoleic fatty acid (CLA) in the diet of laying hens on production performance and quality characteristics of eggs at different ages of storage. *Journal of Animal Science Research in Iran*, 217-221.
- Motamedi, K. F. Taherkhani., R. Tannah., & Timur, Q. (2016). The effect of hydroalcoholic extract of garden thyme, peppermint and their combination on egg performance (*quantitative properties*) in laying hens of Lehman Light strain. *Agricultural Researches in the Desert Margin*, vol. 14, no. 2.
- Mousavi, S.A. Mahdavi, S, A, H. A. Riasi, & Sadeghi, A. (2016). The effect of using medicinal plant residues in diets with different ratios of omega-6 to omega-3 fatty acids on the performance of laying hens. *Tehran University Research Journal*, pp. 321-333.
- Nasimi, M., Vakili, R., Afzali, N., Naimipour, H., & Esmaeili, H. (2011). Effect of plant extracts of fennel, thyme, peppermint and dill on performance of Leghorn laying hens. *The 4th Congress of Animal Sciences of Iran*, Page 3\_24.
- National Research Council, & Subcommittee on Poultry Nutrition. (1994). *Nutrient requirements of poultry: 1994*. National Academies Press.
- Renema, R. A., & Robinson, F. E. (2004). Defining normal: comparison of feed restriction and full feeding of female broiler breeders. *World's Poultry Science Journal*, 60(4), 508-522.
- Şahin, K., Küçükyılmaz, K., Çoban, M., Çakmakçı, S., & Güçlü, B. K. (2010). Herbal aromatic water: A potential functionalized total replacement for antibiotic growth promoters in broiler productions. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 34(3), 173–180.
- SAS Institute Inc. (1999). *SAS/STAT User's Guide*, Version 8 Cary.
- Schafer, K., Manner, K., Sagredos, A., Eder, K. & Simon, O. (2011) Incorporation of dietary linoleic and conjugated linoleic acids and related effects on eggs of laying hens. *Lipids*, 36, 1217—1222.
- Shahriar, M., M. Taghiani, A. Mahmoudi, & Architects, S. (2013). The effect of different levels of fennel seeds on performance and characteristics of broiler chicken carcasses. *The 5th Congress of Animal Sciences of Iran. Isfahan University of Technology*, pp. 290-297.
- Shahriari, A., Fatemi Tabatabaie, R., Jafari, R. A., & Ghorbanzadeh, B. (2008) Modulation of serum and liver triglyceride and blood parameters by Fennel in laying hens. *Animal Nutrition*, 116, 675-682.
- Shamsollahi, S. L. Hassanvand. H, Khosroniya, & Parizadian, B. (2018). Effect of dietary levels of peppermint essential oil on production indicators and immune response in laying hens under stress induced by dexamethasone. *Journal of Livestock Products of Tehran University*, pp. 437-450.
- Smitalhis, W. R., & Smith, L. M. (2005). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *Journal lipid Resource*, 5:600-618.
- Suxombat, X. G., F. L., Wang, D. F. Li, J. D. Yin, & Li, J. Y. (2006). Effects of dietary conjugated linoleic acid on the productivity of laying hens and egg quality during refrigerated storage. *Poultry Science*, 83, 1688-1685.
- Taki, M. T., Khosroniya, H., Afzali, N., & Mahmoudi, A. (2015). Investigating the effects of using a mixture of medicinal plants along with sources of saturated fat on performance, egg quality and blood parameters and safety of laying hens. *Iranian Journal of Animal Sciences*, 81: 19-35.

- Tiwari, R., Bhatt, P., Taha, A. E., Dihama, K., & Farag, R. (2017). Effects of Omega-3 and Omega-6 Fatty Acids in laying hens nutrition on production performance, health and blood parameters during productive period. *Journal of Poultry Science*, 96, 1603-1618.
- Van Den Brand, H., Parmentier, H. K., & Kemp, B. (2004). Effects of housing system (aviary vs. conventional cage) and age of laying hens on egg characteristics. *Poultry Science*, 83(6), 833-837.
- Yan Fu, C., Zhang, Y., Wang, W., & Yan, P. (2020). Supplementing conjugated linoleic acid (CLA) in Laying hens diet on the growth and development of reproductive function and ovarian morphology. *British Journal of Nutrition*, 114: 352-361.
- Yousefi, M., Shivazad, M., & Haqdoost, A. (2006). Treatment of fatty liver syndrome with bleeding with nutritional agents in laying hens. *Scientific-research Journal. Agricultural Science*, 113-120.
- Zein, S., Rachmawati, D., & Sijam, K. (2014). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of astaxanthin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta Medica Indonesiana*, 46(2), 109-117.
- Zhang, W., Kokotkiewicz, Z., & Ohaeri, O. C. (2015). Cholesterol-lowering effect of herbal tea. *Planta Medical*, 58(02), 124-127.
- Zhao, G., Lappas, M., & Rowe, R. K. (2004). The antioxidant and anti-atherosclerotic activities of astaxanthin. *Cardiovascular Drug Reviews*, 22(4), 277-298.