فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۵، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۴۸-۳۹ (۱۳۸۸)

مقایسه اثر عصاره‌های آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، سرخارگل (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.)، سیر (*Allium sativum* L.) و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر جمعیت میکروفلور روده و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی

زریر تیموری‌زاده[۱]، شعبان رحیمی[۲*]، محمدامیر کریمی ترشیزی[۳] و رضا امیدبیگی[٤]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد پرورش و تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه پرورش و مدیریت تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس،
پست الکترونیک: Rahimi_S@Modares.ac.ir
۳- استادیار، گروه پرورش و مدیریت تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
٤- استاد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۸۷ تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۷

چکیده

این مطالعه به منظور مقایسه اثر سه نوع عصاره گیاهی و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین به‌عنوان بهبود دهنده‌های رشد مورد استفاده در صنعت طیور، بر جمعیت میکروفلور روده و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شد. ٤٨٠ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه به گروههای جیره پایه (کنترل) و جیره پایه با ۱۵۰ppm آنتی‌بیوتیک، ۰/۱ درصد عصاره آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.)، سرخارگل (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.)، سیر (*Allium sativum* L.) و مخلوطی از عصاره‌ها با دوز مشابه تقسیم شدند. شمارش *E. coli* محتویات ایلئو- سکوم در گروه مخلوط عصاره‌ها به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. به هر حال، اختلاف معنی‌داری در شمارش *E. coli* در مخلوط عصاره‌ها و دیگر گروهها بجز گروه کنترل وجود نداشت. شمارش باکتریهای اسید لاکتیک در تیمار آویشن به‌طور معنی‌داری از دیگر گروهها بجز سرخارگل بیشتر بود. وزن بورس فابریسیوس در تیمار سیر افزایش معنی‌داری را در مقایسه با سایر گروهها نشان داد، اما وزن طحال تحت تأثیر قرار نگرفت. پاسخ به افزایش حساسیت بازوفیل‌های پوستی (تزریق فیتوهماگلوتنین) و همچنین عیار پادتن بر علیه گلبول قرمز گوسفند در دو دوره ۲۷ و ٤۲ روزگی در تیمار سرخارگل به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<0/05$). عیار پادتن بر علیه ویروس واکسن نیوکاسل در هر دو دوره ۳٦ و ٤۲ روزگی تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت، اما تیمار سرخارگل به‌طور غیر معنی‌داری عیار پادتن بر علیه این ویروس را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، سرخارگل (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.)، سیر (*Allium sativum* L.)، ویرجینیامایسین، میکروفلور، ایمنی.

مقدمه

ترکیبهای ضدباکتریایی نقش مهمی در بهبود تعادل میکروبی و فلور روده حیوانات دارند. با توجه به اینکه برخی از آنتی‌بیوتیکهای مورداستفاده در تولید طیور با مصرف درمانی انسانی مشترک هستند، امکان انتقال سویه‌های باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک از طریق محصولات طیور به انسان وجود دارد. این موضوع باعث می‌شود برخی آنتی‌بیوتیکهای درمانی در مورد انسان موثر واقع نشود و باقی‌ماندن آنتی‌بیوتیک در محصولات طیور، استفاده از این مکمل در جیره طیور را مورد تردید قرارداده است. گیاهان دارویی و عصاره‌های حاصل از آنها علاوه بر خواص ضد باکتریایی می‌توانند باعث رشد فلور مفید روده نیز شوند. افشار مازندران و همکاران (۱۳۸۰) گزارش کردند که استفاده از آنتی‌بیوتیکها موجب افزایش اندکی در pH محتویات روده شده و تولید اسیدهای چرب فرار را کاهش می‌دهند و در ضمن فلور بومی روده را نیز نابود می‌کنند و بدین‌ترتیب موجب افزایش حساسیت حیوان در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شوند. در صنعت طیور بهبود سیستم ایمنی به دلایلی مانند شکست واکسیناسیون، بیماریهای تضعیف کننده‌ی سیستم ایمنی و مصرف نادرست آنتی‌بیوتیکها، حائز اهمیت است. از سوی دیگر انتخاب طیور برای رشد سریعتر تا حدودی باعث کاهش پاسخ ایمنی در آنها می‌شود (Qureshi & Havenstein, 1994). بنابراین نیاز به استفاده از گیاهان دارویی مانند سرخارگل (*Echinacea purpurea*)، آویشن (*Thymus vulgaris* L.) و سیر (*Allium sativum*) که بتوانند هم سیستم ایمنی را تقویت نموده و هم اثر ضد میکروبی داشته باشند، احساس می‌شود. البته واکسنها خواص تحریک ایمنی دارند ولی به‌تنهایی برای حفاظت پرنده در مقابل عوامل بیماری‌زا کافی نیستند و در ضمن واکسنها خواص بهبود رشد ندارند. آویشن، سرخارگل و سیر از گیاهانی هستند که خواص ضد میکروبی و بهبود سیستم ایمنی دارند. گزارش کمی از کاربرد سرخارگل در دامپزشکی وجود دارد (O'Neill *et al*., 2002) و گزارش زیادی در مورد استفاده از آن در صنعت طیور ثبت نشده است (Allen, 2003).

Rees و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که عصاره سیر در موقع مهار باکتریها، قادر به تشخیص میکروفلور مفید و انتروباکترهای مضر است. برای دوزهای مشابه سیر، مهار *E. coli* ۱۰ برابر بیشتر از مهاری بود که در لاکتوباسیلوس کازئی دیده می‌شد. دقیقاً مشخص نیست که چرا مهار تمایزی رخ می‌دهد، اما ممکن است به علت اختلاف در ترکیب غشاهای باکتریایی و اختلاف در نفوذپذیری آنها نسبت به آلیسین باشد (Miron *et al*., 2000).

Wills (۱۹۵۶) گزارش کرد که عصاره سیر و آلیسین در مقابل تعدادی از انتروکوکوس‌های مقاوم به ونکومایسین، فعالیت باکتریواستاتیک نشان دادند. طبق گزارش Ferket و همکاران (۲۰۰۲) کاهش تعداد باکتریهای گرم مثبت فعال مانند لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم ممکن است حضور گونه‌های گرم منفی را در روده افزایش دهد. آنتی‌بیوتیکها در محیط دستگاه گوارش تعداد باکتریهای گرم مثبت را کاهش داده و در نتیجه باعث افزایش تعداد باکتریهای گرم منفی مانند *E. coli* می‌شوند. در آزمایشهای مختلف در بین گیاهان استفاده شده، اسانس گیاهان رزماری، مریم‌گلی و آویشن در مقابل سویه‌های *E. coli* بهترین اثر را از خود نشان دادند (Smith-Palmer *et al*., 1998؛ Hammer *et al*., 1999).

گیاهان غنی از فلاوونوییدها و ترکیبهای ترپنی مانند شیرین‌بیان، مریم‌گلی و آویشن با افزایش فعالیت ویتامین C و با اثر ضد باکتریایی خود موجب تقویت سیستم ایمنی در حیوانات می‌شوند (Samman & Cook, 1996).

پلی‌استیلن‌ها از ریشه گیاه سرخارگل در مقابل *E. coli* فعالیت باکتریواستاتیک نشان می‌دهند (Schulte *et al*., 1967). ترکیبهای دارویی فعال سرخارگل شامل پلی‌ساکاریدها، گلیکوپروتئینها و مشتقات اسید کافئیک (اسید شیکوریک) و آلکامیدها، توانایی تعدیل و بهبود سیستم ایمنی را دارند (Bauer, 1996 ؛Hobbes, 1989).

بنابراین، خیلی از این ترکیبها فعالیت ماکروفاژها را تقویت می‌کنند (Stimple *et al*., 1984؛ Goel *et al*., 2002). برای مثال ترکیبهای پلی‌گلیکان که به‌طور غیراختصاصی فعالیت فاگوسیتها را تحریک می‌کنند، می‌توانند رشد کاندیدا آلبیکنس و لیستریا مونوسیتوژنز را در موشها مهار کنند (Roesler *et al*., 1991). در این تحقیق بررسی مقایسه اثر سه نوع عصاره گیاهی و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین به‌عنوان بهبود دهنده‌های رشد، بر جمعیت میکروفلور روده و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی سویه راس مورد آزمایش قرار گرفت.

مواد و روشها

این بررسی تجربی در مرغداری تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. تعداد ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نر از سویه تجاری راس ۳۰۸ براساس طرح آزمایشی کاملاً تصادفی به شش تیمار تقسیم شدند که هر تیمار ٤ تکرار و هر تکرار مشتمل بر ۲۰ قطعه جوجه بود. جوجه‌های یک تیمار به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شده و با جیره غذایی پایه (فاقد هر گونه محرک رشد، آنتی‌بیوتیک، داروی ضد کوکسیدیوز) تغذیه شدند. برای تیمارهای یک تا چهار عصاره‌های آویشن، سرخارگل، سیر و مخلوطی از عصاره‌ها با دوز ۰/۱ درصد مورد استفاده قرار گرفتند. در تیمار پنجم آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین با دوز ۱۵۰ppm به جیره غذایی اضافه و تیمار شاهد تیمار ششم در نظر گرفته شد. عصاره‌های فوق از شرکت دارویی زردبند در تهران خریداری شده و با رعایت کلیه دستورالعملهای این شرکت مصرف شدند.

تعیین میکروفلور روده

در سن ۳۸ روزگی یک پرنده از هر تکرار (٤ پرنده از هر تیمار) به‌طور تصادفی انتخاب و پس از کشتار به روش قطع نخاع، ۱ گرم مواد دفعی از محل ایلئو-سکوم آنها برداشته شد. برای تعیین CFU (Colony forming units) از روش شمارش قطره‌ای در محلول استریل PBS استفاده شد. یک گرم مدفوع تازه به ۹ml بافر PBS اضافه شد. بعد سری‌های رقت تهیه شد. شمارش باکتریهای اسید لاکتیک در محیط کشت MRS آگار و شمارش *E. coli* در محیط کشت Mac Conkey آگار بعد از انکوبه کردن هوازی در دمای ۳۷C° به مدت ٢٤ ساعت انجام شد.

آزمایش سیستم ایمنی

در سن ٤٢ روزگی دو پرنده از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب شدند. برای تعیین پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتنین از روش Corrier و Deloach (۱۹۹۰) استفاده شد. ابتدا پای راست پرنده با اتانول ۷۰ درصد تمیز شده و بعد ضخامت میان انگشت سوم و چهارم پنجه پا با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. ۰/۱ میلی‌لیتر محلول فیتوهماگلوتنین داخل پوست تزریق شد. بعد از ٢٤ ساعت محل تزریق دوباره

اندازه‌گیری و پاسخ به افزایش حساسیت بازوفیل‌های پوستی به‌وسیله اختلاف ضخامت پوست، قبل و ۲۴ ساعت بعد از تزریق تعیین شد.

همچنین در سن ۴۱ روزگی دو پرنده از هر تکرار انتخاب و وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال تعیین شد. تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر گلبول قرمز گوسفند ۵ درصد در بافر فسفات، در روزهای ۲۱ و ۳۵ در عضله سینه انجام و ۶ روز بعد از آن یعنی در روزهای ۲۷ و ۴۱ روزگی، از جوجه‌ها خون‌گیری شد و بعد نمونه‌های سرم برای تعیین عیار پادتن جدا شدند. برای تعیین عیار پادتن تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند از روش هماگلوتیناسیون میکروتیتر استفاده شد (Peterson *et al*., 1999).

واکسن نیوکاسل (لاسوتا) در سن ۲۳ روزگی از طریق آب آشامیدنی به جوجه‌ها داده شد و دو هفته بعد از آن و در آخر دوره یعنی در روزهای ۳۶ و ۴۲ روزگی خون‌گیری انجام شد. عیار پادتن علیه ویروس واکسن نیوکاسل با روش HI تعیین شد (Fu & Liu, 1997). میانگین عیار سه پرنده از هر تکرار محاسبه شد. داده‌های آزمایش با استفاده از روش ANOVA آنالیز شد. مقایسه میانگینها با آزمون Duncan انجام شد.

نتایج

نتایج آزمایش در جدولهای ۱ و۲ نشان داده شده است. عیار پادتن علیه ویروس واکسن نیوکاسل در هر دو نوبت اول و دوم در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). ولی بیشترین عیار در نوبت اول مربوط به تیمار سرخارگل و در نوبت دوم مربوط به تیمار سیر بود. تیمار شاهد کمترین عیار پادتن علیه ویروس نیوکاسل را داشت (جدول ۱). عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند در هر دو نوبت اول و دوم در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱، P<۰/۰۵). تیمار سرخارگل بیشترین عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند را در هر دو نوبت داشت، اما این تیمار در نوبت اول با تیمارهای آویشن و سیر و در نوبت دوم با تیمار سیر اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. کمترین عیار پادتن در هر دو نوبت مربوط به تیمار شاهد بود، ولی این تیمار تفاوت معنی‌داری با تیمار ویرجینیامایسین نداشت.

کمترین تعداد کلونی *E. coli* در تیمار مخلوطی از عصاره‌ها مشاهد شد که تفاوت معنی‌داری با سایر عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین نداشت (جدول ۲)، اما نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری تعداد کلونی *E. coli* را کاهش داد (P<۰/۰۵). بیشترین تعداد کلونی باکتریهای اسید لاکتیک به‌ترتیب در تیمار سرخارگل و آویشن مشاهده شد. بین این دو تیمار با تیمار مخلوط عصاره‌ها و سیر نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵).

بیشترین پاسخ به افزایش حساسیت بازوفیل‌های پوستی (تزریق فیتوهماگلوتنین) در تیمار سرخارگل دیده شد (جدول ۲، P<۰/۰۵). تیمار مخلوط عصاره‌ها پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتنین بیشتری نسبت به سایر تیمارها بجز سرخارگل داشت. کمترین پاسخ در تیمار ویرجینیامایسین مشاهده شد.

بیشترین درصد وزن نسبی بورس فابریسیوس در تیمار سیر دیده شد (P<۰/۰۵). در بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری از نظر درصد وزن نسبی بورس دیده نشد، ولی کمترین آن مربوط به تیمار ویرجینیامایسین بود (جدول ۲).

درصد وزن نسبی طحال در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، ولی بیشترین درصد وزن نسبی طحال در تیمار سیر دیده شد (جدول ۲، P>۰/۰۵).

جدول ۱- اثر افزودن ویرجینیامایسین و سه نوع عصاره گیاهی به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی بر عیار پادتن تولید شده علیه ویروس واکسن نیوکاسل و گلبول قرمز گوسفند*

تیمار	عیار پادتن علیه ویروس واکسن نیوکاسل		عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند	
	نوبت اول	نوبت دوم	نوبت اول	نوبت دوم
آویشن	۳/۰۲	۲/۴۰	۴/۰۰abc	۶/۷۵b
سرخارگل	۳/۲۰	۲/۵۷	۵/۰۰a	۸/۲۵a
سیر	۲/۹۲	۲/۶۰	۴/۷۵ab	۷/۵۰ab
مخلوط عصاره‌ها	۲/۹۷	۲/۴۰	۳/۷۵bc	۷/۰۰b
شاهد	۲/۸۲	۲/۰۷	۳/۲۰c	۶/۵۰b
ویرجینیامایسین	۳/۱۷	۲/۱۲	۳/۷۵bc	۶/۷۵b
SEM	۰/۰۸۸	۰/۰۸۸	۰/۱۸۹	۰/۱۹۸

*، در هر ستون میانگینهای با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

SEM= میانگین خطای استاندارد

جدول ۲- اثر افزودن ویرجینیامایسین و سه نوع عصاره گیاهی به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی بر وزن نسبی اندامهای ایمنی، افزایش ضخامت پوست (پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتنین) و جمعیت میکروفلور روده

تیمار	وزن نسبی اندامهای ایمنی* (گرم/۱۰۰ گرم وزن بدن)		پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتنین (mm)	*E. coli* (log CFU/g)	Lactic acid bacteria (log CFU/g)
	بورس فابریسیوس	طحال			
آویشن	۰/۲۰^{b}	۰/۱۲۵	۰/۵۳^{bc}	۴/۴۰^{b}	۵/۹۵^{a}
سرخارگل	۰/۲۰^{b}	۰/۰۹۹	۰/۸۰^{a}	۴/۸۲^{b}	۶/۲۰^{a}
سیر	۰/۲۷^{a}	۰/۱۳۳	۰/۵۸^{bc}	۵/۲۰^{b}	۵/۴۷^{ab}
مخلوط عصاره‌ها	۰/۲۱^{b}	۰/۱۲۹	۰/۷۴^{ab}	۴/۳۲^{b}	۵/۸۲^{a}
شاهد	۰/۲۲^{b}	۰/۱۱۳	۰/۵۳^{bc}	۷/۱۰^{a}	۴/۵۲^{c}
ویرجینیامایسین	۰/۱۹^{b}	۰/۱۱۳	۰/۴۳^{c}	۴/۴۲^{b}	۴/۹۲^{bc}
SEM	۰/۰۰۷	۰/۰۰۶	۰/۰۴۳	۰/۲۴۸	۰/۱۴۹

*، (گرم در ۱۰۰ گرم وزن بدن). در هر ستون میانگینهای با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

SEM= میانگین خطای استاندارد

بحث

این تحقیق نشان داد که تیمارهای دریافت‌کننده آویشن، سرخارگل، سیر، مخلوط عصاره‌ها و آنتی‌بیوتیک کمترین شمارش *E. coli* را داشته‌اند. در مطالعات Jang و همکاران (۲۰۰۶) شمارش اشرشیاکلی در مواد هضمی ایلئو-سکوم گروههایی که آنتی‌بیوتیک مصرف کرده بودند به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود. هیچ اختلافی در شمارش اشرشیاکلی بین گروههای آنتی‌بیوتیک و اسانسهای فرار (در دو سطح ۲۵ppm و ۵۰ppm) نبود. در همین مطالعات شمارش لاکتوباسیلوس به‌وسیله مکمل جیره اسانسهای گیاهی و آنتی‌بیوتیک تحت تأثیر قرار نگرفت. به‌طور کلی افزودن اسانسهای فرار باعث کاهش معنی‌دار جمعیت *E. coli* محتویات ایلئو-سکوم شد. در مطالعه‌ای با استفاده از ۰/۱ و ۰/۵ و ۱ درصد مکمل آویشن در جیره مرغهای تخم‌گذار، گروه کنترل و گروه ۱ درصد آویشن، بالاترین شمارش *E. coli* را در مدفوع نشان دادند. گروه ۰/۱ درصد آویشن، کمترین شمارش *E. coli* را داشت (Canan Bolukasi & Kuddusi Erhan, 2006).

آویشن تعداد کلی فرم‌ها را در مدفوع مرغها کاهش می‌دهد (Cross *et al*., 2002). افزایش شمارش باکتریهای اسید لاکتیک در تیمار آویشن و سرخارگل می‌تواند به دلیل اثر ضدباکتریایی این دو گیاه باشد. عصاره‌های گیاهی رشد فلور مفید روده را تحریک کرده و در نتیجه حضور باکتریهای گرم منفی مانند *E. coli* را کاهش می‌دهند. پلی ساکاریدها (از اجزای تشکیل‌دهنده عصاره سرخارگل) اثرهایی شبیه پربیوتیکها داشته و باعث افزایش تولید اسید لاکتیک و در نتیجه افزایش تکثیر باکتریهای مفید در روده و کاهش حضور باکتریهای گرم منفی مانند *E. coli* می‌شوند (Savag *et al*., 1996). از ترکیبهای پلی‌ساکاریدی سرخارگل می‌توان به اکیناسئین، اکیناکوزید و آکینولون اشاره کرد.

Tschirch (۲۰۰۰) گزارش کرد که استفاده از کارواکرول (از مواد مؤثره آویشن) باعث تحریک رشد و تکثیر لاکتوباسیلوس‌ها می‌شود. در مطالعه Jamroz و همکاران (۲۰۰۵) استفاده از کارواکرول شمارش باکتریهای اسید لاکتیک را افزایش داد. با توجه به نقش باکتریهایی نظیر لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترها در بهبود سیستم ایمنی و همچنین نقش آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین در مهار باکتریهای گرم مثبت (نظیر لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترها) احتمال دارد کاهش سطوح پادتن سرم خون در گروه مصرف کننده آنتی‌بیوتیک بدلیل نقش ضد باکتریایی ویرجینامایسین علیه باکتریهای گرم مثبت باشد. همچنین گزارش شده که در هنگام استفاده آنتی‌بیوتیک در نتیجه کاهش بار میکروبی روده، تحریک ایمنی کاهش پیدا می‌کند. همان‌طور که اشاره شد عصاره‌های استفاده شده با مهار انتخابی خود رشد باکتریهای مفید را افزایش می‌دهند (Humprey *et al*., 2002).

آزمایش سیستم ایمنی نشان داد که عصاره سرخارگل و سیر بیشترین نقش را در بهبود سیستم ایمنی دارند. با توجه به نقش مهم سرخارگل در افزایش ترشح ماکروفاژها و لمفوسیت، بهبود پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتنین قابل انتظار بود (Stimple *et al*., 1984؛ Goel *et al*., 2002). در مطالعه‌ای تولید پادتن‌ها به‌خصوص IgG در موشهای تیمار شده با سرخارگل، بعد از چالش به‌وسیله پادتن‌ها افزایش یافت. همچنین این گیاه با اثر ضد باکتریایی و ضد ویروسی که دارد، به‌طور غیرمستقیم سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشد (Rehman *et*

al., 1999). پلی‌ساکاریدهای گیاهی باعث بهبود ترشح پادتن‌ها می‌شوند (Nie & Zhang, 1999). اکیناسئین، اکیناکوزید و آکینولون از پلی‌ساکاریدهای تشکیل دهنده سرخارگل هستند. Schranner و همکاران (۱۹۸۹) اثر یک داروی مرکب حاوی *E. angustifolia* را بر سیستم ایمنی هومورالِ جوجه‌های سالم و جوجه‌های دارای نقص ایمنی بررسی کردند. داروی مرکب پارامترهای ایمنی هومورال را در هر دو گروه جوجه بهبود داد. تیمار سرخارگل بیشترین عیار پادتن علیه ویروس واکسن نیوکاسل را در نوبت اول داشت. Allen و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که با تغذیه پودر ریشه سرخارگل در مدت دو هفته اول پرورش جوجه‌های گوشتی، رشد بهبود می‌یابد و این گیاه تا حدود معینی از جوجه‌های چالش داده شده (چالش با واکسن زنده کوکسیدیوز) در مقابل افت وزن و گسترش جراحات روده‌ای جلوگیری می‌کند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که ممکن است مکمل سرخارگل پاسخ ایمنی به واکسن زنده را تقویت نموده و اثر تحریک ایمنی را در حضور جمعیت کوکسیدیای طبیعی موجود در بستر ایجاد کند. از سرخارگل در ارتباط با اشکال رایج ایمونوتراپی مانند واکسیناسیونها به منظور تقویت بیشتر پاسخ ایمنی استفاده شده است (Keith, *et al*., 2003). بیشتر بودن عیار در نوبت دوم می‌تواند به علت نقش مهم سیر در تقویت سیستم ایمنی باشد. Lau و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که ترکیبهای سولفوره سیر خاصیت تعدیل سیستم ایمنی دارند. عصاره سیر تکثیر لنفوسیتها و ماکروفاژها را در موشها افزایش می‌دهد. گزارش شده که گیاه چینی Achyranthan به‌طور معنی‌داری شاخص بورس فابریسیوس را در جوجه‌های گوشتی ۲۸ روزه افزایش داد (Chen *et al*., 2003). در تحقیقات صورت گرفته مشخص شده که گیاهان دارویی رشد اندامهای ایمنی را تحریک می‌کنند (Hevener *et al*., 1999؛ Takahashi *et al*., 2000).

با توجه به فراهم بودن شرایط رشد و گستردگی و تنوع گیاهان دارویی در ایران و توسعه این صنعت در کشور و از سوی دیگر گرایش جامعه جهانی و کشور به مصرف فراورده‌های دامی عاری از بقایای ترکیبهای شیمیایی، استفاده بیشتر از منابع گیاهی و ترکیبهای منابع طبیعی، تحقیقات گسترده‌تر به منظور بکارگیری این گیاهان یا فراورده‌های حاصل از آنها در زمینه پرورش دام و طیور، می‌تواند مفید واقع شود. هر چند عصاره‌های استفاده شده در این مطالعه توانستند فلور میکروبی و سیستم ایمنی را بهبود دهند، ولی لازم است جهت استفاده گسترده عصاره‌های یاد شده در صنعت مرغداری کشور تحقیقات بیشتری به‌خصوص در زمینه میزان استفاده و گیاهان مختلف انجام گیرد.

سپاسگزاری

از همکاری مدیریت محترم شرکت دارویی زردبند تهران و دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

- افشار مازندران، ن.، رجب، ا. و کیایی، م.، ۱۳۸۰. پروبیوتیک‌ها و کاربرد آنها در تغذیه دام و طیور. چاپ اول، انتشارات نوربخش، تهران، ۲۷۰ صفحه.
- Allen, P.C., 2003. Dietary supplemention with Echinacea and development of immunity to challenge infection with coccidian. Animal and Natural Resources Institute, 91:74-78.
- Bauer, R., 1996. Echinacea drugs, effects and active ingredients. Z. Aerztl. Fortbild (Jena), 90: 111-115.
- Canan Bolukbasi, S. and Kuddus Erhan, M., 2006.

- Jang, I.S., Ko, Y.H., Kang, S.Y. and Lee, C.Y., 2006. Effect of commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. Animal and Feed Science Technology, 134: 304-315.
- Keith., I., Block, M.D., Mark, N. and Mead, M.S., 2003. Immune system effects of Echinacea, Ginseng and Astragalus: A Review. Integrative Cancer Therapies, 2(3): 247-267.
- Lau, B.H., Yamasaki, T. and Gridley, D.S., 1991. Garlic compounds modulate macrophage and T-lymphocyte functions. Molecular Biothechnic, 3: 103-107.
- Miron, T., Rabinkov, A., Mirelman, D., Wilchek, H. and Weiner, L., 2000. The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipids membranes may contribute to its biologocal activity. Biochemistry and Biophysics, 1463: 20-30.
- Nie, W. and Zhang, Y.X., 1999. Progress of the immunomodulating effect of polysaccharides and their mechanism. Chinese Pharmacology Bulletin, 15: 3-5.
- O'Neill, W., Mc-Kee, S. and Clark, A.F., 2002. Immunological and haematinic consequences of feeding a standardized Echinacea (*Echinacea angustifolia*) extract to healthy horses, Equine. Journal Veterinary, 34: 222-227.
- Peterson, A.L., Qureshi, M.A., Ferket, P.R. and Fuller, J.C., 1999. Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of β-hydroxy- β-methylbutyrate. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 21(2): 307-330.
- Qureshi, M. and Havenstein, G.B., 1994. A comparison of the immune performance of 1991 commercial broiler with a broiler diets. Poultry Science, 73: 1805-1812.
- Rehman, J., Dillow, J.M., Carter, S.M., Chou, J. B., Le, B. and Maisel, A.S., 1999. Increased production of antigen-specific immunoglobulins G and M following in vivo treatment with the medicinal plants *Echinacea angustifolia* and *Hydrastis canadensis*. Immunology Letters, 68(12): 391-395.
- Ress, L.P., Minney, S.F., Plummer, N.T., Slater, J.H. and Skyrme, D.A., 1993. A quantitative assessment of the anti-microbial activity of garlic (*Allium sativum*). Journal Microbial Biotechnology, 9: 303-307.
- Roesler, J., Steinmuller, C. and Kinderlen, A., 1991. Application of purified polysaccharides from cell cultures of the plant *Echinacea purpurea* to mice mediates protection against systemic infections with *Listeria monocytogenes* and *Candida albicans*. International Journal of Immunopharmacology, 11(3): 27-38.
Effects of dietary Thyme (*Thymus vulgaris*) on laying hen performance and *Escherichia coli* (*E.coli*) concenteration in feces. Journal of Natural and Engineering Science, 1(2): 55-58.
- Chen, H., Li, D.F., Chang, B.Y. and Gong, L.M., 2003. Effects of Chinese herbal polysaccharides on the immunity and growth performance of young broiler. Poultry Science, 82: 364-370.
- Corrier, D.E. and Deloach, J.R., 1990. Evaluation of cell mediatted cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. Poultry Science, 69: 403-408.
- Cross, D.E., Svoboda, K., Hillman, K., Mcdevitt, R. and Acamovic, T., 2002. Effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil as an in vivo dietary supplement on chicken intestinal microflora. Proceedings of the 33rd International Symposium on Essential oils, Lisbon, Portugal. 3-7 September: page number.
- Ferket., P.R., Parks, C.W. and Grimes, J.L., 2002. Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. Multi-State Poultry Metting, 14-16 May: page number.
- Fu, X.Q. and Liu Z.J., 1997. Microhemagglutination inhibition (HI) test. 97, In: Fu, X.Q. and Liu, Z.J., (eds.), Handbook of Poultry Diseases Detection. China Agriculture University Press, Beijingm, China, Total pages.
- Goel, V., Chang, C., Slama, J.V., Barton, R., Bauer, R., Gahler, R. and Basu, T.K., 2002. Alkylimides of *Echinacea purpurea* stimulate alveolar macrophage function in normal rats. International Journal of Immunopharmacology, 2(3) :381-387.
- Hammer, K.A., Carson, C.F. and Riley, T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oil and other plants extracts. Journal of Applied Microbiology, 86: 985-990.
- Hevener, W., Routh, P.A. and Almond, G.W., 1999. Effects of immune challenge on concentrations of serum insulin-like growth factor-1 and growth performance in pigs. Journal of Canadian Veterinary, 40: 782-786.
- Hobbes, C., 1989. The Echinacea Handbook. In =351-359: Miovich, M., (ed.). Eclectic Medical, Portland, Ore, 387p.
- Humprey, B.D., Koutsos, E.A. and Klasing, K.C., 2002. Requirement and priorities of the immune system for nutrients. 69-77, In: Jacques, K.A. and Lyons, T.P. (Eds.). Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. Proceeding of Alltech's 18th Annual Symposium, Total pages.
- Jamroz, D., Williczkiewicz, A., Wertelecki, T., Orda, J. and Skorupinska, J., 2005. Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. British Poultry Science, 46(4): 458-493.

- Samman, S. and Cook, N.C., 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardio protective effects, and dietary sources. Journal of Nutrition Biochemistry, 7: 66-76.
- Savage, T.F., Cotter, P.F. and Zakrzewska, E.I., 1996. The effect of feeding mannan oligosaccharide on immunoglobulins, plasma IgG and bile IgI, of Wrolstad MW male turkeys. Poultry Science, 75: 143.
- Schranner, I., Würdinger, M., Klumpp, N., Lösch, U. and Okpanyi S.N., 1989. Beeinflussung der aviären humoralen Immunreaktionen durch Infuex und *Echinacea angustifolia* extrakt. Journal of Veterinary Medicinal, 36: 353-364.
- Schulte, K.E., Rucker, G. and Perlick, J., 1967. The presence of polyacetylene compounds in *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* DC. Arzneimittelforschung, 17: 825-829.
- Smith-Palmer., A. Stewart, J. and Fyfe, L., 1998. Antimicrobial properties of plant essential oil and essences against five important food-borne pathogens. Letters in Food Microbiology, 26: 118-122.
- Stimple, M., Proksch, A., Wagner, H. and Lohmann-Matthes, M.L., 1984. Macrophage activation and induction of macrophage cytoxicity by purified polysaccharide fractions from the plant *Echinacea purpurea*. Infection Immunology, 46: 845-849.
- Takahashi, K., Mashiko, T. and Akiba, Y., 2000. Effects of dietary concentration of xylitol on growth in male broiler chicks during immunological stress. Poultry Science, 79: 743-747.
- Tschirch, H., 2000. The use of natural plants extracts as production enhancers in modern animal rearing practices. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej Wroclaw, Zootechnika, XXV(376): 25-39.
- Wills, E., 1956. Enzyme inhibition by allicin, the active principle of garlic. Journal of Biochemistry, 63: 514-520.

The effects of *Thymus vulgaris* L., *Echinacea purpurea* (L.) Moench., *Allium sativum* L. extracts and virginiamycin antibiotic on intestinal microflora population and immune system in Broilers

Z. Teymouri Zadeh[1], SH. Rahimi[2*], M.A. Karimi Torshizi[1] and R. Omidbaigi[3]

1- Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2*- Corresponding author, Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, E-mail: Rahimi_S@Modares.ac.ir
3- Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: July 2008 Revised: November 2008 Accepted: January 2009

Abstract

The present study was designed to evaluate comparison of the effects on the intestinal microflora population and immune system of broilers of three commercial herbal extracts and virginiamycin antibiotic. A total four hundred and eighty 1-day old male broiler chicks were assigned to the basal diet (control) and basal diet supplemented with 150 ppm virginiamycin, 0.1% extract of thyme (*Thymus vulgaris* L.), coneflower (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.), garlic (*Allium sativum* L.) and blend of extracts with the same dose. The colony forming units of *Escherichia coli* in digesta of ileo-cecum in the blend group showed a significantly lower number compared with control group. However, there was no difference in *E. coli* counts between blend group and others except control. The lactic acid bacteria counts in the thyme group increased compared with other groups except coneflower ($p<0.05$). Relative weights of immune organs (spleen and bursa of Fabricious) as two immune indexes were compared among different groups. Relative weight of bursa of Fabricious in the Garlic group showed a significantly increase compared with other groups, but relative weight of spleen was unaffected by treatments. Cutaneous basophils hypersensitivity response (to phytohemagglutinin injection) and antibody responses to sheep red blood cells were higher in coneflower group ($p<0.05$). Antibody responses to Newcastle vaccine (Lasota) was unaffected by treatments but coneflower group improved antibody levels ($p>0.05$).

Key words: *Thymus vulgaris* L., *Echinacea purpurea* (L.) Moench., *Allium sativum* L., virginiamycin, microflora, immune.