The Effect of Vitamin E and C Supplementation on Some Blood Parameters of Male Broiler Chickens Reared Under Cold Stress

تأثير إضافة فيتامين E و C على بعض المعايير الدمية لذكور فروج اللحم المربى تحت ظروف الإجهاد الحراري الواطئ

م. حسام حسين عليوي
المعهد التقني/ المسيب

المستخلص:

أجريت هذه التجربة قاعة الدواجن التابعة للمعهد التقني في المسيب للمدة من 2012/11/16 لغاية 2012/12/27 لمعرفة تأثير إضافة فيتامين E و C بصورة منفردة أو كلاهما معا على بعض الصفات الدمية لفروج اللحم المربى تحت ظروف الإجهاد الحراري الواطئ. تم استخدام 60 فرخاً من ذكور فروج اللحم نوع روس (Ross). وكان إعطاء العلف والماء بصورة حرة (*ad libitum*). وبعمر7 أيام وزعت عشوائيا بشكل متساوي إلى 4 معاملات وبثلاث مكررات لكل معاملة، غذيت المعاملة الأولى (معاملة السيطرة) على العلف الخالي من الإضافة، وأضيف فيتامين E بتركيز 150 وحدة دولية/كغم إلى علف المعاملة الثانية، وغذيت المعاملة الثالثة على علف مضافاً إليه فيتامين C بتركيز 150 ملغم/كغم علف، أما المعاملة الرابعة فقد غذيت على علف يحتوي على فيتامين E و C وبنفس التراكيز أعلاه. بعمر 8 أيام عرضت الأفراخ إلى إجهاد حراري بيئي واطئ بشكل يومي إلى نهاية التجربة بعمر 42 يوماً، اعتماداً على درجة الحرارة اليومية المتاحة إذ تنخفض في المساء لتتراوح مستوياتها مابين 9.3 مْ إلى 12.9 مْ، أما درجة الحرارة العظمى فتتراوح مابين 21.7 مْ إلى 23.9 مْ.

لم تظهر النتائج فرقاً معنوياً بين المعاملات في حجم مكداس الدم (PCV) وخضاب الدم (Hb)، ولوحظ انخفاض معدل دليل الخلايا المتغايرة إلى اللمفية (H/L ratio) بصورة معنوية لكل المعاملات مقارنة بالمعاملة الأولى ولا يوجد فرق معنوي بين المعاملة الثانية والثالثة، وبين الثالثة والرابعة في معدل هذا الدليل، كما انخفض سكر الدم بصورة معنوية للمعاملتين الثالثة والرابعة مقارنة بالمعاملتين الأولى والثانية، وكان لفيتامين E و C منفردين أو مع بعضهما دوراً مهما في خفض كولسترول الدم ولم يكن هناك فرق معنوي بين المعاملتين الثانية والثالثة في هذه الصفة.

كما أظهرت النتائج تفوق فروج المعاملة الثالثة والرابعة (معاملة فيتامين E ومعاملة فيتامين E+C على التوالي) معنويا في وزن الجسم النهائي مقارنة مع المعاملة الأولى والثانية (معاملة السيطرة ومعاملة فيتامين C على التوالي) ولم يكن هناك فرق معنوي بين المعاملة الثالثة والرابعة أو بين المعاملة الأولى والثانية.

اتضح من التجربة إن لفيتاميني E و C دوراً مهماً في تقليل آثار الإجهاد الحراري الواطئ على بعض صفات الدم و النمو للفروج وان لفيتامين E الدور الأكبر في ذلك.

Abstract

This experiment was conducted in poultry farm at Al-Musaib Technical Institute during the period from 16/11/2012 through 27/12/2012 to determine the effect of adding vitamin E and C individually or both together to ration on performance and some blood parameters in broiler chicken reared under low environmental temperature (cold stress). The trial included 60 one day old male Ross broiler chicks. Feed and water were provided *ad libitum*. At 7 days of age chicks were randomly allocated to 4 equal groups with 3 replications for each group. The first group (control group) were fed basal diet, vitamin E at a concentration of 150 IU / kg were added to the diet of the second group, and the third group fed on the diet contain vitamin C at a concentration of 150 mg / kg, while the fourth group ware fed on a diet contain vitamin E and C at the same concentrations as above. At 8 days of age chicks were exposed to low environmental stress (Cold stress) daily to the end of the experiment at 42 days of age, depending on the available daily temperature as it goes down in the evening to level varies between 9.3˚C to 12.9˚C, while the maximum temperature is between 21.7˚C to 23.9˚C.

Blood results did not show significant differences between the groups in the packed cell volume (PCV) and hemoglobin (Hb). There were significant differences between all groups in heterophil to lymphocyte (H/L) ratio compared with the first group, with no significant

difference between 2nd and 3rd groups and between 3rd and 4th groups in this ratio. Blood sugar had been declined significantly for the 3rd and 4th compared to the 1st and 2nd groups. There were significant role for vitamin E and C alone or both together in lowering blood cholesterol and there were no significant differences between second and third groups in this trait.

Results showed significant differences in chicken in Group 3 and 4 (vitamin E and vitamin E+C groups respectively) in the final body weight compared with 1st and 2nd groups (control and vitamin C groups respectively) and there were no significant differences between 3rd and 4th or between 1st and 2nd groups.

Experiment shows that vitamin E and C play an important role in reducing the effects of low thermal stress on some blood parameters and growth in chicken and the vitamin E had more important role in improving the performance of the chicken.

المقدمة:

تعاني حقول الطيور الداجنة في العراق من رداءة العزل الحراري بالإضافة إلى الانقطاع المستمر للتيار الكهربائي مما يؤدي إلى تعرض الفروج المربى في هذه الحقول شتاءاً إلى انخفاض درجات الحرارة مما يؤثر سلبا على النمو واستهلاك العلف والإصابة بالأمراض مثل الحبن (Ascitis) (4,3,2,1) وارتفاع نسبة الهلاكات ومعدل نسبة الخلايا المتغايرة إلى اللمفية (Heterophil/Lymphocyte (H/L) ratio) الذي يعد احد دلائل الإجهاد فقد لوحظ إن عوامل الإجهاد ومنها انخفاض درجات الحرارة يؤدي إلى ارتفاع مستوى الهرمون القشراني (Corticosterone hormone) في بلازما الدم والذي عند امتصاصه يؤدي إلى ارتفاع عدد الخلايا المتغايرة وانخفاض عدد الخلايا اللمفية (6,5). ولاحظ 8,7 إن انخفاض درجة الحرارة يؤدي إلى انخفاض فعالية الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل إنزيم Paraoxonase وزيادة مستوى كولسترول وسكر الدم.

لقد استخدمت العديد من الوسائل للتقليل من آثار الإجهاد في الطيور الداجنة منها الانتخاب الوراثي (10,9)، التكيف (11)، إعطاء بعض الفيتامينات، الأحماض الامينية، الأملاح أو المعادن (13,12) وغيرها. ومن المعروف إن لفيتاميني E وC دور مهم في التقليل من وطأة الإجهاد وتقليل الآثار السلبية للجذور الحرة (Free radicals) والتي تتكون داخل الجسم نتيجة العمليات الايضية بوجود الاوكسيجين إذ يساعدان الجهاز الدفاعي الأنزيمي بالسيطرة على الأضرار الناتجة من الجذور الحرة في الخلايا إذ يقوم فيتامين E بإزالة جذور البيروكسيل (Peroxyl radicals)بمنحها ذرة هيدروجين وتحويلها إلى بيروكسايد، أما الوظيفة الرئيسية لفيتامين C فهي كعامل مختزل (واهب للشحنات السالبة أو الالكترون) إذ يتفاعل بسرعة مع الجذور الحرة ويعمل بشكل تآزري مع فيتامين E مما يسهل إعادة تدويره في الأنظمة الحيوية (14). وجمع الباحث (15) العديد من البحوث التي تشير إلى دور فيتامين C في خفض الكولسترول والكليسيريدات الثلاثية للدم، ولاحظ الباحث (16) تحسن أداء فروج اللحم وزيادة المناعة الخلطية ضد عدد من المستضدات عند إضافة فيتامين E و C إلى العليقة. وتهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير فيتامين E و C على بعض الصفات الدمية ووزن الجسم النهائي لفروج اللحم المربى تحت ظروف الإجهاد الحراري الواطئ.

المواد وطرائق العمل:

أجريت التجربة في قاعة الدواجن التابعة للمعهد التقني في المسيب للمدة من 2012/11/16 لغاية 2012/12/27 تم استخدام 60 فرخاً من ذكور فروج اللحم نوع روس Ross. تم إعطاء العلف والماء بصورة حرة *ad libitum*. وبعمر7 أيام وزعت عشوائيا إلى 4 معاملات وبثلاث مكررات لكل معاملة (15 فرخاً لكل معاملة) وعوملت المعاملات كالآتي:

المعاملة الأولى: أعطيت العلف الخالي من الإضافة واعتبرت معاملة سيطرة.

المعاملة الثانية: أعطيت فيتامين C بتركيز150 وحدة دولية لكل كغم علف.

المعاملة الثالثة: أعطيت فيتامين E بتركيز 150 ملغم لكل كغم علف.

المعاملة الرابعة: أعطيت خليط مكون من فيتامين E+C مع العلف بنفس التركيزين أعلاه.

تم تسجيل درجات الحرارة العظمى والصغرى للقاعة يومياً باستخدام محرار الكتروني أوربي الصنع نوع Hanna instruments Thermo-Hygrometer HI وتم تسجيل درجة الحرارة الصغرى يومياً وأخذت معدلاتها الأسبوعية العظمى والصغرى. بعمر 8 أيام عُرضت الأفراخ للحرارة الواطئة وذلك برفع الحاضنات لتكون الأفراخ تحت تأثير درجات الحرارة البيئية المتاحة إذ تنخفض درجة الحرارة الصغرى وخاصة في الليل لتصل في بعض الأيام في اقل مستوياتها إلى 9.3مْ والعظمى 23.9مْ في أعلى مستوياتها (شكل رقم 1)

بعمر 42 يوما تم سحب 4 مل من الدم من القلب مباشرة لجميع الطيور وقسم الدم في أنابيب اختبار حاوية على مضاد التخثر EDTA وأخرى لاتحتوي على مضاد التخثر لأخذ بلازما الدم لإجراء الفحوصات والتي تضمنت فحص سكر الدم (17)، الكولسترول الكلي (Total cholesterol) بالطريقة الإنزيمية وباستعمال جهاز المطياف الضوئي وعدة فحص (Kits) حسب تعليمات الشركة الاسبانية (S.L. Linear Chemical)، وقياس خضاب الدم حسب (18)، وحجم خلايا الدم المرصوصة حسب (19)، كما تم اخذ مسحات دموية مباشرة وصبغت بصبغة Wright stain (20) لإجراء العد التفريقي لخلايا الدم البيض (21) واستخراج نسبة الخلايا المتغايرة إلى اللمفية Heterophil/Lymphocyte (H/L) ratio (5). كما تم اخذ الوزن النهائي للفروج وعدد الهلاكات الكلي لكل معاملة في نهاية التجربة أي بعمر 42 يوماً.

تم تحليل النتائج إحصائيا بالبرنامج الإحصائي SPSS12 باستخدام One way ANOVA لبيان الفروقات المعنوية وتم مقارنة المتوسطات باختبار LSD (22).

النتائج والمناقشة:

أظهرت النتائج (جدول رقم 2) ارتفاع غير معنوي في خضاب الدم وحجم خلايا الدم المرصوصة لفروج المعاملة الرابعة وهذا قد يعود إلى إن فيتامين E و C لا يؤثران بشكل مباشر على تكوين خلايا الدم الحمراء وإنما لهما دور في تقليل الآثار السلبية للإجهاد (3)، كما إن الإجهاد الحراري الواطئ يؤدي إلى زيادة الحاجة إلى الأوكسجين (23) مما يؤدي إلى زيادة إنتاج خلايا الدم الحمراء وبالتالي ارتفاع معدل خضاب ومكداس الدم حتى في الفروج الغير معامل بالفيتامينين(24)، وأشار العديد من الباحثين (1,3,25,26) إلى زيادة مستوى خضاب ومكداس الدم للفروج المعرض لدرجات الحرارة المنخفضة نتيجة تكيفه على تلك الدرجات لذلك فقد يكون سبب عدم وجود فرق معنوي بين المعاملات في هذين المتغيرين هو تكيف الفروج على تلك الدرجات المنخفضة .

ويلاحظ من الجدول انخفاض معنوي في دليل الخلايا المتغايرة إلى اللمفية (H/L ratio) لكافة المعاملات مقارنة بمعاملة السيطرة مع فارق معنوي ($p<0.01$) بين المعاملة الثانية والرابعة و ($p<0.05$) بين الأولى والثانية ولا يوجد فرق معنوي بين المعاملات الثانية والثالثة أو الثالثة والرابعة وهذا يدل على إن لفيتاميني E و C دوراً مهماً في تقليل الآثار السلبية للإجهاد الحراري الواطئ وذلك بزيادة عدد الخلايا اللمفية مما أدى إلى خفض معدل هذا الدليل كما يتضح من النتائج إن للفيتامينين فعل تآزري في خفض معدل الدليل (28,27,16,9).

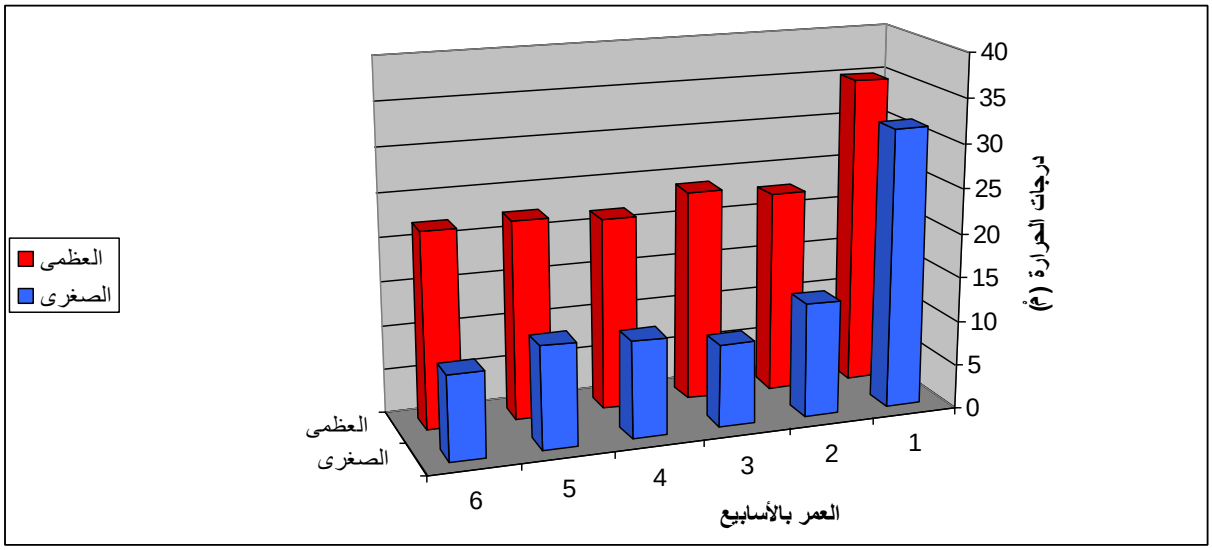
كما أشارت النتائج إلى انخفاض سكر الدم لجميع المعاملات وكان الانخفاض معنوياً للمعاملتين الثالثة والرابعة مقارنة بالمعاملتين الأولى والثانية، إذ تؤدي عوامل الإجهاد إلى زيادة إفراز الهرمونات القشرية السكرية (Glucocorticoids) وهي الكورتيزول والكورتيكوستيرون (cortisol and corticosterone) والتي تعمل على زيادة نسبة سكر الدم وذلك بتكسير أو تحويل البروتين والكلايكوجين والدهون المخزون في الجسم لإنتاج الطاقة (29). إن انخفاض مستوى سكر الدم قد يعود إلى التأثير المضاد للإجهاد لفيتامين E بمفرده أو مع فيتامين C مما أدى إلى انخفاض مستويات الهرمونات القشرية السكرية في دم الفروج المعامل بالفيتامين وإلى انخفاض فعالية هدم البروتين والكلايكوجين والدهن المخزون في الجسم لغرض استحداث السكر مما يؤدي إلى انخفاض كلوكوز الدم (30). ولفيتامين E دور مهم في منع أكسدة مختلف المواد سهلة التأكسد في الجسم وبذلك يحمي الأنظمة الحيوية للجسم ومنها الكبد المعرفة اهميته في انتاج الانزيمات والعمليات الايضية. كما يعمل فيتامين E كخط دفاعي للحفاظ على الجسم من التأثيرات الضارة للجذور الحرة مثل البيروكسيدز (Peroxides) و سوبر بيروكسيدز (Super peroxides) وبذلك يحمي أغشية الخلايا وخاصة أحماضها الدهنية غير المشبعة من التأثيرات الضارة للأكسدة مثل تلف الخلايا أو تحولها إلى خلايا غير سوية (31) كما يقلل من إفراز الهرمون القشري السكري وبالتالي خفض مستوى الكلوكوز في الدم (32). وقد لاحظ الباحث (33) وجود علاقة خطية موجبة بين تركيز فيتامين E في الجسم وأيض سكر الكلوكوز واقترح إن ذلك قد يعود لدور الفيتامين في تحفيز إنزيم (Glutathione) وزيادة تركيز المغنيسيوم (Mg) داخل الخلايا وبالتالي تنظيم الأيض الخلوي وخاصة بالنسبة لأيض الكلوكوز الذي يلعب المغنيسيوم فيه دوراً رئيسياً بتفعيل هرمون الأنسولين ومن ذلك نلاحظ إن لفيتامين E دوراً اكبر في خفض سكر الدم من فيتامين C وهذا يتطابق مع نتائج التجربة.

كما كان لفيتامين E و C منفردين أو مع بعضهما دوراً مهما في خفض كولسترول الدم بصورة معنوية ($p<0.01$) بين المعاملتين الثالثة والرابعة مقارنة بالمعاملة الأولى، و $p<0.05$ بين المعاملة الثانية والأولى. لقد لاحظ (8,7) عند تعرض الفروج إلى درجات حرارة واطئة أدى إلى انخفاض فعالية الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل إنزيم (Paraoxonase) وزيادة مستوى كولسترول الدم، ووجد الباحثون (35,34,15) إن إعطاء فيتامين C مع أو بدون حامض الفولك وكذلك إعطاء فيتامين E مع أو بدون فيتامين C أدى إلى خفض مستوى كولسترول الدم والكليسيريدات الثلاثية في طيور السمان في ظروف الإجهاد الحراري العالي. وهذا يدل على دور فيتامين E و C في خفض كولسترول الدم.

كما أظهرت النتائج تفوق فروج المعاملة الثالثة والرابعة معنويا ($p<0.01$) في وزن الجسم النهائي مقارنة مع المعاملة الأولى والثانية ولم يكن هناك فرق معنوي بين المعاملة الثالثة والرابعة وهذا يدل على إن لفيتامين E التأثير الرئيسي على وزن الجسم مقارنة بفيتامين C الذي أدت إضافته إلى تحسين وزن الجسم ولكن ليس بصورة معنوية وربما يعود ذلك إلى مقدرة الفروج على تصنيع فيتامين C من الكلية (36) أو قد يعود إلى قابلية الفروج على التكيف مع درجات الحرارة المنخفضة (11). وكانت نسبة الهلاكات الكلية هي 20%، 6.66%، 13.3%، 6.66% لمعاملات السيطرة، فيتامين C، E، ومعاملة E+Cعلى التوالي والتي كانت بسبب الإصابة بالالتهابات التنفسية والتي تم تشخيصها من ملاحظة الأعراض المرضية وإجراء الصفة التشريحية، وعلى الرغم من عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات في نسبة الهلاكات إلا إن الأفراخ المعالجة بالفيتامين حققت اقل نسبة من الهلاكات مما يدل على دور الفيتامينين في مقاومة الإجهاد وزيادة المناعة ضد الأمراض وبالتالي تقليل نسبة الهلاكات (29,28).

نستنتج من التجربة إن لفيتاميني E و C دوراً مهماً تقليل آثار الإجهاد الحراري الواطئ على بعض صفات الدم للفروج وعلى الوزن النهائي وان لفيتامين E الدور الأكبر في ذلك.

شكل -1- يوضح معدلات درجات الحرارة العظمى والصغرى خلال الأسابيع من الأول إلى السادس



جدول-1- نسب مكونات العليقة المستخدمة في التغذية .

المادة العلفية *	النسبة المئوية (%)
الذرة الصفراء	58.5
كسبة فول الصويا (بروتين خام 44%)	25.2
المركز البروتيني **	10
الحنطة	6
ملح الطعام (Nacl)	0.3
البروتين الخام	22.5
الطاقة الممثلة (كيلو سعره / كغم علف)	2938
نسبة الطاقة للبروتين	130.5

* حسبت قيم العناصر الغذائية لكل مادة علفية حسب (37).
** المركزالبروتيني / شركة بروفيمي – أردني المنشأ يحتوي 40 % بروتين , 2200 كيلوسعره طاقة ممثلة , 6 % دهون , 3.5 % ألياف , 3 % فسفور متاح , 5.6% كالسيوم ، 2.75 % لايسين , 1.8 % مثيونين ، 2.3 % سستين، 2 % كلوريد ، 1.2 % صوديوم.

جدول -2- تأثير فيتامين C و E في بعض الصفات الدمية والوزن الحي ونسبة الهلاكات لفروج التجربة

المعاملات / الصفات	السيطرة	فيتامين C 150ملغم/كغم علف	فيتامين E 150وحدة دولية/كغم علف	فيتامين E + C 150ملغم/كغم علف+150وحدة دولية/كغم علف
وزن الجسم (غم)	316.1±1372.3 a	10.72 ±1383.53 a	11.88 ± 1480.87** bc	11.31 ± 1498.73** c
خضاب الدم (غم/100مل)	0.16 ± 9.1 a	0.19 ± 9.29 a	0.14 ± 9.11 a	0.01 ± 9.55 a
حجم خلايا المرصوصة (%)	0.47 ± 30.53 a	0.35 ± 30.4 a	0.35 ± 30.6 a	0.61 ± 31.0 a
نسبة الخلايا المتغايرة/اللمفية	0.01 ± 0.35 a	0.01 ±0.30* bb	0.01 ± 0.27** bc	0.01 ± 0.24** cd
سكرالدم (ملغم/100مل)	1.55 ± 265.13 a	1.35 ± 261.93 a	1.88 ± 236.93** b	1.03 ± 235.2** bc
كولسترول (ملغم/100مل)	0.31 ± 203.4 a	0.87 ±196.47* bc	3.17 ±193.4** c	2.52 ± 186** d
نسبة الهلاكات%	20 a	6.66 a	13.3 a	6.66 a

- القيم تمثل المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي
- الأحرف المختلفة أفقياً تدل على وجود فرق معنوي.
- N.S. تعني عدم وجود فرق معنوي.

*الفرق معنوي عند مستوى احتمال 0.05 ** الفرق معنوي عند مستوى احتمال 0.01

References

1. Wideman, R. F., Jr., T. Wing, Y. K. Kirby, M. F. Forman, N. Marson, C. D. Tackett and C. A. Ruiz-Feria. 1998. Evaluation of minimally invasive indices for predicting ascites susceptibility in three successive hatches of broilers exposed to cool temperatures. Poult. Sci. 77:1565-1573.
2. Shlosberg, A., G. Pano, J. Handji and E. Berman. 1992. Prophylactic and therapeutic treatment of ascites in broiler chickens. Br. Poult. Sci. 33:141-148.
3. Yahav, S., A. Straschnow, I. Plavnik and S. Hurwitz. 1997. Blood system response of chickens to changes in environmental temperature. Poult. Sci. 76:627-633.
4. Ipek, A, and U. Sahan. 2006 Effects of cold Stress on broiler performance and ascites susceptibility. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2006. Vol 19, No. 5: 734-738
5. Gross, W. B., and H.S. Siegel. 1983. Evaluation of the Heterophil/Lymphocyte Ratio as a Measure of Stress in Chickens. Avian Dis. 27(4): 972-979. *www.ivsl.org*
6. Brown, K.I., and K.E. Nestor. 1973. Some physiological responses of turkeys selected for high and low adrenal response to cold stress. Poult. Sci. 52(5):1948-1954.
7. Donkoh A. 1989. Ambient temperature: a factor effecting on performance and physiological response of broiler chickens. Int J Biometeorol, 33:259–265.
8. Gumuslu, S., A.Y. Gocmen, S.B. Sary´kcioglu. 2002. Paraoxonase (PON1) activity in serum of rats stressed by cold: effects of vitamin E supplementation. 17. National Biochemistry Congress, P-74; 302, 24–27.
9. Al-Murrani, W.K., A. Kassab, H.Z.Al-Samand, and A.M.M.K.Al-Athari. (1997). Heterophil /Lymphocyte ratio as a Criterion for heat resistance in domestic fowls. Brit. Poult. Sci. 38:159 – 163.
10. Xingyong, C., R. Jiang, Z. Geng. 2012. Cold stress in broiler: global gene expression analyses suggest a major role of CYP genes in cold responses. Mol. Biol. Rep. 39:425–429. *www.ivsl.org*
11. Mehmet Y., E. Sengor, E. Hesna, U. Baram, Ü. Sadi, L. Etüng. 2006. The Influence of Cold Conditioning on the Performance of the Broiler Chicken. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 30:583-588.
12. Ruiz-Feria, C. A. 2009. Concurrent supplementation of arginine, vitamin E, and vitamin C improve cardiopulmonary performance in broilers chickens. Poult. Sci. 88:(3)526-535.

13. Gursu, M.F. , M. Ondercib, F. Gulcua, K, Sahinc. 2004. Effects of vitamin C and folic acid supplementation on serum paraoxonase activity and metabolites induced by heat stress in vivo. Nutrition Research 24:157–164.
14. Araujo, J.M. (2006) Química de Alimentos: Teoria e Prática, 3rd edition. Viçosa: Editora UFV, p478 (Cited by Rocha *et al* (2010).
15. Harri H. 1992. Vitamin C and Plasma Cholesterol Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 32(l):33-57.
16. Hesabi A., H.N. Moghaddam, J.T. Afshari, and H. Kermanshahi. 2007. Effect of vitamin E and C supplementation on performance and immune response of broiler chicks. Journal of animal and veterinary advances. 6(9): 1060 – 1069.
17. Asatoor, A.M. and E.J. king. 1954. Simplified colorimetric blood sugar method. Biochem. J. 56: 44 – 46.
18. Varley, H., A. H. Gowenlock and M. Bell. 1983. Practical clinical biochemistry. 5th ed. William Heinemann Medical Books LTD., London.
19. Archer, R. K. (1965). Hematological Techniques for use on Animals. Black Well Scientific Publications, Oxford.
20. Shen, P.F. and L.T.Patterson. 1983. A simplified Wright stain technique for routine avian blood smear staining. Poultry Sci. 62:923-924.
21. Burton, R. R. and C. W. Guion. (1968). The differential leukocyte blood count. Its precision and individually in the chicken. Poultry Sci. 47:1945-1949.
22. SPSS for Windows Manual by Roger Peck , 6th edition.
23. Julian, R. J., I. McMillan and M. Aquinton. 1989. The effect of cold and dietary energy on right ventricular hypertrophy, right ventricular failure and ascites in meat type chickens. Avian Pathol. 18:675-684.
24. Shlosberg, A., M. Bellaiche, E. Berman, S. Perk, N. Deeb, E. Neumark and A. Cahaner. 1998. Relationship between broiler chicken hematocrit-selected parents and their progeny, with regard to hematocrit, mortality from ascites and body weight. Res. Vet. Sci. 64:105-109.
25. Shlosberg, A., M. Bellaiche, V. Hanji, A. Nyska, M. Lubln, M. Shemesh, L. Shore, S. Perk and E. Berman. 1996. The effect of acetylsalicylic acid and cold stress on the susceptibility of broilers to the ascites syndrome. Avian Pathol. 25:581-590.
26. Vogelaere, P., G. Savourey, G. Daklunder, J. Lecroart, M. Brasseur, S. Bekaert and J. Bittel. 1992. Reversal of cold induced haemoconcentration. European J. Appl. Physiol. 64:244-249.
27. Sharonda, M. M. 2004. The Effect of social stress and vitamin C on Immunity and Response to Vaccination with Hemorrhagic Enteritis Virus in turkeys dissertation submitted to the faculty of Virginia Polytechnic Institute & State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Veterinary Medical Sciences. *www.ivsl.org*
28. Puthpongsiriporn, U., S.E. Scheideler, J. L.Sell, and M. M. Beck. 2001. Effects of vitamin E and C supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. Poultry Science 80:1190–1200.
29. Baines, B.S., 1996. The role of vitamin C in Stress Management. World Poultry Sci. 12(4):38-41.
30- Kazim, S., N. Sahin and S. Yaralioglu. 2002. Effect of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation, blood serum metabolites, and mineral concentration of laying hens reared at high ambient temperature. Biological Trace Element Research. 85:35 – 45.
31- Shlig,A.A.(2009). Effect of vitamin E and selenium supplement in reducing aflatoxicosis on performance and blood parameters in broiler chicks. Iraqi Journal of Veterinary Sci.23: 97 – 103.
32. Coles, E.H.1986. Veterinary Clinical Pathology. W. Bsaunders. 4th. Ed. P.P. 279 – 301.
33- Paolisso G., and M. Barbagallo. (1997). Hypertension, diabetes mellitus, and insulin resistance: the role of intracellular magnesium. A.m.J. Hypertens.10:346 – 355.
34. Sahin K, Kucuk O, Sahin N, Sari M. Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation status, some serum hormone, metabolite, and mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress (34°C). Int J Vitamin Nutr Res 2002;72:91–100.
35. Rocha J.S.R., L.J.C. Lara, N.C. Baino, R.J.C. V.M. Barbosa, M.A. Pompeu, and M.N.S. Fernandes. 2010. Antioxidant properties of vitamins in nutrition of broiler breeders and laying hens. World's Poultry Science Journal. 66: 261-270. *www.ivsl.org*
36. Roy, R.N., and B.C. Guha. 1958. Species difference in regard to the biosynthesis of ascorbic acid. Nature.182:(4631)319-320.
37. N.R.C. 1994.Nutrient Requirements of Poultry .9th rev. Ed . National Academy Press ,Washington ,DC .