نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۹۲، پاییز ۱۳۹۰

بررسی اثر چهار گیاه دارویی (نعناع، زیره سبز، بومادران، کلپوره) بر سیستم ایمنی و جمعیت باکتریایی ایلئوم جوجه های گوشتی

• **سید داود شریفی**
عضو هیئت علمی گروه علوم دام و طیور پردیس ابوریحان- دانشگاه تهران (نویسنده مسئول)
• **سعیده حسنی خورسندی**
دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دام و طیور پردیس ابوریحان- دانشگاه تهران
• **علی اکبر خادم**
عضو هیئت علمی گروه علوم دام و طیور پردیس ابوریحان- دانشگاه تهران
• **عبدالرضا صالحی**
عضو هیئت علمی گروه علوم دام و طیور پردیس ابوریحان- دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۹۰
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۳۰۲۵۲۷۲ -۰۲۹۲
Email: sdsharifi@ut.ac.ir

چکیده

تاثیر چهار گیاه دارویی دارای خاصیت ضد باکتریایی بر سیستم ایمنی و جمعیت باکتریایی ایلئوم جوجه های گوشتی با استفاده از ۳۳۶ قطعه جوجه نر یک روزه سویه تجاری راس در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار مطالعه شد. گیاهان دارویی زیره سبز، نعناع، بومادران و کلپوره به ترتیب در مقادیر ۱/۵، ۰/۳، ۰/۲، و ۰/۲ درصد به جیره اضافه شدند. دو جیره حاوی آنتی بیوتیک و بدون آنتی بیوتیک به ترتیب به عنوان شاهد مثبت و منفی در نظر گرفته شد. به منظور بررسی وضعیت سیستم ایمنی جوجه ها، در هفته پنجم دوره آزمایشی خونگیری انجام شد. در انتهای دوره پرورش سه قطعه جوجه از هر واحد آزمایشی انتخاب و بلافاصله پس از کشتار، از محتویات ایلئوم آنها نمونه برداری شد. اثر گیاهان دارویی مورد مطالعه بر میزان تیتر پادتن علیه ویروس نیوکاسل معنی دار نبود ولی میزان هتروفیل ها در پرندگانی که در جیره خود بومادران مصرف کردند افزایش معنی داری را نشان داد ($P<0/05$). جمعیت کلستریدیوم های موجود در ایلئوم جوجه های مربوط به تیمار نعناع نسبت به سایر تیمارهای گیاهان داروئی کمتر بود ($P<0/05$). جمعیت بیفیدوباکترها در ایلئوم جوجه هائی که جیره حاوی کلپوره و بومادران مصرف کردند کاهش یافت ($P<0/05$) ولی فراوانی آنها در تیمارهای شاهد بالاتر بود. نتایج این مطالعه نشان داد که گیاهان دارویی مورد مطالعه اثرات متفاوتی بر سیستم ایمنی و فلور میکروبی ایلئوم جوجه های گوشتی دارند و نعناع می تواند برای کنترل عفونت کلستریدیومی در دستگاه گوارش و بومادران برای تقویت سیستم ایمنی جوجه های گوشتی به کار رود.

کلمات کلیدی: جوجه گوشتی، فلور میکروبی، سیستم ایمنی، گیاهان دارویی

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 92 pp: 1-7

Effect of four medicinal plants with antibacterial property on immune system and ileal bacteria population of broilers

By: S. D. Sharifi, Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aboureihan, University of Tehran, Iran (Corresponding Author: Tel: +98262-3025272) S. Hasani Khorsandi, MS.c , Department of Animal and Poultry Science, College of Aboureihan, University of Tehran, Iran.A. A. Khadem, A. Salehi Associate Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aboureihan, University of Tehran, Iran

This experiment was conducted to investigate the effects of four medicinal plants with antibacterial property on immune system and ileum bacteria population of broiler chicks.A total 336 day-old male Ross broiler chicks were used in a CRD design with 6 treatments and 4 replicates per each treatment. Cuminum L, *Mentha piperita* L, Achillea L, *Teucrium polium* L, in levels of 1.5, 0.3, 0.2 and 0.2 percent, respectively. Two treatments with and without antibiotic were considered as control groups. At the fifth week of experimental period, two birds were bled for investigating the immune system activity. Also at the end of experiment, three birds from each pen were slaughtered to determine ileum bacteria population.Medicinal plants had no significant effects on the antibody titer against Newcastle disease virus, but heterophils increased significantly in birds fed diets containing Achillea L. ($P < 0.05$). Effect of antibiotic on enhancement of heterophils was significant. Also, the usage of medicinal plants particularly *Mentha piperita* L. diets significantly reduced clostridium concentration in ileum, ($P<0.05$). Diets containing Achillea L, and *Teucrium polium* L reduced bifidobacterium. But control and antibiotic treatment increased bifidobacterium. Results of this study have showed that various herbs have different effects on broiler system immune and ileal bacteria population. *Mentha piperita* L and Achillea L can be used to control clostridia infections in gastro intestinal tract and to support immune system in broiler chicks, respectivily.

Key words: Microflora, Medicinal plants, Immune system

مقدمه

گیاهان حاوی طیف وسیعی از ترکیبات فیتوشیمیایی با اثرات ضد میکروبی هستند که بسته به نوع و غلظت این ترکیبات ممکن است اثرات مفید و یا مضری بر حیوانات داشته باشند (۱، ۷، ۱۴، ۲۰). در سال های اخیر محدودیت استفاده از آنتی بیوتیک های محرک رشد در جیره های دام و طیور، باعث شده است که مطالعات گسترده‌ای برای یافتن جایگزین‌های مناسب طبیعی برای آنها انجام گیرد. با توجه به جایگاه گیاهان دارویی در پزشکی و دامپزشکی به نظر می رسد که استفاده از آنها و یا ترکیبات حاصل از آنها می تواند اثرات مثبتی بر سلامتی و عملکرد طیور داشته باشد. ترپن ها از ترکیبات اصلی گیاهان داروئی و اسانس ها بوده و اثرات ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند. نعناع، زیره سبز، بومادران و کلپوره از جمله گیاهان دارویی هستند که به دلیل دارا بودن اثرات درمانی متعدد در طب سنتی کاربرد زیادی دارند. Ankari و همکاران (۲۰۰۴)، با بررسی تاثیر نعناع را بر عملکرد جوجه های گوشتی، بیان کردند که افزودن ۱۵۰ گرم نعناع به هر کیلوگرم جیره، میانگین افزایش وزن بدن و افزایش وزن روزانه را به ترتیب ۱۵ تا ۱۶ درصد افزایش می دهد(۲). Cross و همکاران، (۲۰۰۷) گزارش کردند که روغن آویشن و گیاه بومادران تاثیر مثبتی بر عملکرد جوجه های گوشتی دارند(۸). Cowan (۱۹۹۹)، گزارش کرد که بومادران تاثیر ویروس ها و کرم ها را کاهش می دهد(۷).

مطالعات نشان داده است اسانس های موجود در نعناع دارای فعالیت ضد قارچی و همچنین ضد باکتریایی علیه ای *E.coli، Clostridium perfringens، Staphylococous aureus، Candida albicans* و استرپتوکوکوس می باشد (۱۷).

برگ گلرنگ حاوی ترکیبات تحریک کننده سیستم ایمنی بوده و اثرات ضد سرطانی دارد (۱۸). گلبرگ های گلرنگ حاوی پلی ساکارید هایی است که ماکروفاژها را در محیط *in vitro* فعال می کند (۴).

با توجه به اعمال محدودیت استفاده از آنتی بیوتیک های محرک رشد در جیره دام و طیور، از سوی سازمان های بهداشتی مطالعه روی گیاهان دارویی دارای خواص ضد میکروبی، ضروری به نظر می رسد. لذا این تحقیق به منظور بررسی تاثیر گیاهان دارویی نعناع، زیره سبز، بومادران و کلپوره بر سیستم ایمنی و همچنین جمعیت باکتری های موجود در دستگاه گوارش جوجه های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از تعداد ۳۳۶ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار استفاده شد. جوجه ها پس از ورود به سالن پرورش، در گروه های۱۴ قطعه ای توزین و به طور تصادفی در واحدهای آزمایشی توزیع شدند. جیره های آزمایشی بر پایه ذرت سویا و با توجه به نیازهای توصیه شدهNRC(۱۹۹۴) و با استفاده از نرم افزار UFFDA برای سه دوره آغازین (۱تا۱۴ روزگی)، رشد(۱۵

جدول ۱- ترکیب جیره های آزمایشی در دوره های آغازین، رشد و پایانی

شرح	دوره آغازین (۰تا ۱۴ روزگی)				دوره رشد (۱۵ تا ۲۸ روزگی)				دوره رشد (۱۵ تا ۲۸ روزگی)			
	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴
ذرت	۶۷/۰۷	۶۷/۰۷	۶۷/۰۷	۶۷/۰۷	۶۴	۶۵/۸۶	۶۶	۶۲/۸۸	۶۸/۵۸	۷۰	۷۰	۷۱/۶۱
روغن	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۳	۲/۳۶	۲/۳۱	۲/۰۷	۳	۲/۵	۲/۴۸	۲
کنجاله سویا	۳۰/۱۰	۳۰/۱۰	۳۰/۱۰	۳۰/۱۰	۲۸	۲۸	۲۸	۲۷/۵	۲۳/۹۷	۲۳/۸۲	۲۴	۲۳/۴۲
پودر ماهی	۲	۲	۲	۲	-	-	-	-	-	-	-	-
سنگ آهک	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۲۸	۱/۲۸	۱/۳۸	۱/۳۸	۱/۳۸	۱/۳۸	۱/۳	۱/۱۶	۱/۱۴	۱/۳۸
نمک	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۳۳	۰/۳۳	۰/۳۴	۰/۳	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۳۵	۰/۲۴
مکمل ویتامینی*	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی*	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۹	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۳	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۱
متیونین	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۱۵	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۱۲	۰/۱	۰/۱	۰/۰۳	۰/۱
لیزین	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	-	-	۰/۱	-	-	-	-
دی کلسیم فسفات	۱/۴۹	۱/۴۹	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲	۱/۲	۱/۲	۱/۲	۱/۰۲	۱/۲۵	۱/۳۰	۰/۹۱
گیاه دارویی**	۱/۵	۰/۳	۰/۲	-	۱/۵	۰/۳	۰/۲	-	۱/۵	۰/۳	۰/۲	-
اجزای محاسبه شده												
انرژی قابل متابولیسم	۳/۰۵	۳/۰۵	۳/۰۵	۳/۰۵	۳/۱	۳/۱	۳/۱	۳/۱	۳/۱۵	۳/۱۵	۳/۱۵	۳/۱۵
پروتئین خام	۲۱/۹۲	۲۱/۹۲	۲۱/۹۲	۲۱/۹۲	۱۹/۳۹	۱۹/۴۱	۱۹/۴۳	۱۹/۳۸	۱۷/۷۲	۱۷/۷۷	۱۷/۸۱	۱۷/۷۲
کلسیم	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۷۹
فسفر	۰/۴۳	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۴۳	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۶	۰/۳۱	۰/۳۶	۰/۳۷	۰/۳۷

• هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی ۴۴۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A ، ۷۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامینD، ۱۴۴۰۰میلی‌گرم ویتامین E، ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامینK، ۶۴۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۶۱۲ میلی گرم تیامین، ۳۰۰۰میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۴۸۹۶ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۱۶۰ میلی‌گرم نیاسین ، ۶۱۲ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۲۰۰۰ میلی‌گرم بیوتین و ۲۶۰ گرم کولین کلراید می باشد. **هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸گرم روی، ۱۰۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۶۴۰ میلی‌گرم ید، ۱۹۰ میلی‌گرم کبالت و ۸ گرم سلنیوم می‌باشد.

• جیره یک تا سه به ترتیب حاوی زیره سبز، جیره نعناع و بومادران(یا کلپوره- مقدار استفاده برابر بومادران) بود. جیره چهار به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که جهت تهیه شاهد منفی به آن ۴۰۰مقدار گرم در تن آنتی بیوتیک (فلاوومایسین) افزوده شد.

جدول ۲- برنامه واکسیناسیون جوجه های گوشتی در دوره پرورش

نوع واکسن	سن تجویز	روش واکسیناسیون
برونشیت HB	۱ روزگی	اسپری
نیوکاسل B_1	۵ روزگی	چشمی
آنفلوآنزا	۸ روزگی	ترزیقی
گامبورو	۱۲ روزگی	آشامیدنی
نیوکاسل لاسوتا	۱۸ روزگی	چشمی
گامبورو	۲۱ روزگی	آشامیدنی

تـا۲۸ روزگی) و پایانی (۲۹ تا ۴۲ روزگی) تنظیم شـدند (جدول ۱). در دوره پرورش برنامه واکسیناسـیون با توجه به توصیه دامپزشک اجرا شد (جدول ۲).

تیمارهـای آزمایشـی شـامل جیـره هـای حـاوی ۱/۵ درصـد زیـره سـبز (.Cuminum L)، ۰/۳ درصـد نعنـاع (.Mentha L)، ۰/۲ درصـد بومـادران (.Achillea L) و ۰/۲ درصـد (۴)کلپـوره (.*Teucrium Polium* L) بـود. گیاهان مزبور به صورت پودر تهیه و به به جیره اضافه شـدند. یک جیره حاوی آنتی بیوتیک(فلاوومایسین) به عنوان شـاهد مثبت و جیره ای فاقد آنتی بیوتیک به عنوان شاهد منفی، نیز در نظر گرفته شدند.

در طول دوره پرورش، جوجه های هر واحد آزمایشـی به صورت گروهی در اول و آخـر هر هفته توزین شـدند. در هفته پنجم آزمایش، به منظور بررسـی وضعیت سیسـتم ایمنی، یک جوجه از هر تکرار به طور تصادفی انتخـاب و از طریـق ورید بال از آنها خون گیری شـد. نمونه های خون، بـرای تعیین میزان گلبول های سـفید خون و تعیین تیتـر پادتن علیه ویروس نیوکاسـل به آزمایشـگاه ارسال شـد در انتهای دوره پرورش سه قطعه جوجه از هر واحد آزمایشی به طورتصادفی انتخاب و کشتار شدند. بلافاصله محوطه شـکمی باز شـد و یک قطعه ۱۵ سانتی متری از ایلئوم (بـا محتویـات) جدا و بعد از بسـتن دو انتهای آن با نـخ، داخل نایلون زیپ-کیپ و با اسـتفاده از فلاکس حاوی یخ، برای مطالعات میکروبی به آزمایشگاه ارسال شد.

تعـداد کل باکتری‌هـا، فراوانـی گونه‌هـای لاکتوباسـیل، کلی‌فرم‌هـا و کلسـتریدیوم‌ها در محتویات ایلئوم تعیین شـد. بـرای تعیین تعداد کل باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر نمونه مورد مطالعه از روشـی معروف به روش برید اسـتفاده شـد(۳). برای این منظور از لوله حاوی بافر که نمونه اولیه در آن حل شـده بود مقدار یک میلی‌لیتـر به داخل لوله درب‌دار دیگری منتقل و برای از بین‌بردن باکتری‌ها به آن چند قطره فرمالین اضافه شد. سپس مقدار ۰/۰۱ میلی‌لیتر از آن به روی لام مخصوص و بر روی سطحی به وسعت یک سـانتیمترمربع پخش شـد. لام در حرارت محیط خشک و نمونه‌ها با اسـتفاده از شـعله تثبیت گردیدند. سـپس چند قطره رنگ کریسـتال ویوله بر روی آن ریخته و پس از ۱۰ ثانیه با آب شسـته شـد. بعد از خشـک کردن لام، به کمک میکرسکپ تعداد باکتری‌ها در ۵ خانه شـمارش گردید و میانگین گرفته شـد. هر میدان میکرسکوپی یک پنج هزارم سـانتی‌متر مربع است بنابراین مشاهده هر باکتری نمایانگر ۵۰۰۰ باکتری در یک سـانتی‌متر مربع و به عبارت دیگر ۵۰۰/۰۰۰ باکتری در هر سانتی‌متر مکعب نمونه است(۵).

برای تعیین فراوانی لاکتوباسیل‌ها، کلستریدیوم‌ها و کلی‌فرم‌ها به ترتیب از محیط های کشت Rogosa Agar(merck, ۰۵۴۱۳)، Reinforced Colesteridium Agar(Merck, ۰۵۴۱۰) و (Salmonella-Shigella Agar Merck، ۷۶۶۷) استفاده شد. محیط‌های کشت مذکور پس از آماده شـدن به پتری دیش منتقل شدند. در مورد کلستریدیوم‌ها چون شـمارش کلنی‌ها از طریق کشـت نمونه اولیه میسـر نبـود، ابتدا نمونه های همراه بافر به مدت یک هفته در یخچال قرار داده شدند تا وارد مرحله هاگ شوند. سپس نمونه از یخچال خارج و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. این عمل برای اطمینان به از بین رفتن سایر باکتری‌های غیر هاگ زای موجود در نمونه ها انجام شد. سـپس برای شمارش به کشت هاگ ها آنها اقدام شد. برای تعیین تعداد باکتری ها از روش شـمارش کلنی استفاده شد. به همین منظور از نمونه اولیه به کمک بافر فسفات، ۱۳ سری رقت با ضریب رقیق سازی ۱۰، تهیه شد. از هر کدام از رقت‌ها ۲۰۰ میکرولیتر به هر کدام از محیط‌های کشت اختصاصی تلقیح شـد. برای ایجاد محیط بی هوازی، پس از کشت نمونه، مقداری از همان محیط کشـت به صورت لایه نازکی بر روی نمونه کشت شده اضافه شد. پلت‌ها پس از تلقیح، به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل شـدند. دوره انکوباسـیون تا زمان تشخیص کلنی های کامل ادامـه یافت. این زمان در مورد باکتری‌های مختلف مورد مطالعه بین ۲۴ تا ۹۶ سـاعت متغیر بود. پس از طی زمان انکوباسـیون تعداد کلنی‌ها بر روی پلیت های مربوط به رقت‌هایی که تعداد کلنی‌هایی بین ۳۰ تا ۳۰۰ عدد داشـتند، شمارش شدند. در نهایت با ضرب نمودن تعداد کلنی‌ها در ضریب رقت، تعداد باکتری‌ها محاسبه شد(۵).

در پایـان آزمایش، داده های حاصل با اسـتفاده از نرم افزار آماری SAS آنالیز و میانگین ها با اسـتفاده از آزمون چند دامنه دانکن با هم مقایسـه شدند.

نتایج

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر روی فراوانی گلبول های سفید و سلول های خونی در جدول ۲ نشان داده شده است. جیره های آزمایش تأثیر معنی داری بر فراوانی گلبول های سفید و ائوزینوفیل ها و لنفوسیت ها نداشتند. ولی اثر آنها بر روی فراوانی هتروفیل ها معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). به طوری که بالاترین میزان هتروفیل‌ها در جوجه های تغذیه شده با جیره های حاوی بومادران بود و از این جهت اختلاف معنی داری با جیره های حاوی نعناع و آنتی بیوتیک نداشت($p<۰/۰۵$). تاثیر آنتی بیوتیک ها بر روی میزان هتروفیل ها معنی دار بود ($p<۰/۰۵$).

تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی داری بر روی تیتر پادتن بیماری نیوکاسل نداشتند جدول۲ ولی داده ها نشان داد که بیشترین تیتر پادتن متعلق به تیمار حاوی نعناع، و کم ترین آن متعلق به تیمار کلپوره بود.

بسیاری از ترکیبات گیاهی مثل پلی ساکاریدها، آلکالوئیدها، تانن ها، فیتوکروم ها و برخی روغن های ضروری می توانند سیستم ایمنی را تحریک نموده و آن را فعال سازند. همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی بسیاری از ترکیبات گیاهی احتمالاً منجر به تقویت سیستم ایمنی سلولی و بروز اثرات ضد سرطان می شوند

گزارش شده است که مصرف مکمل های گیاهی می تواند منجر به بهبود ایمنی عمومی در به شکل افزایش تعداد لکوسیت ها، افزایش تعداد ماکروفاژها و تشدید فعالیت های آنزیمی آنها و افزایش بیگانه خواری شود(۱۳).

استفاده از گیاه دارویی بومادران فراوانی هتروفیل ها را افزایش داد. این گیاه حاوی سزکوئی ترپن ها، آچیلین، آچیلیفلین، و ... است. این ترکیبات با افزایش تولید و ترشح سیتوکین ها، موجب افزایش تیتر پادتن ها در بدن می‌شوند. استفاده تاریخی از بومادران نیز بیانگر اثر تحریک کنندگی آن بر سیستم ایمنی است و پیشینیان آن را محرک معالجه می دانستند. این عمل شفا دهنده بومادران به علت بهبود عملکرد سیستم ایمنی است که با عمل خاص خود سلامتی و ایمنی را در یک زمان بالا می برد. تحقیقات نشان داده است که این خاصیت بومادران به دلیل ترکیبات تلخ موجود در آن است. به علاوه اسانس های موجود در بومادران اثر ضد باکتریایی دارند. اثبات تحریک سیستم ایمنی توسط بومادران، احتیاج به تحقیقات بیشتری دارد. در این مطالعه، گیاه دارویی بومادران خاصیت تحریک سیستم ایمنی خود را در به شکل افزایش فراوانی هتروفیل ها نشان داد. در مورد نعناع نیز گزارش شده است که اسانس های موجود در آن ویروس ها و میکروب ها را از طریق تحریک گلبول های سفید خون از بین می برد(۱۵).

استفاده از گیاهان دارویی در این تحقیق، تأثیر معنی داری بر روی تیتر پادتن علیه ویروس نیوکاسل نداشت. ولی با این حال نعناع نسبت به سایر گیاهان دارویی، تیتر پادتن بالاتری علیه ویروس نیوکاسل داشت. در این رابطه، محققان نشان دادند استفاده از گیاه دارویی نعناع در جیره جوجه های گوشتی تأثیری بر روی تیتر پادتن علیه ویروس نیوکاسل ندارد(۳).

استفاده از گیاهان دارویی در جیره تأثیر معنی داری بر روی فراوانی کلستریدیوم‌ها و بیفیدوباکترهای موجود در ایلئوم جوجه های گوشتی داشت ($p< ۰/۰۵$). به طوری که گیاه دارویی نعناع میزان کلستریدیوم‌ها را در مقایسه با سایر تیمارها کاهش داد. بیشترین فراوانی این باکتری در جیره شاهد بود. در تیمار شاهد و تیمار حاوی آنتی بیوتیک فراوانی

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراوانی و انواع گلبول های سفید خون

تیمار	گلبول های سفید ($\times۱۰^۳/\mu l$)	هتروفیل ها (درصد)	لنفوسیت ها (درصد)	مونوسیت ها (درصد)	ائوزینوفیل ها (درصد)	تیتر پادتن نیوکاسل
شاهد	۱۹۷۳۳	۲۶/۳۳ ^{c}	۶۹/۶۶	۴	۰	۳/۳۳
زیره سبز	۱۴۲۶۷	۳۲ ^{c}	۷۷	۰/۶۶	۰	۳
نعناع	۱۷۵۰۰	۳۹/۶۶ ^{ab}	۵۷	۲/۳۳	۱	۴
بومادران	۱۹۲۶۷	۴۳ ^{a}	۵۵	۲	۰	۲/۶۶
کلپوره	۱۷۷۳۳	۳۳ ^{b}	۶۲/۶۶	۲	۱	۲
آنتی بیوتیک	۱۵۹۶۷	۳۶ ^{ab}	۶۶	۱	۱/۶۶	۲/۶۶
SEM	۱۷۷۱/۶۳	۰/۰۲۳	۰/۰۳۹	۰/۰۳۳	۰/۰۳۳	۰/۶۲۳

ab ارقام با حروف غیر مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی داری دارند.

SEM :خطای معیار میانگین

جدول۴-تأثیر تیمارهای آزمایشی بر روی جمعیت باکتری های موجود در دستگاه گوارش جوجه های گوشتی (log۱۰)

تیمارهای آزمایشی	Coliform	Clostridium	Lactobacillus	Bifidobacterium
شاهد	۵/۸۱	۷/۷۴ a	۸/۰۵	۷/۶۰a
زیره	۶/۳	۶/۱۰b	۸/۱۰	۶/۲۲b
نعناع	۵/۹۶	۵/۵۱b	۷/۹۲	۷/۲۹a
بومادران	۵/۶۸	۵/۹۷b	۷/۹۹	۶/۳۸b
کلپوره	۵/۲۱	۶/۰۲b	۷/۴۴	۵/۸۸b
آنتی بیوتیک	۵/۰۳	۶/۶۱b	۷/۸۸	۵/۹۱a
SEM	۰/۴۸	۰/۳۵	۰/۱۶	۰/۱۳

ab ارقام با حروف غیر مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی داری دارند.

SEM: خطای معیار میانگین

باکتـری بیفیدوباکترها بالاتر بود. از میان گیاهـان دارویی مورد مطالعه، نعناع میزان بیفیدوباکترها را نسبت به سایر گیاهان دارویی افزایش داد. تأثیر تیمارها بر فراوانی کلی فرم‌ها و لاکتوباسیل‌ها معنی دار نبود ولی با ایـن حال فراوانی کلی فرم‌ها در جیره حاوی کلپوره کم ترین و در جیره حاوی زیره سبز بالاترین بود (جدول ۳).

فعالیـت ضد میکروبی گیاهان، بیشـتر با عصاره هـای گیاهی مختلف و اسـانس- های موجود در آنها در شـرایط *in vitro* مطالعه شده است و اطلاعات کمی در مورد کاربرد آنها در موجودات زنده وجود دارد.

گزارش شـده اسـت که اسـانس های موجود در گیاهـان خاصیت ضد میکروبی قـوی علیـه *Listeria monoeytogenes*، *Salmonella typhimorium*، *E.coli*، *Sta.aureus* و باسیلوس دارند (۷).

همان طور که در جدول مشـاهده می شـود گیاه دارویی نعناع، فراوانی کلسـتریدیوم‌ها را کاهـش داد. از لحـاظ میکروبیولوژی، اسـانس های موجـود در نعنـاع فعالیـت ضـد میکروبـی و ضـد قارچی قـوی علیه میکروارگانیسـم هـای *E.coli*، *Cl.perfrinogens*، *Sta.aureus*، *C.albicans* و اسـترپتوکوکوس دارد(۱۷). تیمول، کارون و پی- سیمن اجزای شـناخته شده در اسـانس نعناع، فعالیت ضد میکروبی قوی نشان داده اند (۱۱،۹).

نتایج این مطالعه با بعضی از مطالعات انجام شده در این زمینه همخوانی دارد. گزارش شـده اسـت که ترکیبات موجود در اسـانس ها می توانند تکثیر *Cl.perfringens* را در روده و مدفوع جوجه های گوشتی کنترل کنند (۱۲،۱۰)

نشـان داده شده اسـت که استفاده از مخلوطی از اسـانس های گیاهی، رشـد *Cl.perfringens* و *E.coli* را کاهش و فراوانی لاکتوباسیل ها را افزایش می دهد(۱۹،۱۰)

از بیـن گیاهان مورد آزمایش، نعناع، جمعیت بیفیدو باکترها را در ایلئوم جوجه های گوشـتی افزایش داد. در این آزمایـش اثر تیمارها بر فراوانی کلـی فرم‌ها معنی داری نبود. احتمالاً ترکیبات موجود در گیاهان دارویی مطالعه شده اثر بیشتری بر باکتری های گرم مثبت نسبت به گرم منفی‌ها دارند.

همان طور که در جدول مشاهده می شود گیاهان دارویی کلپوره فراوانی بیفیدوباکترها و همچنین لاکتوباسـیل ها را کاهش داده، که این ممکن است به دلیل خاصیت ضد میکروبی قوی این گیاه نسبت به سایر گیاهان باشـد. این خاصیت موجـب از بین رفتن باکتری هـای مفید موجود در دسـتگاه گوارش پرنده می شـود در نتیجه می تواند تأثیر منفی بر روی رشد پرنده بگذارد.

تأثیر مثبت استفاده از نعناع در جیره در بهبود عملکرد جوجه های گوشتی گزارش شده است(۱۶). از طرفی گیاه دارویی نعناع میزان کلستریدیوم ها را در ایلئوم جوجه های گوشـتی به طور معنی داری کاهش داد. بنابراین مـی توان نتیجه گرفت که بهبود عملکرد در ایـن جوجه ها می تواند به دلیل کاهش جمعیت کلستریدیوم ها در ایلئوم آنها باشد.

نتایـج حاصل از این مطالعه نشـان داد که نعناع و بومادران می توانند به ترتیب فراوانی کلستریدیوم‌ها را کنترل و سیستم ایمنی را بهبود دهند و به این وسیله موجب افزایش عملکرد جوجه های گوشتی شوند. مطالعات بیشـتری بـرای تعیین اثرات ترکیبـات فعال موجود در ایـن گیاهان بر سیستم ایمنی و فلور میکروبی دستگاه گوارش طیور ضروری است.

سپاسگزاری

از پرسنل گروه علوم دامی پردیس ابوریحان که امکانات انجام این تحقیق را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی می شود.

منابع مورد استفاده

1- Acavomic, T. and Brooker. J.D. (2005) Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64: 403–412.

2- Al- Ankari, A. S., Zaki, M.M. and Al-Sultan. S.I. (2004) Use of habek mint (*Mentha longifolla*) in broiler chicken diets. *J. Poult. Sci*. 3(10): 629-634.

3- Ale-mohammad, M.M. (1986) *Practical Microbiology*. First Edition. University Publication Center. Tehran. Iran

4- Ando, I., Tsukumo, Y. Wakabayashi, T. Akashi S. and Miyake. K. (2002) Sa ower polysaccharides activate the transcription factor NF-kappa B via Toll-like receptor and induce cytokine production by macrophages. Int. *Immunopharmacology*. 2:1155-1162.

5- Baron, E.J. and Finegold. S.M. (1990) *Diagnostic Microbiology*. 8th Edition. The C.V. Mosby Company.Torento, Canada.

6- Cosentino S., C.I.G. Tuberoso, B. Pisano, M. Satta V. Mascia, E. Arzedi and Palmas. F. (1999) *In vitro* antimicrobial activity and composition of Sardinian Thymus essential oils. Letters in *Applied Microbiology*. 29:130–135.

7- Cowan, M. M., (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564–582.

8- Cross, D.E., Mcdevitt, R.M. Hillman K. and Acamovic. T. (2007) *The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from* 7 to 28 days of age. British Poultry Science Volume 48, Number 4,pp. 496—506

9- Kokkini, S., Karousou R. and Lanaras T. (1995) Essential oils of spearmint (carvone-rich) plantsfrom the island of Crete (Greece). *Biochem. System.Ecol.*, 23: 425-430.

10- Losa, R., and Kohler. B. (2001) *Prevention of colonisation of Clostridium perfringens in broilers intestine by essential oils.* Pages 133–134 in Proceedings of the 13th European Symposium on Poultry Nutrition. WPSA, Blankenberge, Belgium.

11- Mimica-Dukic, N., Kite, G. Gasic, O. Stanjer, D. Pavkov, R. Jancic R. and Fellows L. (1993) Comparative study of volatile constituents and antimicrobial activity of mentha species. *Acta Hort*., 344: 110-115.

12- Mitsch, P., Zitterl-Eglseer, K. Kohler, B. Gabler, C. Losa, R. and Zimpernik. I. (2004) The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of clostridium perfringens in the Intestines of Broiler Chickens. *Poult. Sci.* 83:669–675.

13- Ndog D. and Fall J. (2007) The effect of garlic on growth and immune response of hybrid tilapia . Published in: Document scientifique du CRODT.

14- Panter, K.E., James, L.F., Wang, S., Gardner, D.R., Gaffield, W., olyenux, R.J., Stegelmier, B.L. & Bunch, T.D. (2004) *Screening poisonous plant toxins for cytotoxicity using bovine embryos produced by*? In:Poisonous plants and related toxins. Editted by: Thomas Acamovic, Colin S. Stewart, T. W. Pennycott. CABI Publishing.

15- RMRA * Visit us at http://mintrubbing.org for the latest information and news on mintrubbing.

16- Sharifi S.D., Khorsandi, S. Khadem A.K. and Salehi. A. (2009) *Can medicinal plants with antimicrobial properties be replacement for antibiotics in broiler production*? Annual meeting of British Society of Animal Science. UK, (30 March-1 April).

17- Solaiman, F., El-Sohly, M. Fathy M. and El-Sakhawy, F. (1998) A comparative study of the essential oils from certain Mentha and Saliva species grown in Egypt.Egypt. *J. Pharm. Sci.,* 38: 553-564.

18- Lee S.H., Lillehoj, H.S. Heckert, R.A. Cho, S.M. Tuo, W. Lillehoj, E.P. Chun H.K. and Park. H.J. (2008) Immune enhancing properties of safflower leaf (*Carthamus tinctorius*) on chicken lymphocytes and macrophages. *J. Poult. Sci.*45:147-151.

19- Tucker L.A. (2002) *Maintaining poultry performance in antibiotic-free diets by supplementation with commercial botanical feed ingredients.* Proceedings of the 7th WPSATurkish J. Infect., 14: 253-2.

20- Wink, M. (2004) Evolution of toxins and anti-nutritional factors in plants with special emphasis on Leguminosae, in: Acamovic, T.Stewart, C.S. & Pennycott, T.W. (Eds) *Poisonous Plants and Related Toxins*, pp. 1-25.