

## Original Article

## The effects of hydroalcoholic extracts of *Urtica dioica* and *Foeniculum vulgare* on sporulation of *Eimeria* species in broiler chicken under laboratory condition

Ali Khoshnejad<sup>1</sup>, Mohammad Yakhchali<sup>2</sup> \*, Farnaz Malekifard<sup>3</sup>

Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University ,Urmia, Iran.

Submitted: 2025.04.23

Accepted: 2025.08.11

Revised: 2025.08.10

Published: 2026.03.20

Corresponding author: [m.yakhchali@urmia.ac.ir](mailto:m.yakhchali@urmia.ac.ir)

### Abstract:

**Introduction:** Avian coccidiosis is one of the important parasitic infection and economic losses which causes with *Eimeria* infection in Iran and worldwide. To date, many released anticoccidial drugs are the main sources of drug resistance and poultry meat residue. *Urtica dioica* and *Foeniculum vulgare* are plants with antibacterial, antifungal, and pharmacologic effects. **Objectives:** This work was aimed to study on effects of hydroalcoholic extracts of *U. dioica* and *F. vulgare* on sporulation of *Eimeria* oocysts. **Methods:** Fecal samples were collected from infected broiler chicken farms using flotation technique from West Azerbaijan province, North West of Iran and washed. About  $5 \times 10^4$  oocysts per mL were provided and exposed with different concentrations (20, 40, 60, and 80 mg/ml) of hydroalcoholic extracts of *U. dioica* and *F. vulgare* along with negative and positive groups with triplicates. Percentage of sporulated and non-sporulated oocysts in different times of 12, 24, 48, and 72h were count. **Results:** Results revealed that anti-coccidial effect of examined hydroalcoholic extracts on sporulation of *Eimeria* oocysts was dose dependent. *Urtica dioica* extract inhibit sporulation of oocysts of *Eimeria* spp. at concentrations of 60 and 80 mg/mL after 48h and 72h. *Foeniculum vulgare* extract also inhibit sporulation of *Eimeria* oocysts at concentration of 80 mg/mL after 24h, 48h, and 72h. **Conclusion:** From the results of this work, it was concluded that all examined hydroalcoholic extracts of *U. dioica* and *F. vulgare* may inhibit sporulation of *Eimeria* oocysts under laboratory condition.

**Keywords:** *Eimeria*, Oocyst, Sporulation, *Urtica dioica*, *Foeniculum vulgare*



Authors retain the copyright and full publishing rights.

Published by [Razi Vaccine & Serum Research Institute](#) This article is an open access article licensed under the [Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](#)

## اثرات عصاره آبی الکلی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) و گزنه (*Urtica dioica*) بر اسپرولاسیون گونه‌های آیمیریا در طیور گوشتی (شرایط آزمایشگاهی)

علی خوش نژاد، محمد یخچالی\*، فرناز ملکی فرد

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران



تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۱۹ تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۱/۰۱

ایمیل نویسنده مسئول: [m.yakhchali@urmia.ac.ir](mailto:m.yakhchali@urmia.ac.ir)

### چکیده:

**مقدمه:** کوکسیدیوزیس پرندگان مهم‌ترین بیماری انگلی در صنعت پرورش طیور است، به طوری که در تولید تجاری هزینه زیادی را به همراه دارد. امروزه تعداد زیادی از داروهای ضد کوکسیدیایی تولید شده عامل بروز مقاومت دارویی و باقیمانده دارویی در گوشت طیور می‌باشند. گیاه گزنه (*Urtica dioica*) دارای خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و دارویی است. گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) نیز دارای خواص ضدباکتریایی، ضد قارچی، آنتی‌اکسیدان و دارویی می‌باشند. **هدف:** هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثرات عصاره گیاهان رازیانه و گزنه بر اسپورزایی اووسیست‌های گونه‌های آیمیریا در جوجه‌های گوشتی بود. **روش کار:** اووسیست‌ها به روش شناورسازی از نمونه‌ی مدفوع طیور گوشتی آلوده در مرغداری‌های طیور گوشتی استان آذربایجان غربی جمع‌آوری و شستشو شدند. / $10^4 \times 5$  اووسیست غیراسپروله آیمیریا با غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی‌الکلی رازیانه و گزنه ( $20 \text{ mg/mL}$ ،  $40$ ،  $60$ ،  $80$ ) با سه تکرار در حضور گروه‌های شاهد مثبت و منفی مجاور گردیدند. درصد اووسیست‌های اسپروله و غیر اسپروله در زمانهای ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت شمارش شدند. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد بروز اثر ضد اسپورزایی عصاره‌های تحت مطالعه وابسته به دوز بودند. عصاره آبی‌الکلی گزنه در غلظت‌های  $60 \text{ mg/mL}$  و  $80 \text{ mg/mL}$ ، پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت موجب توقف اسپورزایی در اووسیست‌های آیمیریا شد. عصاره آبی‌الکلی رازیانه نیز اسپورزایی در اووسیست‌های آیمیریا را در غلظت  $80 \text{ mg/mL}$  پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت متوقف کرد. **نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه بیانگر توانایی بروز اثر ضداسپورزایی عصاره‌های آبی‌الکلی رازیانه و گزنه بر اووسیست‌های گونه‌های آیمیریا در شرایط آزمایشگاهی بود.

**کلید واژه:** آیمیریا، اووسیست، اسپرولاسیون، رازیانه، گزنه.

## مقدمه:

سال‌های اخیر قوانین سخت‌گیرانه‌ای در استفاده از مواد افزودنی، محرک‌های رشد، ترکیبات ضدکوکسیدیایی و حتی ضدعفونی‌کننده‌ها وضع شده است. نبود ضدعفونی‌کننده‌های غیرسمی موثر بر کوکسیدیاها و محدودیت‌های وضع شده در استفاده از داروهای کوکسیدیواستات در تولیدات طیور نیز منجر به تحقیقات وسیعی برای شناسایی یک روش جایگزین موثر و ایمن در کنترل کوکسیدیوزیس شده است (۱۲). این یافته‌ها استفاده از عصاره گیاهان دارویی را در جیره طیور به جای ترکیبات شیمیایی تشویق می‌کنند. زیرا برخی از این عصاره‌ها علاوه بر تحریک سیستم دفاعی طیور، رشد آن‌ها را بهبود می‌بخشند و در عین حال اثرات ضدکوکسیدیایی نیز دارند (۱۲). امروزه افزایش عوارض استفاده از داروهای ضدکوکسیدیایی و افزودنی‌های صناعی و نیز بروز مقاومت به آن‌ها، تمایل به استفاده از مواد با منشا طبیعی، عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان دارویی افزایش یافته است. این محصولات به دلیل ایمن بودن، مقرون به صرفه بودن، داشتن مواد و ترکیبات مفید در صنایع دارویی، غذایی و خوراک دام استفاده می‌شوند (۱۳).

گیاهان دارویی در سراسر جهان یافت می‌شوند و بسیاری از آن‌ها از منطقه مدیترانه منشاء گرفته‌اند. این گیاهان به عنوان راهبردی جایگزین در کنترل کوکسیدیوزیس پرندگان و بهبود عملکرد تغذیه‌ای آن‌ها مطرح هستند (۱۴). ایران بدلیل داشتن شرایط آب و هوایی متنوع یکی از بهترین نقاط جهان برای رشد گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) از خانواده چتریان (آپیسه‌آ) می‌باشد. رازیانه خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدان، ضد التهابی، محرک عضلات صاف روده و ضد کولیت به دلیل داشتن بوتیل هیدروکسی آنیزول دارد (۱۵). گیاه گزنه (*Urtica dioica*) از خانواده اورتیکاسه‌آ یک گیاه پایه مناطق گرمسیری است که به دلیل مصارف طولانی مدت دارای پراکندگی جغرافیایی وسیعی در نقاط مختلف دنیا از جمله در ایران است. عصاره گیاه گزنه دارای خواص جلوگیری از تخریب روده، تقویت سیستم ایمنی، افزایش وزن، کاهش ضریب تبدیل غذایی، اثر ضد قارچی و ضد میکروبی است (۱۶). به علاوه وجود ترکیبات فعال فنلی (مانند کارواکرول و تیمول) در ترکیب این گیاه، در درمان آلودگی‌های کوکسیدیایی نیز موثر گزارش شده است (۱۷). با توجه به اثرات این گیاهان بر عملکرد روده‌ای طیور، انتظار

بیماری کوکسیدیوزیس طیور توسط کوکسیدیاها بی از گونه‌های *آیمریا* (اسپوروزوا: آیمریده) در طیور گوشتی بروز می‌کند. تک‌یاخته *آیمریا* در حدود ۷۰ گونه از پرندگان جدا شده است که در روده مبتلایان ایجاد ضایعات گوارشی می‌کنند. کوکسیدیوزیس از بیماری‌های رایج در طیور گوشتی در ایران به ویژه در نیمه شمالی کشور است. پنج گونه‌ی *آیمریا* در طیور پرورشی بیماری‌زا گزارش شده‌اند (۱). یکی از عوامل مهم در همه‌گیری شناسی کوکسیدیوزیس به عنوان عامل وقوع آلودگی با کوکسیدیاها، قدرت زنده ماندن اووسیست‌های *آیمریایی* است (۲). فراوانی آلودگی ناشی از گونه‌های مختلف *آیمریا* از طیور پرورشی نقاط مختلف دنیا گزارش شده است که با شرایط عمومی و ایمنی میزبان، مدیریت بهداشتی مرغداری‌ها، میزان تراکم طیور در واحد سطح، نوع جیره غذایی، تهویه، نوع دانخوری و آبخوری، میزان رطوبت بستر و رژیم دارویی در پیشگیری ارتباط دارد (۳). علائم ابتلا طیور به بیماری کوکسیدیوزیس به دو شکل بالینی (مرگ و میر و اسهال خونی) و تحت‌بالینی (کاهش وزن و افزایش ضریب تبدیل غذایی) بروز می‌کند (۴). برای دهه‌ها، استفاده از داروهای ضدکوکسیدیایی در آب و دان جوجه‌های گوشتی موفقیت درمانی قابل توجهی داشته است (۵). مشکل اساس در خصوص تجویز داروهای ضدکوکسیدیایی، بروز مقاومت در گونه‌های *آیمریا*، باقیمانده‌های دارویی در گوشت و اثرات سمی مواد ضد عفونی کننده بر مصرف‌کنندگان است (۶).

از گذشته نیاز رو به افزایش ابداع درمان‌های موفق در درمان و کنترل کوکسیدیوزیس و یافتن عوامل جایگزین ضد *آیمریایی* سازگار با محیط زیست سبب شده است تا مطالعات غربالگری بر روی ترکیبات شیمیایی مختلف و مواد ضدعفونی‌کننده موثر بر اووسیست‌های *آیمریا* انجام شده است (۷). در دهه‌های اخیر مطالعات زیادی در خصوص اثرات ضدکوکسیدیوزیایی گیاهان دارویی برای جایگزینی با داروهای شیمیایی انجام شده است. گزارش‌هایی منتشر شده است که برخی از گیاهان دارویی اثرات ضدکوکسیدیایی امیدوارکننده‌ای در بهبود عملکرد طیور و جوجه‌های گوشتی در سراسر جهان داشته‌اند (۸-۱۰). به علاوه، در

HP- (Hewlett-Packard, Palo Alto, USA) با ستون 5MS (طول ۳۰ m، قطر داخلی ۰/۲۵ mm و ضخامت فیلم ۰/۲۵ m $\mu$ ) آنالیز گردیدند. براساس مقایسه زمان نگهداری عصاره‌ها با نمونه‌های معتبر در ستون مویرگی و داده‌های در دسترس، مقادیر ترکیبات موجود در آن‌ها تعیین و شناسایی شدند (۱۸).

### روش تهیه اووسیست‌های غیر اسپروله گونه‌های آیمریا:

نمونه‌ی مدفوع تازه از جوجه‌های گوشتی آلوده به آیمریا در مرغداری‌های طیور گوشتی در استان آذربایجان غربی جمع‌آوری شد. اووسیست‌ها به روش شناورسازی کلیتون-لین و با استفاده از محلول آب شکر اشباع جمع‌آوری شدند. سپس اووسیست‌های جمع‌آوری شده چندبار شستشو (افزودن ۱۰ mL سرم فیزیولوژی ۹ در ۱۰۰۰ به مدت ۳ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفوژ) شدند و در دمای ۴ °C نگهداری گردیدند.

### روش آزمایش:

در حدود ۵×۱۰<sup>۴</sup>/mL اووسیست غیر اسپروله آیمریا برای هر عصاره تهیه شد. غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی الکلی رازیانه و گزنه (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰)، اتانول ۷۰٪، دیکلازوریل (۱ ppm) و گروه شاهد (دی کرومات پتاسیم ۲٪ و فاقد عصاره) با سه تکرار تهیه گردیدند (۲۱-۲۰). غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی الکلی رازیانه و گزنه به لوله‌های حاوی اووسیست‌های غیر اسپروله و دی کرومات پتاسیم ۲٪ اضافه گردیدند و در انکوباتور (دمای ۲۸-۲۵ °C و رطوبت ۸۵-۶۵٪) با هوادهی نگهداری شدند. درصد اووسیست‌های اسپروله و غیر اسپروله در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با شمارش اووسیست‌ها توسط لام هموسیتمتر تعیین و ثبت گردیدند (۲۲).

### تجزیه و تحلیل آماری:

با توجه به زمان‌های قبل و بعد از مجاور شدن اووسیست‌های آیمریا با عصاره‌های آبی الکلی گزنه و رازیانه و تکرار شونده‌ی داده‌ها در طول زمان از آزمون Tukey-Kramer برای تجزیه

می‌رود که استفاده از عصاره‌های این گیاهان بتواند عوارض ابتلا به کوکسیدیوزیس را در جوجه‌های گوشتی کاهش دهند. بنابراین، مطالعه در خصوص اثرات ضد کوکسیدیایی رازیانه و گزنه در شرایط برون تنی به دلیل بروز مقاومت در برابر داروهای شیمیایی و نیز باقیمانده‌های دارویی در لاشه طیور، می‌تواند به عنوان یک روش جایگزین در کنترل و درمان کوکسیدیوزیس طیور مورد توجه قرار گیرد. براین اساس، این تحقیق برای مطالعه اثرات ضد کوکسیدیایی عصاره‌های آبی الکلی گیاهان رازیانه و گزنه در شرایط آزمایشگاهی بر اسپورزایی اووسیست‌های گونه‌های آیمریایی انگل جوجه‌های گوشتی انجام شد.

### مواد و روش کار

#### روش آماده سازی و تهیه عصاره آبی الکلی گیاهان مورد مطالعه:

گیاهان تازه رازیانه (کد: E-1247 FUMH) و گزنه (کد: 6725-TEH) به سفارش عطاری‌ها از بازار محلی شهرستان ارومیه تهیه و شناسایی گردیدند. برای شروع تهیه عصاره، گیاه را برش داده و در شرایط آزمایشگاهی در سایه طی یک هفته خشک شدند. سپس با استفاده از مخلوط کن برقی پودر شدند. ۴۰۰ mL متانول خالص به ۱۰۰ gr پودر خشک گیاه اضافه گردید و یک ساعت در مخلوط کن مگنت‌دار مخلوط شدند. مخلوط ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه ماند و دوباره مخلوط گردید. مخلوط توسط کاغذ فیلتر، صاف شد و مایع حلال با استفاده از دستگاه گردان بخار تبخیر گردید. ماده‌ی نیمه جامد برجای مانده در فریزر منجمد گردید. ۴ gr از ماده رسوب کرده نیز در محفظه‌ی شیشه‌ای استریل ریخته شد و در دمای ۴ °C درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید. مقادیر ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ از هر عصاره‌ی خشک در ۱۰ mL آب مقطر حل شد تا رقت‌های متوالی ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ mg/mL تهیه شوند (۱۸).

#### روش آنالیز کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی (GC-MS):

۱۰ mL از عصاره‌های آبی الکلی رازیانه و گزنه جداگانه توسط دستگاه طیف سنجی جرمی (GC-MS, Model 6890N)؛

گزنه ۱۹ و رازیانه ۲۸ ترکیب شناسایی شد. اجزای اصلی عصاره‌های گزنه و رازیانه به ترتیب، نفوفیتادین (۴/۷۰٪) و ترنس-آنتول (۳۱/۴۹٪) بودند (جدول ۱ و ۲).

و تحلیل آماری آن‌ها استفاده گردید (نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶). سطح معنی‌داری  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

یافته‌های کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی در آنالیز کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی عصاره‌های

جدول شماره ۱: ترکیبات اصلی عصاره گزنه (اورتیکا دیویکا)

| ردیف | اسم علمی   | سطح (%) | RT (دقیقه) |
|------|--|---------|------------|
| ۱    | اسیدفسفریک تری بوتیل استر  | ۰/۶۸    | ۲۱/۳۱      |
| ۲    | ۸ - متیل هپتادکان  | ۴/۲۱    | ۲۴/۴۳      |
| ۳    | ۲،۴ - دی - تی - بوتیل فنل  | ۰/۹۳    | ۱۸/۱۵      |
| ۴    | ایکوزان  | ۰/۷۲    | ۲۴/۸۴      |
| ۵    | نفوفیتادین   | ۴/۷۰    | ۲۵/۹۴      |
| ۶    | ۱ - هپتادکان   | ۰/۸۵    | ۲۴/۶۸      |
| ۷    | اسیدفتالیک   | ۲/۳۶    | ۲۶/۶۶      |
| ۸    | ۳،۷،۱۱،۱۵ - تترامتیل - ۲ - هگزادسیل استر                                     | ۱/۶۶    | ۲۶/۱۲      |
| ۹    | اولئان - ۱۸ - انه  | -       | ۲۷/۹۱      |
| ۱۰   | ۲،۶،۱۰،۱۴ - تترامتیل پنتادکان  | -       | ۲۹/۱       |
| ۱۱   | ۳،۵ - دی - ترت - بوتیل - اورتو - بنزو کوبنون                                 | ۰/۵۲    | ۲۸/۸۵      |
| ۱۲   | انیکوزان   | ۱/۳۰    | ۳۰/۳۷      |
| ۱۳   | دی بوتیل فتالیت  | ۲/۱۵    | ۲۹/۲۶      |
| ۱۴   | نوناکوزان  | ۰/۸۲    | ۳۴/۷۷      |
| ۱۵   | بیس (۲- اتیل هگزیل) مالئات   | ۱/۵۹    | ۳۳/۵۴      |
| ۱۶   | هگزاکوزان  | -       | ۳۲/۶۶      |
| ۱۷   | پنتاکوزان  | -       | ۳۸/۴۶      |
| ۱۸   | ۲- ترت - بوتیل - ۴،۶ - بیس (۳،۵ - دی - ترت - بوتیل - ۴ - هیدروکسی بنزیل) فنل | ۱/۱۵    | ۵۵/۹۶      |
| ۱۹   | ناشناخته   | ۱/۸۸    | ۵۶/۲۷      |

جدول شماره ۲: ترکیبات اصلی عصاره رازیانه (فونیکولو م ولگار)

| ردیف | اسم علمی                       | سطح (%) | RT (دقیقه) |
|------|--------------------------------|---------|------------|
| ۱    | ۳-هیدروکسی تتراهیدروپیرن       | ۰/۵۵    | ۵/۰۲       |
| ۲    | دلتا-۳-کارن                    | ۰/۴۲    | ۸/۱۶       |
| ۳    | ۴-هگزن-۲-وان                   | ۰/۲۰    | ۴/۵۴       |
| ۴    | ۲-پنتانول                      | ۲۵/۰۱   | ۵/۵۶       |
| ۵    | اسیداستیک                      | ۰/۱۰    | ۸/۹۰       |
| ۶    | دی-ال-لیمونن                   | ۱/۷۶    | ۱۱/۰۸      |
| ۷    | ۱،۳،۸-منتاترین                 | ۰/۱۲    | ۱۰/۹۴      |
| ۸    | فنکون                          | ۱۱/۶۸   | ۱۲/۸۸      |
| ۹    | سابینن                         | ۰/۱۷    | ۹/۳۴       |
| ۱۰   | ترنس-P-منتا-۲،۸-دی انول        | ۰/۱۸    | ۱۳/۹۰      |
| ۱۱   | تترادکان                       | ۰/۹۰    | ۱۳/۲۶      |
| ۱۲   | ۱-آندکانول                     | ۰/۱۵    | ۱۶/۳۲      |
| ۱۳   | سیکلوهگزان                     | ۰/۳۱    | ۱۸/۰۶      |
| ۱۴   | استات فنچیل                    | ۰/۱۱    | ۱۷/۷۴      |
| ۱۵   | بنزن-۱-متوکسی-۴-(۲-پروپن)      | ۱/۵۲    | ۱۶/۵۴      |
| ۱۶   | ترنس-آنتول                     | ۳۱/۴۹   | ۱۹/۷۰      |
| ۱۷   | ۴-پنتیل اوکسی-۲،۳-دی سیانوفنیل | ۰/۱۰    | ۲۱/۵۸      |
| ۱۸   | ای-۱۵-هپتا دکانال              | ۱/۰۴    | ۲۸/۱۲      |
| ۱۹   | ۱-تترادکان                     | ۰/۶۴    | ۲۲/۲۹      |
| ۲۰   | هیدروکسی متیل سیکلودودکان      | ۰/۱۳    | ۲۳/۲۸      |
| ۲۱   | ۳-ایکوزان-(e)-(CAS)            | ۰/۵۲    | ۳۶/۵۶      |
| ۲۲   | اسید هگزادکانوئیک              | ۰/۱۱    | ۳۷/۱۰      |
| ۲۳   | ۳-ایکوزان                      | ۰/۴۳    | ۴۰/۲۰      |
| ۲۴   | دی(۲-اتیل هگزیل) آدیپات        | ۰/۳۱    | ۴۳/۳۸      |
| ۲۵   | ۱۴-هپتا دکانال                 | ۰/۲۶    | ۵۰/۰۲      |
| ۲۶   | هگزاتری آکونتان                | ۱/۴۴    | ۵۰/۵۸      |
| ۲۷   | ۱-اوکتادکانول                  | ۰/۴۰    | ۵۲/۷۰      |
| ۲۸   | ۱۰-نونادکانون                  | ۲/۹۷    | ۵۳/۲۶      |

گزنه با افزایش زمان انکوباسیون به طور معنی داری کاهش یافت ( $p > 0.01$ ). در حالی که در زمان‌های ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت انکوباسیون، اسپرولاسیون اووسیست‌ها در غلظت‌های  $60 \text{ mg/mL}$  ( $= 0.21P$ ) و  $80 \text{ mg/mL}$  ( $= 0.1P$ ) متوقف گردید. اسپرولاسیون اووسیست‌ها در غلظت‌های  $20 \text{ mg/mL}$  و  $60 \text{ mg/mL}$  عصاره آبی الکی گزنه و اتانول ۷۰٪ اختلاف معنی داری نداشت ( $p > 0.05$ ).

### یافته‌های انکوباسیون اووسیست‌های غیر اسپروله آیمیریا با عصاره آبی الکی گزنه

در زمان‌های ۱۲ ساعت و ۲۴ ساعت انکوباسیون، بیشترین میزان اسپرولاسیون در مقایسه با گروه‌های شاهد و دیکلازوریل در غلظت  $20 \text{ mg/mL}$  بود (جدول ۳). میزان اسپرولاسیون گونه‌های آیمیریا در غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکی گیاه

جدول شماره ۳: درصد اسپورزایی اووسیست‌های آیمیریا در مواجهه با غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکی گیاه گزنه (میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد).

\* حرف a - b در هر ستون و A - D در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد. ( $p < 0.05$ ).

| گروه‌ها             | اسپرولاسیون (%)       |                       |                       |                       | P value               |            |
|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------|
|                     | ساعت ۱۲               | ساعت ۲۴               | ساعت ۴۸               | ساعت ۷۲               |                       |            |
| شاهد                | $100.0 \pm 0.0^{Aa}$  | $97.17 \pm 0.75^{Ba}$ | $93.96 \pm 0.79^{Ca}$ | $90.0 \pm 1.10^{Da}$  | $P < 0.01$            |            |
| دیکلازوریل          | $100.0 \pm 0.0^{Aa*}$ | $96.79 \pm 0.71^{Ba}$ | $93.75 \pm 1.83^{Ca}$ | $89.90 \pm 1.43^{Da}$ | $P < 0.01$            |            |
| اتانول ۷۰٪          | $23.46 \pm 1.15^{Ae}$ | $0.0 \pm 0.0^{Be}$    | $0.0 \pm 0.0^{Be}$    | $0.0 \pm 0.0^{Bd}$    | $P < 0.01$            |            |
| عصاره آبی الکی گزنه | $20 \text{ mg/mL}$    | $100.0 \pm 0.0^{Aa}$  | $96.06 \pm 1.04^{Ba}$ | $79.72 \pm 2.18^{Cb}$ | $63.71 \pm 1.79^{Db}$ | $P < 0.01$ |
|                     | $40 \text{ mg/mL}$    | $83.13 \pm 1.63^{Ab}$ | $39.53 \pm 1.97^{Bb}$ | $38.75 \pm 1.62^{Bc}$ | $31.87 \pm 1.39^{Cc}$ | $P < 0.01$ |
|                     | $60 \text{ mg/mL}$    | $64.75 \pm 1.27^{Ac}$ | $31.82 \pm 1.06^{Bc}$ | $26.02 \pm 1.26^{Cd}$ | $0.0 \pm 0.0^{Dd}$    | $P < 0.01$ |
|                     | $80 \text{ mg/mL}$    | $39.94 \pm 1.30^{Ad}$ | $3.57 \pm 1.96^{Bd}$  | $0.0 \pm 0.0^{Be}$    | $0.0 \pm 0.0^{Bd}$    | $P < 0.05$ |
| P value             | $P < 0.01$            | $P < 0.05$            | $P < 0.01$            | $P < 0.01$            |                       |            |

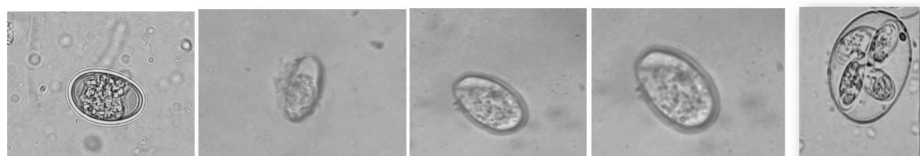
که در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از انکوباسیون، اسپرولاسیون اووسیست‌ها در غلظت  $80 \text{ mg/mL}$  متوقف شد ( $P = 0.33$ ) (تصویر ۱). در زمان‌های ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون، تاثیر غلظت  $20 \text{ mg/mL}$  عصاره آبی الکی رازیانه بر درصد اسپرولاسیون اووسیست‌ها با گروه شاهد و دیکلازوریل معنی دار نبود ( $p > 0.05$ ). درصد اسپرولاسیون اووسیست‌ها در غلظت  $80 \text{ mg/mL}$  عصاره آبی الکی رازیانه و اتانول ۷۰٪ اختلاف معنی داری نداشت ( $p > 0.05$ ).

### یافته‌های انکوباسیون اووسیست‌های غیر اسپروله آیمیریا با عصاره آبی الکی رازیانه

در زمان‌های ۱۲ ساعت و ۲۴ ساعت از انکوباسیون، بیشترین درصد اسپرولاسیون اووسیست‌ها در غلظت  $20$  میلی گرم در میلی لیتر در مقایسه با گروه دیکلازوریل و اتانول ۷۰٪ بود (جدول ۴). میزان کاهش درصد اسپرولاسیون اووسیست‌های گونه‌های آیمیریا در غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکی گیاه رازیانه با افزایش مدت زمان انکوباسیون معنی دار بود ( $P = 0.01$ ). به طوری

جدول شماره ۴: درصد اسپورزایی اووسیست‌های *آیمریا* در مواجهه با غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکی گیاه رازیانه. \* حرف a - b در هر ستون و A - D در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

| گروه‌ها                | اسپرولاسیون (%) |                 |                 |                 | P value         |           |
|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------|
|                        | ۱۲ ساعت         | ۲۴ ساعت         | ۴۸ ساعت         | ۷۲ ساعت         |                 |           |
| شاهد                   | ۱۰۰/۰ ± ۰/۰ Aa  | ۹۷/۱۷ ± ۰/۷۵ Ba | ۹۳/۹۶ ± ۰/۶۹ Ca | ۹۰/۰ ± ۱/۱۰ Da  | P < ۰/۰۱        |           |
| دیکلازوریل             | ۱۰۰/۰ ± ۰/۰ Aa  | ۹۶/۶۹ ± ۰/۷۱ Ba | ۹۳/۶۵ ± ۱/۸۳ Ca | ۸۹/۹۰ ± ۱/۴۳ Da | P < ۰/۰۱        |           |
| اتانول ۷۰٪             | ۲۳/۴۶ ± ۱/۱۵ Ae | ۰۰/۰ ± ۰/۰ Be   | ۰۰/۰ ± ۰/۰ Be   | ۰۰/۰ ± ۰/۰ Bd   | P < ۰/۰۱        |           |
| عصاره آبی الکی رازیانه | ۲۰ mg/mL        | ۱۰۰/۰ ± ۰/۰ Aa  | ۹۴/۷۲ ± ۱/۳۹ Ba | ۸۲/۴۳ ± ۰/۵۳ Cb | ۶۷/۴۹ ± ۱/۶۶ Db | P = ۰/۰۱  |
|                        | ۴۰ mg/mL        | ۸۳/۱۳ ± ۱/۶۳ Ab | ۵۶/۸۷ ± ۱/۹۵ Bb | ۴۸/۰۶ ± ۱/۲۹ Cc | ۳۵/۱۱ ± ۱/۴۵ Dc | P = ۰/۰۱  |
|                        | ۶۰ mg/mL        | ۶۳/۳۴ ± ۱/۲۲ Ac | ۳۰/۵۸ ± ۱/۰۸ Bc | ۲۵/۳۰ ± ۱/۹۴ Cd | ۱/۴۲ ± ۱/۰۱ Dd  | P = ۰/۰۱  |
|                        | ۸۰ mg/mL        | ۵۶/۳۷ ± ۱/۷۶ Ad | ۰۰/۰ ± ۰/۰ Bd   | ۰۰/۰ ± ۰/۰ Bd   | ۰۰/۰ ± ۰/۰ Bd   | P = ۰/۰۳۳ |
| P value                | P < ۰/۰۱        | P < ۰/۰۵        | P < ۰/۰۱        | P < ۰/۰۱        |                 |           |



الف - شاهد، ب - ۷۲ ساعت، ج - ۴۸ ساعت، د - ۲۴ ساعت، ه - ۱۲ ساعت، بزرگنمایی ×۴۰۰

تصویر شماره ۱- اووسیست گونه‌های *آیمریا* در زمان‌های مختلف مجاورت با عصاره‌های آبی الکی

رازیانه و گزنه (الف - شاهد، ب - ۷۲ ساعت، ج - ۴۸ ساعت، د - ۲۴ ساعت، ه - ۱۲ ساعت، بزرگنمایی ×۴۰۰)

## بحث

نسبت به بسیاری از عوامل شیمیایی و مکانیکی مقاوم هستند. از دهه ۱۹۴۰ تا به امروز، برنامه اصولی در کنترل و درمان کوکسیدیوزیس طیور ایمن‌سازی و استفاده از داروهای ضدکوکسیدیایی از طریق آب و دان بوده است. ولی به دلیل بروز مقاومت روزافزون این تک‌یاخته انگلی به درمان و نقش باقی مانده‌های دارویی در محصولات غذایی با منشا گوشت طیور از نگرانی‌های اصلی در صنعت پرورش طیور محسوب می‌شود (۴). براساس نتایج حاصله از این مطالعه، اثر ضدکوکسیدیایی عصاره‌های آبی الکی گیاهان مورد استفاده

کوکسیدیوزیس یکی از بیماری‌های انگلی با اهمیت در صنعت پرورش طیور محسوب می‌شود که در پرورش متراکم طیور ضررهای اقتصادی قابل توجهی وارد می‌سازد. فراوانی آلودگی ناشی از گونه‌های مختلف *آیمریا* از طیور پرورشی نقاط مختلف دنیا گزارش شده است و انتشار جهانی دارد (۳). بستر مرغداری‌ها شرایط مناسب اسپرولاسیون اووسیست‌های *آیمریا* را فراهم می‌کند. زیرا اووسیست‌ها

آبی‌الکلی چای سبز پس از ۷۲ ساعت و در غلظت mg/mL ۸۰ باعث توقف اسپرولاسیون اووسیست‌های *آیمریا* شدند. Drăgan .et al (۳۰) اثرات ضدکوکسیدیایی گیاه رازیانه در طیور گوشتی مبتلا به آلودگی با *Eimeria tenella* را بر علایم بالینی، میزان تلفات، شدت جراحات و میزان افزایش وزن طیور با بهبود شرایط طیور آلوده گزارش کردند.

استفاده از عصاره‌های گیاهی در آب و یا دان برای مبارزه با بیماری‌ها در صنعت پرورش طیور در مواردی به دلیل سمیت و عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای صنعتی توصیه گردیده است. مکمل گزنه با داشتن مواد ضدسمی، ارزانی و سهولت دسترسی یکی از افزودنی‌های رایج محسوب می‌شود. به علاوه گیاه گزنه به واسطه داشتن ترکیبات فنلی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی با وقفه در رشد مخمرها و قارچ‌ها در مطالعات مشابه داشته است (۳۱). در این تحقیق، در عصاره‌ی کروماتوگرافی شده گیاه گزنه نفوفیتادین و گیاه رازیانه ترنس- آنتول بیشترین درصد را داشتند. ترکیب نفوفیتادین در گیاه گزنه یک دی‌ترپن با اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی است (۳۲). ترکیب ترنس-آنتول در گیاه رازیانه نیز یک منوترپن حلقوی اکسیژن دار است که در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده دارد (۳۳). Parizadian Kavan et al (۱۷) انواع استرول‌های گیاهی، کاروتنوئیدها (بتاکاروتن، گزانتوفیل‌ها، زی گزانتین)، ترپن‌ها، ترکیبات فعال فنلی (کارواکرول و تیمول)، مونوترپن‌ها، گلیکوزیدها و فلاونوئیدها، ترکیبات زیستی (اسید کافئیک، اسید مالیک، اسید کوئینیک، اسید فرمیک، اسید استیک، اسید بوتیریک، اسید کوماریک، اسید کربنیک، تانن)، مواد معدنی، ویتامین‌ها (C و A) انواع فلاونوئیدها و فلاونول گلیکوزیدها را از گیاه گزنه گزارش کردند. در مطالعه‌ی Pop et al (۲۴) خواص ضدکوکسیدیایی گیاه گزنه در ترکیب با سایر گیاهان دارویی در طیور آلوده به کوکسیدیوزیس تجربی را ناشی از وجود ترکیبات پلی فنل و خواص آنتی‌اکسیدانی آن گزارش کردند. Badrizadeh .et al (۳۴) در مطالعه‌ی اثرات ضد لیشمانیایی عصاره گزنه در شرایط برون تنی و درون تنی نشان دادند که عصاره گیاه گزنه با واسطه واکنش‌های ایمنی موجب بهبود لیشمانیایی جلدی در موش‌های آلوده شد.

Rahman .et al (۳۵) نشان دادند که عصاره آبی‌الکلی گیاه گزنه در طیور گوشتی مبتلا به *E. tenella* باعث کاهش

وابسته به غلظت بود. به طوری که با افزایش غلظت و مدت زمان مجاورت عصاره‌ها، اثر مهاری آنها بر اسپرولاسیون اووسیست‌های گونه‌های *آیمریا* نیز افزایش یافت. به طوری که غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی‌الکلی گزنه و رازیانه بر میزان اسپرولاسیون اووسیست‌های گونه‌های *آیمریا* اثرات قابل توجهی داشتند. این یافته‌ها با نتایج سایر مطالعات که نشانگر اثرات ضدکوکسیدیایی انواع مختلف عصاره‌های گیاهی تحت مطالعه در جوجه‌های گوشتی و در شرایط آزمایشگاهی وابسته به غلظت بوده‌اند، مشابهت داشت (۲۴-۲۳). براساس مطالعه‌ی Habibian Dehkordi et al (۲۵) میانگین درصد کشندگی عصاره آبی‌الکلی گل برنجاسف در زمان‌های معین بر اووسیست‌های *آیمریا ماکزیمیا* با افزایش غلظت افزایش یافت. et al. Khoshnejad (۲۶) نشان دادند که عصاره‌های آبی‌الکلی چای سبز و آویشن دارای اثر مهاری وابسته به دوز بر اسپرولاسیون گونه‌های *آیمریا* انگل طیور گوشتی بودند. در مطالعه عصاره‌های گیاهی گندنا و زنیان، افزایش اثر کشندگی و ارتباط آن با زمان مجاورت کیست‌های گونه‌های *ژیاردیا* نیز گزارش شده است (۲۷-۲۸). وابستگی اثر کشندگی عصاره‌های گیاهی بر اووسیست‌های *آیمریا* به دلیل مجاورت انگل با عصاره گیاهی، نفوذ ترکیبات کشنده، تجمع آن‌ها و نفوذ تدریجی ترکیبات فعال و تبدیل آن‌ها به ترکیبات سمی توسط آنزیم‌های سیتوپلاسمی انگل گزارش شده‌اند (۲۵). در این مطالعه، اسپرولاسیون اووسیست‌های گونه‌های *آیمریا* در مجاورت با غلظت‌های مختلف عصاره آبی‌الکلی گیاه گزنه (۶۰ mg/mL) و رازیانه (غلظت‌های ۶۰ mg/mL و ۸۰ mg/mL) را در زمان‌های مختلف متوقف شد. Farsangi et al (۲۹) نشان دادند که زمان مجاورت غلظت‌های عصاره‌های مختلف گیاهان نقش مهمی در از بین بردن انگل‌ها داشت. Habibian Dehkordi et al (۲۵) اثر مهاری عصاره آبی‌الکلی گیاه گل برنجاسف بر اووسیست‌های *Eimeria maxima* را در شرایط آزمایشگاهی با کاهش تعداد اووسیست‌ها پس از ۱۲، ۴۸ و ۷۲ ساعت گزارش کردند ( $p < 0.05$ ). در این مطالعه، کاهش تعداد اووسیست‌های زنده در مجاورت با عصاره آبی‌الکلی گیاه بومادران ناشی از کاهش دسترسی اووسیست به انرژی گزارش گردید. et al. Khoshnejad (۲۶) گزارش کردند که عصاره آبی‌الکلی آویشن در غلظت ۶۰ mg/mL در ۴۸ ساعت و عصاره

قدردانی خود را از همکاری شبکه دامپزشکی شهرستان ارومیه دارند.

### تعارض منافع:

نویسندگان اعلام می‌نمایند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

### References:

- Zarei H, Shahhoseini M. Effect of diclazuril on growth performance in broilers with *Eimeria tenella*. Iran J Plant Physiol. 2019; 14(4): 11-16. (In Persian)
- Fatemi A, Razavi S.M, Asasi K, Goudarzi MT. Effects of *Artemisia annua* extracts on sporulation of *Eimeria* oocysts. Parasitol Res. 2015; 114(3): 1207-1211. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4304-z>
- Tavassoli M, Pashaei, M. Sources and transfer routs of *Eimeria* oocyst to poultry farms in Urmia. J Vet Med. 2004; 59: 245-247.
- Nahed A, El-Shall ME. Abd El-Hack, N.M., Albaqami, A.F., Khafaga, A.E., Taha, A.A., et al. Phytochemical control of poultry coccidiosis: a review. Poult Sci. 2022; 101(1): 101542. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101542>
- Blake DP, Tomley FM. Securing poultry production from the ever-present *Eimeria* challenge. Trends Parasitol. 2014; 30(1): 12-19. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2013.10.003>
- Abbas RZ, Iqbal Z, Khan MN, Zafar MA, Zia MA. Anticoccidial activity of *Curcuma longa* L. in broilers. Braz. Arch. Biol. Technol. 2010; 53: 63-67. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132010000100008>
- Guimaraes JS, Bogado AL, Da Cunha TC, Garcia JL. In vitro evaluation of the disinfection efficacy on *Eimeria tenella* unsporulated oocysts isolated from broilers. *Revista Brasileira de Par-*

دفع اووسیست و بهبود شرایط طیور آلوده گردید. در این تحقیق، اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی‌الکی رازیانه و گزنه و اتانول ۷۰٪ بر اسپورزایی گونه‌های *آیمریا* مشابه با سایر گزارش‌ها بود (۲،۲۱). به علاوه، داروی کوکسیدیواستات دیکلازوریل (از دسته بنزیل استونیتريت) در شرایط آزمایشگاهی تأثیر زیادی بر اووسیست‌ها نشان نداد. در مطالعه Habibian Dehkordi et al (۲۵). علت بروز اثر کشندگی بیشتر عصاره آبی‌الکی گیاه بومادران را حلالیت ترکیبات ضدآیمریایی در اتانول گزارش کردند. براساس گزارش Bozkurt et al (۳۶)، بروز تأثیر درمانی دیکلازوریل فقط به صورت درون‌تنی، با ایجاد اختلال در ساخت دیواره اووسیست‌ها موجب کاهش تولید اووسیست‌های اسپروله می‌گردد. بنابراین با تولید تعداد کمی اووسیست اسپروله و دفع آن از روده پرنده، موجب تحریک سیستم ایمنی در کله می‌گردد (۱). این ترکیب دارویی، با اثر بر مراحل جنسی (ماکروگامت *E. maxima*) و غیرجنسی (شیزوگونی اولیه *E. tenella* و شیزوگونی ثانویه *E. acervolina*) موجب از بین رفتن انگل می‌گردد (۳۷).

### نتیجه گیری

براساس نتایج حاصل از این تحقیق، عصاره‌های آبی‌الکی گیاهان رازیانه و گزنه در شرایط آزمایشگاهی توانایی مهار رشد و تکثیر در اووسیست‌های گونه‌های *آیمریا* را نشان دادند. به طوری که بیشترین اثر مهاری در اسپورزایی اووسیست‌های گونه‌های *آیمریا* توسط عصاره‌های گیاهی تحت مطالعه متعلق به عصاره رازیانه بود. بنابراین، این عصاره‌ها احتمالاً توانایی کنترل و درمان آلودگی کوکسیدیایی را در طیور دارند. البته اثبات این یافته‌ها نیاز به بررسی‌های تکمیلی درون‌تنی اثرات عصاره‌های آبی‌الکی گیاهان رازیانه و گزنه بر رشد و تکثیر اسپروژوئیت‌ها و مرزوژوئیت‌های گونه‌های *آیمریا* و نیز تأثیر آن‌ها بر رشد و عملکرد طیور در کوکسیدیوزیس تجربی دارد. به علاوه، مطالعه تأثیر این عصاره‌ها بر میزان آلودگی بستر به اووسیست‌های فعال و تعداد آن‌ها توصیه می‌گردد.

### سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه (به شماره ۵۱۴۴) انجام شد. نویسندگان مراتب

- asitologia Veterinária. 2007; 16: 67-71.
8. Allen PC, Lydon J, Danforth HD. Effects of components of *Artemisia annua* on coccidia infections in chickens. *Poult Sci*. 1997; 76: 1156-1163. <https://doi.org/10.1093/ps/76.8.1156> .
  9. Molan AL, Liu Z, De S. Effect of pine bark (*Pious radiata*) extracts on sporulation of coccidian oocysts. *Folia Parasitol*. 2009; 56(1): 1-6. <https://doi.org/10.14411/fp.2009.001>
  10. Remmal, A., Achahbar, S., Bouddine, L., Chami, N., & Chami, F. *In vitro* destruction of *Eimeria* oocysts by essential oils. *Vet Parasitol*. 2011; 182, 121-126. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.06.002>
  11. Jitviriyanon S, Phanthong P, Lomarat P, Bunyapraphatsara N, Porntrakulpipat S, Paraksa N. *In vitro* study of anti-coccidial activity of essential oils from indigenous plants against *Eimeria tenella*. *Vet Parasitol*. 2016; 228: 96-102. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.08.020>
  12. Abbas RZ, Colwell DD, Gilleard J. Botanicals: an alternative approach for the control of avian coccidiosis. *Worlds Poult Sci J* 203-215 : (2)68 ;2012 ..<https://doi.org/10.1017/S0043933912000268>
  13. Christaki E, Bonos E, Giannenas I, Florou-Paneri P. Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agriculture*. 2012; 2(4): 228-243. <https://doi.org/10.3390/agriculture2030228>
  14. Hady MM, Zaki MM. Efficacy of some herbal feed additives on performance and control of cecal coccidiosis in broilers. *Apcbee Procedia*. 2012; 4: 163-168. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.11.028>
  15. Taki A, Salari S, Bojarpour M, Sari M, Taghizadeh M. The effect of *Foeniculum vulgare* essence on production performance, egg quality and reproductive parameters of laying hens. *Iran J Appl Anim Sci*. 2014; 6(2): 140-149. <https://doi.org/10.22067/ijasr.v6i2.21963>. (In Persian)
  16. Gulcin I, Kufrevioglu OI, Oktay M, Buyukokuro ME. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J Ethnopharmacol*. 2004; 90: 205-215. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.028>
  17. Parizadian Kavan B, Khosravinia H, Karimirad R, Tavakoli F. Effect of herbal additives of milk thistle (*Silybum marianum*) and nettle (*Urtica dioica*) on immune system parameters, blood metabolites and egg yolk cholesterol in laying hens. *Veterinary Researches & Biological Products*. 2119; 123: 42-49. (In Persian)
  18. Malekifard F, Tavassoli M, Alimoradi M. *In vitro* assessment of anti-Trichomonas effects of *Zingiber officinale* and *Lavandula angustifolia* alcoholic extracts on *Trichomonas gallinae*. *Vet Res Forum*. 2021; 12(1):95-100. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.102620.2444>
  19. Conway DP, McKenzie ME. *Poultry coccidiosis: diagnostic and testing procedures*. John Wiley & Sons; 2007, p. 218-219
  20. Habibi H, Firouzi S, Nili H, Razavi M, Asadi SL, Daneshi S. Anticoccidial effects of herbal extracts on *Eimeria tenella* infection in broiler chickens: *in vitro* and *in vivo* study. *J Parasit Dis*. 2016; 40(2): 401-407. <https://doi.org/10.1007/s12639-014-0517-4>.
  21. Gadelhaq SM, Arafa WM, Abolhadid SM. *In vitro* activity of natural and chemical products on sporulation of *Eimeria* species oocysts of chickens. *Vet Parasitol*. 2018; 251:12-16.<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.12.020>
  22. Del Cacho E, Gallego M, Francesch M, Quilez J, Sanchez-Acedo C. Effect of arte-

- misinin on oocyst wall formation and sporulation during *Eimeria tenella* infection. Parasitol Int. 2010; 59(4): 506-511. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.04.001>
23. Pieri FA, Silva VO, Vargas FS., Veiga Junior, V.F., & Moreira, M.A.S. Antimicrobial activity of *Copaifera langsdorffii* oil and evaluation of its most bioactive fraction against bacteria of dog's dental plaque. Pak Vet J. 2014; 34(2): 18-25.
24. Pop LM, Varga E, Coroian M, Nedisan ME, Mircean V, Dumitrache MO, et al. Efficacy of a commercial herbal formula in chicken experimental coccidiosis. Parasit Vectors. 2019; 12(1): 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3595-4>
25. Habibian Dehkordi S, Rajaei K, Pirali K, Azizi HR. Evaluation of lethal effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Achillea talagonica* on the *Eimeria maxima* oocysts in vitro. 2017; 11(1):16-23.
26. Khoshnejad A, Yakhchali M, Malekifard F. Effects of plant extracts of *Camellia sinensis* and *Thymus vulgaris* on sporulation of *Eimeria* oocysts of broiler excreta under laboratory conditions. Iranian Journal of Animal Science. 2023; 54 (1): 93-104. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2022.337665.653892>
27. Rahimi-Esboei B, Gholami SH, Azadbakht M, Ziaei H. Effect of hydroalcoholic extract of *Artemisia annua* on cysts of *Giardia lamblia* in vitro. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2012; 22 (90): 71-80. (In Persian)
28. Shahabi S, Ayazi Roozbehani F, Kamalnejad M, Abadi A. Anti-*Giardia* Activity of *Carum copticum* on *Giardia lamblia* cysts in vitro. Research in Medicine, 2008; 32(4): 303-307. (In Persian) <http://pejouhesh.sbm.ac.ir/article-1-556-en.html>
29. Farsangi M. Killing effect of *Zartaria multiflora* on cysts of *Giardia lamblia* in vitro. J Clin Microbiol. 2001; 4: 88-95.
30. Drăgan L, Györke A, Ferreira JFS., Pop IA, Dunca I, Drăganet AI. Effects of *Artemisia annua* and *Foeniculum vulgare* on chickens highly infected with *Eimeria tenella* (Phylum Apicomplexa). Acta Vet Scand. 2014; 22(1): 1-7. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-56-22>
31. Majd A, Mehrabian S, Jafari Z. The antimicrobial effect of different parts of *Urtica dioica*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2003; 19(2): 287-312.
32. Gonzales-Rivera ML, Barragan-Galvez JC, Gasca-Martinez, D, Isordia-Espinoza, M, Alonso-Castro, AJ. In vivo neuropharmacological effects of Neophytadiene. Molecules. 2023; 28(8): 3457. <https://doi.org/10.3390/molecules28083457>
33. Sefidkon, F. Essential oil content and chemical composition of *Foeniculum vulgare* Mill. At different stage of plant growth. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 2001; 10(1): 85-104.
34. Badirzadeh A, Heidari-Kharaji M, Falah-Omrani V, Dabiri H, Araghi A, Salimi Chirani A. Antileishmanial activity of *Urtica dioica* extract against zoonotic cutaneous leishmaniasis. PLoS Negl Trop Dis. 2020; 14(1): p.e0007843. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007843>
35. Rahman B, Begum T, Sarker YA, Quamrul H, Saha S, Sikder MH, et al. Comparative efficacy of alcoholic extracts of black Peppers (*Piper nigrum*) and Chutra leaves (*Urtica dioica*) with Esb3 against coccidiosis in chickens. Research

in Agriculture Livestock and Fisheries. 2015; 2(1): 117-124.

36. Bozkurt M, Giannenas I, Küçükyılmaz K, Christaki E, Florou-Paneri P. An update on approaches to controlling coccidia in poultry using botanical extracts. Br Poult Sci. 2013; 54(6): 713-727. <https://doi.org/10.1080/00071668.2013.849795>

37. McDougald LR. Coccidiosis. In: Saif YM. Disease of poultry. 11th ed. Affiliate East West press Pvt. Ltd, New Delhi, India. 2003; p. 974-991.