

اثر افزودن عصاره آبی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) در آب آشامیدنی

بر عملکرد تولیدی و پاسخ‌های ایمنی در جوجه‌های گوشتی

ندا فرزانه^۱، مهرداد محمدی^{۲*} و محمد روستائی علی‌مهر^۳

۱، ۲ و ۳. کارشناس ارشد و دانشیاران، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۹/۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۳/۶)

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر افزودن مقادیر صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی در یک لیتر آب آشامیدنی، بر عملکرد تولیدی و پاسخ ایمنی در جوجه‌های گوشتی، با استفاده از ۲۰۰ قطعه جوجه یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۱۰ مشاهده در هر تکرار اجرا شد. مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک اندازه‌گیری شد. پاسخ ایمنی هومورال با اندازه‌گیری عیار آنتی‌بادی سرم در ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی در واکنش به تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر گلوبول قرمز گوسفندی (SRBC) در ۸ و ۲۲ روزگی ارزیابی شد. پاسخ ایمنی سلولی با تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر فیتوهمگلوتنین به صورت داخل جلدی به چین پوستی بال در ۱۶ روزگی تعیین شد. اثر عصاره بر مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل خوراک و اجزای لاشه جوجه‌های گوشتی معنادار نبود. در ۲۱ روزگی مصرف ۲ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی در یک لیتر آب آشامیدنی باعث افزایش عیار Anti-SRBC کل و IgM شد؛ در ۲۸ روزگی تیمارهای ۱ و ۱/۵ میلی‌لیتر عصاره باعث افزایش IgM شدند؛ در ۳۵ روزگی تیمارهای ۰/۵، ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر عصاره باعث افزایش عیار Anti-SRBC کل و IgG و در ۴۲ روزگی تیمارهای ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر عصاره باعث افزایش IgG شدند ($P < 0/05$). سیستم ایمنی سلولی در پاسخ به تزریق فیتوهمگلوتنین تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن عصاره آبی آویشن شیرازی در آب آشامیدنی بر عملکرد و سیستم ایمنی سلولی جوجه‌های گوشتی تأثیری ندارد، ولی سیستم ایمنی هومورال را بهبود می‌بخشد.

واژه‌های کلیدی: جوجه‌های گوشتی، سیستم ایمنی، عصاره آویشن شیرازی، عملکرد تولیدی.

مقدمه

با آشکار شدن عوارض جانبی ناشی از استفاده بی‌رویه مواد شیمیایی و به‌خصوص آنتی‌بیوتیک‌ها در پرورش طیور، هشدارهای جهانی درباره قطع یا کاهش استفاده از آن‌ها در جیره‌های غذایی طیور بیشتر شده است (Norizadeh et al., 2006). با وجود تمامی آثار مثبت

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که بقایای آنتی‌بیوتیک‌های موجود در لاشه طیور، به ایجاد سویه‌های مقاوم در انسان انجامیده است. بنابراین محققان درباره موادی چون اسیدهای آلی، عصاره‌های گیاهی، پروبیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره‌های طیور،

این تحقیق بررسی اثر عصاره آبی گیاه آویشن شیرازی بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال است.

مواد و روش‌ها

برای این تحقیق ۲۰۰ قطعه جوجه یک‌روزه (به‌صورت مخلوط دو جنس) از سویه راس ۳۰۸ بر اساس طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۱۰ مشاهده در هر تکرار استفاده شدند. عصاره آبی آویشن شیرازی از مرکز باغ گیاهان دارویی همدان وابسته به جهاد کشاورزی تهیه شد. فنل کل این عصاره ۲/۲۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره بر حسب گالیک اسید و فلاونوئید کل آن ۱۲/۹۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره بر حسب کاتچین است. آب‌خوری در کل دوره پرورش از نوع کله‌قندی بود که پس از دو هفته ارتفاع آن با توجه به شرایط پرورش در قفس، با در نظر گرفتن افزایش سن پرنده تنظیم شد. گروه اول از آب آشامیدنی فاقد عصاره استفاده کردند (شاهد) و به یک لیتر آب آشامیدنی گروه‌های دوم تا پنجم به ترتیب ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی اضافه شد. همه شرایط محیطی از قبیل درجه حرارت، رطوبت، برنامه واکسیناسیون و نوردهی برای تمام گروه‌ها در طول دوره پرورش یکسان بود. در تمام طول دوره جوجه‌ها آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. جیره‌های غذایی جوجه‌ها با توجه به ترکیب مواد خوراکی پیشنهادی انجمن تحقیقات ملی و با استفاده از احتیاجات غذایی سویه راس-۳۰۸ تهیه شدند (جدول ۱). در پایان هر هفته مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. برای ارزیابی پاسخ‌های سیستم ایمنی هومورال، ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون ۲۵ درصد گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در بافر فسفات سالین (PBS) در شرایط استریل تهیه و در روزهای ۸ و ۲۲ دوره پرورش در ماهیچه سینه تمام جوجه‌ها تزریق شد (Grasman, 2014). در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ دوره پرورش از طریق ورید بال خون‌گیری انجام گرفت. بعد از لخته‌شدن خون، سرم به کمک سانتریفیوژ جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تعیین عیار پادتن کل و IgG علیه گلبول قرمز گوسفندی، با روش هم‌آگلوتیناسیون انجام پذیرفت (Grasman, 2014).

به آزمایش پرداخته‌اند (Norizadeh et al., 2006). از مهم‌ترین جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در صنعت طیور می‌توان به گیاهان دارویی اشاره کرد (Allen, 2003). نتایج تحقیقات حاکی از آن است که استفاده از گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها که تحت عنوان کلی مکمل‌های غذایی فیتوژنیک شناخته می‌شوند، منجر به بهبود مصرف خوراک، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، افزایش ماندگاری، بهبود وضعیت سلامتی و عملکرد دستگاه گوارش طیور شده و تأثیرات آن‌ها با آنتی‌بیوتیک‌ها قابل‌مقایسه است (Griggs & Jacob, 2005). آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora Boiss* از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است. از نام‌های دیگر این گیاه آفشن، آویشم و آبن شیرازی است. این گیاه بوته‌ای، دارای ساقه‌های متعدد، نازک، سخت و بسیار منشعب، به ارتفاع ۴۰ تا ۸۰ سانتی‌متر و به رنگ سبز متمایل به سفید یا کمی متمایل به قهوه‌ای و معطر است. گیاه آویشن شیرازی از نظر جغرافیایی تنها در ایران، پاکستان و افغانستان می‌روید (Zargari, 1997). آویشن حاوی ترکیبات مشتق‌شده از فنیل پروپان (کافئیک اسید) است. از مهم‌ترین ترکیبات مؤثره آویشن شیرازی، تیمول، کارواکرول و پاراسایمن را می‌توان نام برد. ترکیبات دیگر آن شامل لینالول، سیمن، تیمن و آلفاپینن و سینئول است (Park et al., 2008; Zargari, 1997). تیمول و کارواکرول از ترکیبات مؤثر در عصاره آویشن شیرازی هستند که بر تولید اسید نیتریک و هیدروژن پراکسید در سلول زنده اثر مهارکنندگی قوی دارند و همچنین روی فعالیت آنزیم‌هایی چون نیتریک اکسید سنتاز (NOS) و اکسیداز NADH (NOX) در ماکروفاژها مؤثرند (Buyukbalci & Ei, 2008; Zheng & Wang, 2001). تیمول و کارواکرول که از ترکیبات اصلی گیاه آویشن شیرازی هستند، خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند (Saleem et al., 2004). آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق تقویت سیستم دفاعی بدن علیه تنش‌های اکسیداتیو و همچنین جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌های غشا و حفظ سیالیت غشای سلول، از تضعیف سیستم ایمنی بدن جلوگیری می‌کنند (Bendich, 1993). هدف از

بافر فسفات سالین به چین پوستی بال راست جوجه‌ها تزریق شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سالین به‌عنوان شاهد به چین پوستی بال چپ تزریق شد. ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق، ضخامت پوست بال با دستگاه میکرومتر (با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) اندازه‌گیری شد. شاخص تحریک میتوژن از تفاضل ضخامت محل تزریق بافر فسفات سالین و ضخامت محل تزریق فیتوهمگلوتنین محاسبه شد (Grasman, 2014). در پایان هر دوره جوجه‌ها توزین و میانگین وزن بدن برای هر تکرار محاسبه شد. در پایان دوره از هر تکرار ۲ جوجه انتخاب و پس از توزین با ترازوی دیجیتال (حساسیت ۰/۱ گرم) برای بررسی خصوصیات کشتار شدند. صفات لاشه شامل وزن لاشه، وزن سینه، وزن ران، وزن کبد، وزن بورس و وزن تیموس در آن‌ها اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و رویه GLM بر اساس مدل آماری $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ تجزیه و تحلیل شدند. در این رابطه Y_{ij} مشاهده مربوط به صفت، μ میانگین صفت، T_i اثر تیمار و e_{ij} اثر باقی‌مانده است. میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن با یکدیگر مقایسه شدند ($P < 0/05$).

نمونه‌ها پس از یخ‌گشایی، برای غیرفعال کردن سیستم کمپلمان ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به دو بخش تقسیم شدند. بخش اول برای تعیین عیار پادتن کل و بخش دوم برای تعیین عیار ایمونوگلوبولین G استفاده شد. برای غیرفعال کردن IgM و تعیین عیار IgG در بخش دوم نمونه‌ها، محلول ۱/۴ درصد ۲-مرکاپتواتانول (Sigma, St,) (Louis Mo, USA) در بافر فسفات به‌صورت ۱:۱ (حجمی) با سرم مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد (Grasman, 2014). شماره اولین گوده‌ای که ۵۰ درصد آگلوتیناسیون در آن صورت گرفته بود، بر اساس لگاریتم بر مبنای ۲ یادداشت شد. نتیجه مثبت وقتی است که حداقل در ۵۰ درصد از گوده‌های حاوی SRBC، آگلوتیناسیون مشاهده شود. از تفاضل عیار ایمونوگلوبولین G از عیار پادتن کل علیه گلبول قرمز گوسفندی، عیار ایمونوگلوبولین M به دست آمد. به‌منظور ارزیابی پاسخ ایمنی سلولی، در روز ۱۶ دوره پرورش، از هر تکرار ۲ پرنده انتخاب و بعد از شماره‌گذاری پا، نخست ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۱ میلی‌گرم فیتوهمگلوتنین (شرکت بهارافشان، ایران) در ۱ میلی‌لیتر

جدول ۱. اجزا و ترکیب شیمیایی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی

دوره‌های پرورش			ترکیب شیمیایی	دوره‌های پرورش			اجزای خوراک (درصد)
پایانی	رشد	آغازین		پایانی	رشد	آغازین	
۳۱۰۰	۳۰۰۰	۲۹۰۰	انرژی متابولیسم (Kcal/kg)	۴۹/۳۴	۵۰/۹۶	۵۰/۵۳	دانۀ ذرت
۱۸/۵	۲۰	۲۱	پروتئین %	۲۷/۷۹	۳۲/۱	۳۷/۵۲	کنجاله سویا (CP=۰/۴۴)
۰/۸۲	۰/۸۶	۱/۰۱	کلسیم %	۱۵	۱۰	۵	گندم
۰/۴۱	۰/۴۳	۰/۴۸	فسفر قابل جذب %	۳/۸۹	۲/۷۹	۲/۱۴	روغن سویا
۰/۶۷	۰/۷۰	۰/۷۵	پتاسیم %	۰/۹۷	۱/۰۱	۱/۲۳	کرینات کلسیم
۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۹	کلراید %	۱/۶	۱/۶۷	۱/۹	دی‌کلسیم فسفات
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	سدیم %	۰/۱	۰/۱	۰/۱	جوش شیرین
۱/۰۰	۱/۲۱	۱/۳۹	آرزنین %	۰/۳۲	۰/۳۳	۰/۳۴	نمک طعام
۱/۰۶	۱/۱۸	۱/۳۷	لیزین %	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی ^۱
۰/۸۳	۰/۹	۱/۰۳	متیونین + سیستئین %	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینی ^۲
۰/۱۷	۰/۱۹	۰/۲۳	تریپتوفان %	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۰۹	ترئونین
۰/۷۲	۰/۷۹	۰/۹۰	ترئونین %	۰/۲۵	۰/۲۷	۰/۳۶	دی ال متیونین
				۰/۱۹	۰/۲۱	۰/۲۹	ال لیزین هیدروکلراید

۱. هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی حاوی منگنز (اکسید منگنز ۰/۶۲) ۱۶ گرم، آهن (سولفات آهن ۰/۲۰) ۲۵ گرم، روی (اکسید روی ۰/۷۷) ۱۱ گرم، مس (سولفات مس ۰/۲۵) ۴ گرم، ید (کلسیم یدات ۰/۶۲) ۰/۱۶ گرم، سلنیوم ۰/۱ گرم است.

۲. هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی ویتامین A (۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی بر گرم) ۰/۴ گرم، ویتامین B_۱ (۰/۹۸/۸) ۰/۱۸ گرم، ویتامین B_۶ (۰/۹۸/۵) ۰/۳ گرم، ویتامین B_{۱۲} (۰/۱) ۰/۱۵ گرم، ویتامین D_۳ (۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی بر گرم) ۰/۴ گرم، ویتامین E (۵۰۰ واحد بین‌المللی بر گرم) ۳/۶ گرم، ویتامین K_۳ (۰/۵۰) ۰/۴ گرم، ویتامین B_۵ (۰/۸۰) ۰/۱۲۵ گرم، ویتامین B_۵ (۰/۹۹) ۳ گرم، ویتامین H_۲ (۰/۲) ۰/۵ گرم است.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های آغازین، رشد، پایانی و کل دوره تحت تأثیر سطوح مختلف عصاره آویشن شیرازی قرار نگرفت ($P > 0/05$) (جدول ۲). در تحقیق Lee *et al.* (2003) استفاده از ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از ترکیب تیمول و کارواکرول یا مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمول در جوجه‌های گوشتی ماده، تأثیری روی افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک نداشت. در مطالعه‌ای افزودن ۰/۲ درصد پودر خشک آویشن باغی به جیره جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ تفاوت معناداری در خوراک مصرفی ایجاد نکرد (Ocak *et al.*, 2008). گزارش شده است مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با جیره حاوی آویشن

باغی تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد (Toghyani *et al.*, 2010).

در پژوهش Sarica *et al.* (2005) نیز هیچ تغییری در افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در اثر افزودن پودر آویشن مشاهده نشد. گزارش شده است که استفاده از ترکیبات مؤثره در آویشن در جوجه‌های گوشتی تأثیر معناداری بر افزایش وزن و مصرف خوراک ندارد (Cross *et al.*, 2002). تحقیقات نشان داده است تأثیر فراورده‌های گیاهی بر بهبود صفات رشد و عملکرد جوجه‌های گوشتی یا مرغ‌های تخم‌گذار به اثر تحریکی این فراورده‌ها بر دستگاه گوارش و فرایند هضم، تحریک و تشدید ترشح آنزیم‌های گوارشی، افزایش کارایی استفاده از مواد مغذی خوراک، افزایش کارایی عملکرد کبد، بهبود عطر و طعم خوراک، روش و مدت‌زمان استفاده و غلظت مواد بستگی دارد (Grashorn, 2010).

جدول ۲. اثر سطوح مختلف عصاره آبی آویشن شیرازی بر مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک عصاره آبی آویشن شیرازی (میلی‌لیتر در یک لیتر آب آشامیدنی)

P-value	SEM	۲	۱/۵	۱	۰/۵	۰	دوره پرورش
مصرف خوراک روزانه (گرم در روز)							
۰/۹۱۰	۰/۴۴۷	۳۶/۹۰	۳۵/۷۸	۳۵/۶۱	۳۶/۵۰	۳۵/۹۶	آغازین (۱۴-۱)
۰/۳۴۹	۰/۷۶۳	۱۰۶/۵۱	۱۰۶/۰۶	۱۰۹/۷۳	۱۰۷/۴۱	۱۱۱/۳۶	رشد (۲۸-۱۵)
۰/۹۲۶	۰/۶۱۴	۱۷۰/۴۹	۱۷۰/۷۶	۱۷۰/۷۷	۱۷۰/۲۴	۱۷۲/۰۴	پایانی (۴۲-۲۹)
۰/۵۲۷	۰/۴۴۲	۱۰۴/۹۸	۱۰۴/۲۰	۱۰۵/۶۴	۱۰۴/۷۲	۱۰۶/۵۷	کل دوره (۴۲-۱)
افزایش وزن روزانه (گرم در روز)							
۰/۷۵۹	۰/۴۵۱	۲۷/۹۱	۲۶/۱۰	۲۶/۶۰	۲۶/۵۸	۲۷/۲۶	آغازین (۱۴-۱)
۰/۵۵۷	۰/۸۴۴	۶۳/۸۲	۶۳/۲۸	۶۵/۸۵	۶۲/۱۹	۶۶/۱۷	رشد (۲۸-۱۵)
۰/۵۴۶	۱/۰۱۳	۸۶/۱۲	۸۸/۹۳	۸۵/۳۹	۸۳/۲۲	۸۵/۱۹	پایانی (۴۲-۲۹)
۰/۵۷۹	۰/۴۶۵	۵۹/۲۸	۵۹/۴۴	۵۹/۲۱	۵۷/۳۳	۵۹/۵۴	کل دوره (۴۲-۱)
ضریب تبدیل خوراک							
۰/۳۹۴	۰/۰۱	۱/۳۲	۱/۳۷	۱/۳۵	۱/۳۸	۱/۳۲	آغازین (۱۴-۱)
۰/۳۷۵	۰/۰۱	۱/۶۷	۱/۶۸	۱/۶۶	۱/۷۲	۱/۶۸	رشد (۲۸-۱۵)
۰/۴۰۸	۰/۰۲	۱/۹۸	۱/۹۲	۲/۰۰	۲/۰۵	۲/۰۲	پایانی (۴۲-۲۹)
۰/۲۸۵	۰/۰۱	۱/۷۷	۱/۷۵	۱/۷۹	۱/۸۳	۱/۷۹	کل دوره (۴۲-۱)

جوجه‌های گوشتی بر وزن نسبی لاشه تأثیری ندارد (Ocak *et al.*, 2008). همچنین در تحقیق دیگری گزارش شده است که وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی در پرنده‌هایی که از ترکیبات تیمول و کارواکرول تغذیه می‌کنند، تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد

اثر تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد بر صفات لاشه معنادار نبود (جدول ۳)، اما بازده لاشه در تیمارهایی که ۱ و ۲ میلی‌لیتر عصاره دریافت کرده بودند، اختلاف معنادار داشت ($P < 0/05$). گزارش شده است که افزودن ۲ درصد برگ آویشن به جیره

نکردند. گزارش شده است که آویشن و آنتی‌بیوتیک روی وزن اندام‌های لنفی از قبیل بورس فابریسیوس و طحال در ۴۲ روزگی تأثیری ندارد (Toghyani *et al.*, 2010).

(Hashemipour *et al.*, 2013). در آزمایشی دیگر Rahimi *et al.* (2011) با مصرف ۱ درصد عصاره آویشن در آب آشامیدنی پرنده‌ها، تفاوت معناداری در وزن نسبی طحال و بورس فابریسیوس مشاهده

جدول ۳. اثر سطوح مختلف عصاره آبی آویشن شیرازی بر بازده لاشه و نسبت اجزای لاشه به وزن زنده (درصد)

P- value	SEM	۲ میلی‌لیتر عصاره	۱/۵ میلی‌لیتر عصاره	۱ میلی‌لیتر عصاره	۰/۵ میلی‌لیتر عصاره	شاهد	صفات
۰/۰۴۸	۰/۶۰۸	۶۸/۸۷ ^a	۶۶/۱۰ ^{ab}	۶۶/۲۵ ^b	۶۶/۴۳ ^{ab}	۶۶/۲۸ ^{ab}	بازده لاشه
۰/۲۹۲	۰/۴۴۴	۹۶/۲۹	۲۸/۰۲	۲۷/۶۰	۲۸/۴۷	۲۸/۱۹	سینه
۰/۴۲۰	۰/۲۰۹	۲۰/۸۵	۲۰/۰۱	۱۹/۹۱	۲۰/۲۵	۱۹/۶۵	ران
۰/۳۹۵	۰/۰۰۹	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۱۸	۰/۲۲	۰/۱۷	بورس فابریسیوس
۰/۵۹۵	۰/۰۲۷	۰/۴۶	۰/۵۶	۰/۴۱	۰/۴۸	۰/۴۲	تیموس
۰/۱۲۴	۰/۰۰۶	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۱۸	۰/۱۶	طحال
۰/۳۷۳	۰/۰۷۴	۲/۴۵	۲/۹۱	۲/۷۷	۲/۹۱	۲/۶۸	کبد

a-b تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف متفاوت معنادار است ($P < 0.05$).

پاسخ ثانویه و مقدار IgG افزایش می‌یابد. کاربردهای مداوم تیمول و کارواکرول در پرنده‌ها به‌طور بالقوه پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال را افزایش می‌دهند (Hashemipour *et al.*, 2013). نسبت هتروفیل به لنفوسیت در پرنده‌هایی که با جیره‌های حاوی تیمول و کارواکرول تغذیه شده بودند، کاهش یافته اما این جیره بر تعداد سلول قرمز خون، تعداد سلول سفید خون و غلظت هموگلوبین تأثیری ندارد (Hashemipour *et al.*, 2013). تزریق زیرپوستی ۲ گرم در کیلوگرم اسانس آویشن شیرازی در خرگوش تأثیرات تحریک‌کنندگی روی فاگوسیتوز آنتی‌ژن کاندیدا/آلبیکینس توسط نوتروفیل‌ها دارد و همچنین تعداد لنفوسیت‌ها و شاخص تحریک لنفوسیت‌ها در سیستم ایمنی هومورال در روش تزریق زیرپوستی در مقایسه با مصرف خوراکی اسانس آویشن شیرازی بیشتر است (Khosravi *et al.*, 2007).

در مرغ‌های تخم‌گذار استفاده از آویشن و ویتامین E در مقایسه با گروه شاهد موجب افزایش عیار آنتی‌بادی تولیدشده در نوبت دوم تزریق SRBC شد، اما آویشن تأثیر بیشتری از خود نشان داد (Bahrami *et al.*, 2011). تحقیق Mathivanan & Kalaiarasi (2007) نشان داد که گیاهان دارویی عیار آنتی‌بادی را

اثر سطوح مختلف عصاره آویشن شیرازی بر عیار Anti-SRBC کل، IgG و IgM در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی در جدول ۴ ارائه شده است. در ۲۱ روزگی تیماری که ۲ میلی‌لیتر عصاره دریافت کرده بود، باعث افزایش عیار Anti-SRBC کل و IgM شد ($P < 0.05$). در ۲۸ روزگی تیمارهای دریافت‌کننده ۱ و ۱/۵ میلی‌لیتر عصاره، باعث افزایش IgM شدند ($P < 0.05$). در ۳۵ روزگی تیمارهای دریافت‌کننده ۰/۵، ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر عصاره باعث افزایش عیار Anti-SRBC کل و IgG شدند ($P < 0.05$). در ۴۲ روزگی تیمارهای دریافت‌کننده ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر عصاره، عیار IgG را افزایش دادند ($P < 0.05$).

تحقیق Tollba *et al.* (2010) نشان داد که استفاده از عصاره آویشن در مرغان باعث افزایش گلوبولین می‌شود و سیستم ایمنی هومورال را تقویت می‌کند. گزارش شده است جوجه‌های گوشتی که در ۲۱ روزگی سطوح ۰/۲ و ۰/۶ درصد عصاره الکلی آویشن باغی را مصرف کرده بودند، بیشترین عیار آنتی‌بادی را علیه ویروس برونشیت نشان دادند و پاسخ ایمنی آن‌ها افزایش یافت (Abdulkarimi, 2011). تحقیقات نشان داده است در پرنده‌هایی که از جیره‌های حاوی تیمول و کارواکرول تغذیه کرده‌اند،

نیوکاسل و آنفلوآنزا در ۲۴ روزگی و SRBC در ۲۸ روزگی تأثیر معناداری ندارد (Toghyani *et al.*, 2010). گزارش شده است جوجه‌هایی که از جیره‌های حاوی ۰/۵، ۱ یا ۲ درصد برگ آویشن مصرف کردند عیار آنتی‌بادی بالاتری داشتند که علت آن را سطوح بالای آهن در برگ آویشن (۷۴۳ppm) و اثر آن بر انتقال اکسیژن مورد نیاز برای سنتز هموگلوبین می‌دانند (Radwan, 2003). گزارش شده است عصاره آویشن شیرازی تنفس هوازی نوتروفیل‌ها را در موش به دنبال تزریق درون صفاقی افزایش می‌دهد (Shah *et al.*, 2002). تزریق درون صفاقی اسانس آویشن شیرازی در موش نشان داد که فعالیت فاگوسیتوز افزایش یافته و سیستم ایمنی آن تقویت می‌شود (Shokri *et al.*, 2006).

بر ضد SRBC بیشتر از آنتی‌بیوتیک افزایش می‌دهند. گزارش شده است افزایش غلظت آویشن شیرازی باعث کاهش تعداد گلبول سفید، مونوسیت، نوتروفیل و ائوزونوفیل و افزایش تعداد لنفوسیت‌ها می‌شود (Boskabady & Gholami Mhtaj, 2014). با استفاده از ۲ درصد از مخلوط گیاهان دارویی آویشن، نعناع و مرزه در جیره‌های غذایی مرغ‌های تخم‌گذار، بهبود عملکرد پارامترهای خونی و ایمنی گزارش شده است (Beheshti Khajeh & Nobakht, 2010). در پژوهشی Ghasemi *et al.* (2010) کاهش درصد هتروفیل‌ها و افزایش درصد لنفوسیت‌ها در خون مرغ‌های تخم‌گذار را با استفاده ۰/۲ درصدی از مخلوط گیاهان سیر و آویشن گزارش کردند. تحقیقات نشان داده است که آویشن و آنتی‌بیوتیک روی عیار آنتی‌بادی علیه

جدول ۴. اثر سطوح مختلف عصاره آویشن شیرازی بر عیار Anti-SRBC کل، IgG و IgM در ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی

کل Anti-SRBC				
۲۱ روزگی	۲۸ روزگی	۳۵ روزگی	۴۲ روزگی	تیمار
۳/۳۸ ^b	۳/۷۵	۳/۷۵ ^b	۳/۳۸	شاهد
۳/۵۰ ^b	۵/۶۳	۵/۶۳ ^a	۴/۲۵	۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۴/۱۳ ^{ab}	۵/۳۷	۴/۶۳ ^{ab}	۳/۸۸	۱ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۳/۷۵ ^b	۵/۸۹	۵/۳۸ ^a	۴/۳۸	۱/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۴/۶۳ ^a	۵/۶۳	۶/۰۰ ^a	۴/۵۰	۲ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۰/۱۶۱	۰/۲۴۸	۰/۲۴۱	۰/۱۴۱	SEM
۰/۰۲	۰/۱۲۵	۰/۰۳	۰/۰۷۹	P- value
IgG				
۲/۱۳	۲/۲۵	۲/۱۳ ^c	۲/۰۰ ^b	شاهد
۲/۲۵	۳/۶۳	۳/۱۳ ^{ab}	۲/۶۳ ^{ab}	۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۲/۶۲	۳/۰۰	۲/۸۷ ^{bc}	۲/۳۸ ^{ab}	۱ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۲/۵۰	۳/۶۳	۳/۲۵ ^{ab}	۲/۸۸ ^a	۱/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۲/۷۵	۴/۰۰	۴/۰۰ ^a	۳/۱۳ ^a	۲ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۰/۱۰۷	۰/۱۹۷	۰/۱۷۳	۰/۱	SEM
۰/۱۲۵	۰/۱۳۴	۰/۰۵	۰/۰۳۲	P- value
IgM				
۱/۲۵ ^b	۱/۵۰ ^c	۱/۶۳	۱/۳۸	شاهد
۱/۲۵ ^b	۲/۰۰ ^{abc}	۲/۵۰	۱/۶۳	۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۱/۵۰ ^{ab}	۲/۳۸ ^a	۱/۷۵	۱/۵۰	۱ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۱/۲۵ ^b	۲/۲۵ ^{ab}	۲/۱۳	۱/۵۰	۱/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۱/۸۸ ^a	۱/۶۳ ^{bc}	۲/۰۰	۱/۳۸	۲ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن شیرازی
۰/۱۰۷	۰/۱۰۷	۰/۱۲۹	۰/۱۰۱	SEM
۰/۰۴۷	۰/۰۳۹	۰/۳۷۲	۰/۹۲۷	P- value

a-c تفاوت ارقام در هر ستون با حروف متفاوت معنادار است (P<۰/۰۵).

تقسیم سلول T با تأثیرات کمتری روی سلول‌های B است (Tizard, 1995). مطالعات نشان می‌دهد که لوتئولین موجود در آویشن شیرازی روی TNF- α اثر مهارکنندگی دارد و تولید IL-8 را در سلول‌های اپیتلیال روده تحریک می‌کند. IL-8 نقش اصلی را در شروع و حفظ پاسخ‌های التهابی در انسان ایفا می‌کند. ترکیب آپی‌ژنین در آویشن شیرازی تکثیر و مرگ سلول‌های T را مهار می‌کند (Kim et al., 2005).

نتایج حاصل از اثر سطوح مختلف عصاره آویشن شیرازی بر پاسخ ایمنی سلولی در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج تجزیه داده‌های مربوط به حساسیت پوستی به فیتوهماگلوئین نشان داد که تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد بر ایمنی سلولی اثر معناداری نداشتند ($P > 0.05$). هنگامی که فیتوهماگلوئین به روش داخل پوستی در حیوانات تزریق می‌شود، پاسخ اولیه شامل تحریک

جدول ۵. اثر سطوح مختلف عصاره آبی آویشن شیرازی بر پاسخ پوست بال به تزریق داخل پوستی فیتوهماگلوئین

شاخص تحریک بعد از ۴۸ ساعت (mm)	شاخص تحریک بعد از ۲۴ ساعت (mm)	تیمار
۰/۳۲	۰/۴۵	شاهد
۰/۴۰	۰/۵۵	۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن
۰/۴۱	۰/۵۱	۱ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن
۰/۳۰	۰/۴۷	۱/۵ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن
۰/۲۵	۰/۴۸	۲ میلی‌لیتر عصاره آبی آویشن
۰/۰۲۸	۰/۰۳۵	SEM
۰/۱۹۳	۰/۱۹۲۰	P- value

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این تحقیق، افزودن عصاره آویشن شیرازی به آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی، بر عملکرد و ایمنی سلولی تأثیری ندارد ولی سطح ۱/۵ میلی‌لیتر عصاره آویشن شیرازی در ۱ لیتر آب آشامیدنی باعث بهبود ایمنی هومورال می‌شود.

در پژوهشی نشان داده شد که گیاه آویشن شیرازی بر ایمنی ذاتی موش به‌واسطه افزایش فعالیت بیگانه‌خواری روی ترشح TNF- α اثر می‌گذارد (Shokri et al., 2006). گزارش شده است که استفاده از مخلوط آویشن، گزنه، پونه و کاکوتی تأثیر معناداری بر ایمنی سلولی مرغ‌های تخم‌گذار نداشت (Seyed Piran et al., 2011).

REFERENCES

1. Abdulkarimi, R. (2011). Immune response of broiler chickens supplemented with Thyme extract (*Thymus vulgaris*) in drinking water. *Annals of Biological Research*, 2 (6), 208-212.
2. Allen, P.C. (2003). Dietary supplementation with *Echinacea* and development of immunity to challenge infection with coccidian. *Parasitol Reserch*, 91(1), 74-78.
3. Bahrami, M., Shariatmadari, F. & Karimi Torshizi, M. A. (2011). The effect use of plant extracts of *Thymus vulgaris*, vitamin E and dietary fat on serum and egg yolk cholesterol levels and the immune system in laying hens under conditions of thermal stress. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. 27 (2), 326 -337. (in Farsi)
4. Beheshti Khajeh, D. & Nobakht, A. (2010). Investigation the effects of using different mixtures of peppermint (*Mentha piprita*), thyme (*Thymus vulgaris*) and saturea (*Satureia hortensis*) medicinal plants on performance, egg quality, blood and immunity parameters of laying hens. Proceedings of the 4th Iranian Congress on Animal Science, 790-797. (in Farsi)
5. Bendich, A. (1993). Physiological role of antioxidants in the immune system. *Journal of Dairy Science*, 76(9), 2789-2794.
6. Boskabady, M. H. & Gholami Mhtaj, L. (2014). Effect of the *Zataria multiflora* on systemic inflammation of experimental animals model of COPD. *Bio Medical Research International*, 9 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/802189>.

7. Buyukbalci, A. & Ei, S. N. (2008). Determination of *in vitro* antidiabetic effects, antioxidant activities and phenol contents of some herbal teas. *Plant Foods Human Nutrition*, 63, 27-33.
8. Cross, D. E., Acamovic, T., Deans, S. G. & McDevitt, R. M. (2002). The effect of dietary inclusions of herbs and their volatile oils on the performance of growing chickens. *British Journal Poultry Science*, 43, 33-35
9. Ghasemi, R., Zarei, M. & Torki, M. (2010). Adding medicinal herbs including garlic (*Allium sativum*) and thyme (*Thymus vulgaris*) to diet of laying hens and evaluating productive performance and egg quality characteristics. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 5, 151-154.
10. Grashorn, M. A. (2010). Use of phytobiotics in broiler nutrition-an alternative to infeed production. *Journal of Applied Poultry Research*, 17, 750-756.
11. Grasman, K.A. (2010). In vivo functional test for assessing immunotoxicity in birds. Immunotoxicity testing: Methods and protocols, Methods in Molecular Biology. Humana Press Product, 387-397.
12. Griggs, J. P. & Jacob, J. P. (2005). Alternatives to antibiotics for organic poultry production. *Journal of Applied Poultry Research*, 17, 750-756.
13. Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A. & Veldkamp, T. (2013). Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. *Poultry Science*, 92, 2059-2069.
14. Khosravi, A. R., Franco, M., Shokri, H. & Yahyaraeyat, R. (2007). Evaluation of the effects of *Zataria multiflora* Boiss, *Geranium pelargonium*, Myrth and Lemon essences on immune system function in experimental animals. *Journal of Veterinary Reserch*, 62 (4), 119-123.
15. Kim, J. A., Kim, D. K., Kang, O. H., Choi, Y. A., Park, H. J. & Choi, S. C. (2005). Inhibitory effect of luteolin on TNF-alpha-induced IL-8 production in human colon epithelial cells. *International Immunopharmacology*, 5, 17-209.
16. Lee, K.W., Kappert, H. J., Frehner, M., Losa, R. & Beynen, A. C. (2003). Effects of dietary essential oil components on growth performance digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British Poultry Science*, 44, 457-450.
17. Mathivanan, R. & Kalaiarasi, K. (2007). Panchagavya and andrographis paniculata as alternatives to antibiotic growth promoters on hematological, serum biochemical parameters and immune status of broilers. *Poultry Science*, 44, 198-204.
18. Norzadeh, A., Gasemi, T. & Razavi, M. (2006). Investigation the antibacterial effects of *Prunella vulgaris*, *Zataria multiflora* Boiss, *Glycyrrhizę glabra*, *Mentha pulegium*, *Matricaria chamomilla* and *Satweia hurtensis* extracts. *Journal of Danishvar*, 67-72. (in Farsi)
19. Ocak, N., Erener, F., Burak, A. K., Sungu, M., Altop, A. & Ozmen, A. (2008). Performance of broilers fed diets supplemented with dry peppermint (*Mentha piperita* L.) or thyme (*Thymus vulgaris* L.) leaves as growth promoter source. *Czech Journal of Animal Science*, 53, 169-175.
20. Park, S. U., Uddin, M. R., Xu, H., Kim, Y. K. & Lee, S. Y. (2008). Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant. *African Journal of Biotechnology*, 7, 4959-4965.
21. Radwan Nadia, L. (2003). *Effect of using some medicinal plants on performance and immunity of broiler chicks*. Ph.D. Thesis, Poultry. Nutrition. Department. Faculty of Agriculture. Cairo University.
22. Rahimi, S., Teymouri Zadeh, Z., Karimi Torshizi, M. A., Omidbaigi, R. & Rokni, H. (2011). Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13, 527-539.
23. Saleem, M., Nazli, R., Afza, N. A. M. & Sami, A. S. (2004). Biological significance of essential oil of *Zataria boiss multiflora* (*Shirazi oregano essence*) on Enterobacteriaceae species. *Research Journal of Biological Science*, 18, 6- 493.
24. Sarica, S., Ciftci, A., Demir, E., Kilinc, K. & Yildirim, Y. (2005). Use of an antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives with and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. *South African Journal of Animal Science*, 35 (1), 61- 72.
25. Shah, V., Bayeta, E. & Lau, B. H. S. (2002). Pycnogenol augments macrophage phagocytosis and cytokine secretion. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1 (5), 196- 201.
26. Shokri, H. Asadi, F., Bahonar, A. R. & Khosravi, A. R. (2006). The role of *Zataria Multiflora* essence Iranian herb on innate immunity of animal model. *Iranian Journal of Immunology*, 3(4), 164-168. (in Farsi)
27. Seyed Piran, S. A., Nobakht, A. & Khodie, S. (2011). Effects use of probiotics and organic acids herb mixture on performance, egg quality and blood biochemical and immunity parameters of laying hens. *Journal of Veterinary Medicine*, Islamic Azad University of Tabriz, 17, 1111-1122. (in Farsi)

28. Tizard, I. R. (1995). *Immunology: An Introduction*. Saunders College Publishing, Philadelphia, New York, London.
29. Tollba, A. A. H., Shabaan, S. A. M. & Abdel-Mageed, M. A. A. (2010). Effect of using aromatic herbal extract and blended with organic acids on productive and physiological performance of poultry. 2- The growth during cold winter stress. *Egyptian Poultry Science Journal*, 30, 229- 248.
30. Toghyani, M., Tohidi, M. Gheisari, A. A. & Tabeidian, S. A. (2010). Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. *African Journal of Biotechnology*, 9 (40), 6819-6825. (in Farsi)
31. Zargari, A. (1997). *Herb*, Sixth Edition, *Institute of Tehran University Publications and Printing*, pp. 947. (in Farsi)
32. Zheng, W. & Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 5165-5170.

Effect of inclusion of Shirazi thyme (*Zataria multiflora* Boiss) aqueous extract in drinking water on performance and immune responses of broilers

Neda Farzanfar¹, Mehrdad Mohammadi^{2*} and Mohammad Roostaie Ali-Mehr³

1, 2, 3. Former Graduate Student and Associated Professors, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Iran

(Received: Nov. 30, 2014 - Accepted: May 27, 2015)

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of 0 (control), 0.5, 1, 1.5 and 2 ml/L of Shirazi thyme aqueous extract in drinking water on performance and immune response in broilers. Two hundred one-day-old broiler chicks (Ross 308) were allocated to five treatments with four replicates and 10 birds per cage in a completely randomized design. Daily feed intake, daily body weight gain and feed conversion ratio were measured. The birds were challenged by sheep red blood cell (SRBC) on days 8 and 22 of age and serum antibody levels produced in response to SRBC were measured on days 21, 28, 35 and 42. Skin response to Phytohemagglutinin-P (PHA-P) injection was assessed intradermally on day 16. The Shirazi thyme aqueous extract had no effect on feed intake, daily weight gain, feed conversion ratio and carcass traits. The consumption of 2 ml/L Shirazi thyme aqueous extract in drinking water increased total Anti-SRBC and IgM titers on day 21; 1 and 1.5 ml/L increased IgM titer on day 28; 0.5, 1.5 and 2 ml/L increased total Anti-SRBC and IgG titers on day 35 and 1.5 and 2 ml/L increased IgG titer on day 42 ($P < 0.05$). Cell immunity in response to PHA-P injection was not affected by treatment groups. It can be concluded that *Zataria multiflora* Boiss have no effects on performance and cell immunity but improve humoral immunity in broilers.

Keywords: broilers, immune system, performance, *Zataria multiflora* Boiss extract.