JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره دوازدهم، شماره دوم، ۱۳۹۵، پیاپی ۳۳: ۲۲-۱۳

اثر دانه گیاه خار مریم بر سیستم ایمنی هومورال و شمار باکتری‌های مفید و مضر دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی

میثم جعفری[۱]، رضا نقی‌ها[۲،*]، سیامک پارسایی[۲] و مهرداد معمار[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۹ خرداد ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش ۲۵ مهر ۱۳۹۴

چکیده

این پژوهش برای بررسی اثر سطوح مختلف دانه خارمریم بر میکروفلور روده و سامانه ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شد. پژوهش کنونی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار، ۴ تکرار و ۲۰ جوجه در هر تکرار انجام شد. جیره‌های آزمایشی شامل: جیره پایه بدون افزودن پودر دانه خارمریم، جیره پایه دارای ۰/۲ درصد پودر دانه خارمریم، جیره پایه دارای ۰/۴ درصد پودر دانه خارمریم و جیره پایه دارای ۰/۶ درصد پودر دانه خارمریم بودند. برای بررسی کارایی سامانه ایمنی با تزریق یاخته‌های قرمز گوسفند به عنوان پادگن، پاسخ ایمنی به روش هماگلوتاسیون ارزیابی و وزن نسبی اندام‌های ایمنی شامل بورس فابرسیوس و طحال اندازه‌گیری شد. همچنین در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی شمار دو گروه از باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *لاکتوباسیلوس* مورد بررسی قرار گرفتند. ایمنوگلوبولین کل خون تیمارهای دریافت‌کننده ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد خارمریم نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشتند. تیمار دریافت کننده ۰/۶ درصد خارمریم افزایش معنی‌داری در IgY نسبت به تیمارهای شاهد و ۰/۲ درصد خارمریم نشان داد. همچنین همه تیمارهای دارای خارمریم نسبت به تیمار شاهد دارای IgM بالاتری بودند. نتایج نشان داد که شمار باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* در تیمارهای ۰/۴ و ۰/۶ درصد خارمریم نسبت به تیمار شاهد در ۲۱ روزگی به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$). در ۲۱ روزگی شمار باکتری‌های *اشریشیا کلی* در تیمارهای دریافت کننده ۰/۴ و ۰/۶ درصد خارمریم نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری داشت.

کلمات کلیدی: جوجه‌های گوشتی، خارمریم، سامانه ایمنی، فلور میکروبی

* نویسنده مسئول: رضا نقی‌ها

آدرس: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران. تلفن: ۰۹۱۶۳۲۱۰۸۶۸

پست الکترونیک: Naghiha@yu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

گیاهان دارویی و دیگر افزودنی‌های خوراکی مانند پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و آنزیم‌ها کاربردهای گوناگون و روزافزونی برای درمان برخی بیماری‌ها و ناهنجاری‌ها دارند. همچنین، این افزودنی‌ها به‌طور گسترده در پرورش طیور مورد استفاده قرار می‌گیرند. بیشترین کاربرد این افزودنی‌ها برای افزایش بازده غذایی، بهبود عملکرد، افزایش کارآیی سامانه ایمنی و سلامت طیور گزارش شده است (۲۲). یکی از این گیاهان دارویی خارمریم است. قسمت‌های مختلف این گیاه دارای تانن (ماده‌ای با مزه تلخ)، رزین و دانه آن دارای یک ماده روغنی بنام آمیدون و مواد آلبومینوئیدی می‌باشد. پژوهش‌های اخیر وجود ماده‌ای بنام سینسین (Cenicine) را در برگ‌ها و ماده تایرامین (Tyramine) را در دانه‌های آن ذکر کرده‌اند (۱۰). میوه‌های این گیاه دارای گروهی از ترکیبات فلاونوئیدی است که سیلی‌مارین (Silymarin) نامیده می‌شود. سیلی‌مارین از فلاونوئیدهای گوناگونی تشکیل شده‌است (۲۰). پژوهش‌ها نشان داده که سیلی‌مارین روی حرکت نوتروفیل‌های تحریک نشده و بر فعالیت‌های کموتاکتیک و فاگوسیتیک، هیچ تأثیری ندارد. اما وقتی که نوتروفیل‌ها تحریک می‌شوند، سیلی‌مارین از آزاد شدن میلوپراکسیداز آن‌ها جلوگیری می‌کند (۱۶). ترکیبات فنلی موجود در گیاهان و غذاها از راه تغییر جمعیت میکروبی روده به صورت افزایش باکتری‌های سودمند مانند *بیفیدوباکتریوم‌ها* و *لاکتوباسیلوس‌ها* و کاهش باکتری‌های زیان‌بار مانند *کلستریدیوم‌ها* اهمیت زیادی دارند (۱۷). باکتری‌های روده پیامدهای مهمی بر عملکرد سد مخاطی و بلوغ روده داشته و برای تکامل بافت لنفی ضروری می‌باشند. کمبود یا نبود این باکتری‌ها موجب نقص در عملکرد سد روده‌ای و کاهش پاسخ IgA می‌شود (۱۸). هدف از این پژوهش بررسی تأثیر پودر گیاه دارویی خارمریم بر تعداد پرگنه‌های باکتری‌های *لاکتوباسیل* و تعداد پرگنه باکتری *اشریشیا کلی* و هم‌چنین تأثیر این گیاه بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایش روی ۳۲۰ قطعه جوجه گوشتی (سویه کاب ۵۰۰) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر واحد آزمایشی انجام شد. تیمارهای آزمایشی به کار رفته در این پژوهش عبارت بودند از: تیمار (۱): جیره پایه بدون پودر دانه خارمریم (شاهد). تیمار (۲): جیره پایه + ۰/۲ درصد پودر دانه خارمریم. تیمار (۳): جیره پایه + ۰/۴ درصد پودر دانه خارمریم. تیمار (۴): جیره پایه + ۰/۶ درصد پودر دانه خارمریم. طی دوره پرورش، آب و غذا به صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. ترکیب جیره آغازین و پایانی در جدول ۱ و ترکیب مواد مغذی جیره آغازین و پایانی در جدول ۲ آورده شده است.

در این پژوهش برای بررسی کارایی سامانه ایمنی با تزریق یاخته‌های قرمز گوسفند (SRBC) به عنوان پادتن، پاسخ ایمنی به روش هماگلوتاسیون ارزیابی شد. برای جداسازی گلبول‌های قرمز گوسفند، از سیاهرگ وداج یک رأس گوسفند خون‌گیری و به لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA انتقال یافتند. گلبول‌های قرمز سه مرتبه در بافر فسفات سالین، شستشو داده و سپس سوسپانسیون ۳٪ از SRBC آماده گردید. در روزهای ۲۸ و ۳۵ دوره آزمایش، از هر تکرار دو جوجه با جنس‌های متفاوت گزینش و ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون ۳٪ گلبول‌های قرمز گوسفند به سیاهرگ بال جوجه‌ها تزریق گردید. در ۴۲ روزگی از جوجه‌ها نمونه خون گرفته شد و سرم خون جدا گردید. پس از آن میزان

Archive of SID

www.SID.ir

پادتن نمونه‌ها در پاسخ به SRBC به روش شیما و همکاران (۵) تعیین شد.

برای اندازه‌گیری عیار پادتن تام، پادتن‌های مقاوم به ۲-مرکاپتو اتانول (IgY) و پادتن‌های حساس به ۲-مرکاپتواتانول (IgM)، کمپلمان موجود در نمونه‌های سرم خون با قرار گرفتن در حمام آب داغ ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه غیرفعال شدند. برای اندازه‌گیری عیارپادتن به تمامی چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه مخصوص HI، پنجاه میکرولیتر بافر فسفات سالین اضافه شد. سپس در چاهک‌های ستون اول ۵۰ میکرولیتر نمونه سرم مورد آزمایش افزوده و رقت‌های سریالی از ۱/۲ تا ۱/۲۰۴۸ از سرم تهیه شد. به تمامی چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون ۲٪ از SRBC اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند. شماره آخرین چاهکی که واکنش هماگلوتیناسیون را نشان داد، ثبت و عیار تولید پادتن تام بر اساس لگاریتم پایه دوم بالاترین رقتی که هماگلوتیناسیون کامل را نشان داد، گزارش گردید. برای تعیین عیار پادتن حساس به مرکاپتواتانول، ۵۰ میکرولیتر نمونه سرم غیرفعال شده در داخل چاهک ردیف اول ریخته و ۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۰۱ مولار مرکاپتواتانول (مرک، آلمان) در بافر فسفات سالین به تمامی چاهک‌ها اضافه شد. محتویات چاهک اول به خوبی مخلوط شد و ادامه مراحل مشابه پادتن تام انجام شد. عیار تولید پادتن مقاوم به مرکاپتواتانول (IgY) بر اساس لگاریتم پایه دوم بالاترین رقتی که هماگلوتیناسیون کامل را نشان داده، گزارش و در نهایت عیار پادتن حساس به مرکاپتواتانول، از تفاوت عیار پادتن تام و IgY محاسبه گردید. برای محاسبه وزن نسبی اندام‌های ایمنی، از نسبت وزن بورس فابرسیوس و طحال به وزن زنده به‌دست آمد که مقایسه میانگین وزن آن‌ها در جدول ۴ و ۵ آمده است.

برای بررسی باکتری های دستگاه گوارش از محیط کشت‌های MRS (MAN, ROGOSA AND SHARPE) و EMB (EOSIN METHYLENE BLUE) (مرک، آلمان) استفاده شد. جهت بررسی پیامد پودر دانه خارمریم بر میکروفلور دستگاه گوارش در روزهای ۲۱ و ۴۲ دوره آزمایش از هر تکرار یک جوجه با وزن نزدیک به میانگین تکرار انتخاب، کشتار و سپس از انتهای روده باریک (ایلئوم) در شرایط غیرسترون نمونه‌گیری و در کنار یخ جهت انجام آزمایش‌های میکروبی به آزمایشگاه فرستاده شد. در آزمایشگاه با استفاده از بافر فسفات سالین، رقت های سریالی بر پایه ۱۰ و درحجم نهایی ۱۰۰۰ میکرولیتر تهیه گردید. نمونه های مورد نظر روی محیط های کشت تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری گردیدند (محیط کشت MRS در شرایط بی‌هوازی و EMB در شرایط هوازی) و سپس با استفاده از دستگاه شمارنده پرگنه (ماکرو، ایران)، شمار باکتری‌ها محاسبه گردید. داده‌های به‌دست آمده به صورت لگاریتم در پایه ۱۰ محاسبه گردید (۲۶). به‌منظور آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار آماری SAS و آزمون ANOVA و مقایسه میانگین‌ها، از روش دانکن در سطح آماری ۵ درصد استفاده گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- ترکیب جیره آغازین (۲۱-۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۲ روزگی)

	آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی)	پایانی (۲۲ تا ۴۲ روزگی)
ذرت دانه‌ای (٪)	۵۷	۶۰
روغن مایع (٪)	۳	۳
کنجاله سویا (٪)	۳۵/۶	۳۲/۶
دی کلسیم فسفات (٪)	۱/۵	۱/۵
کربنات کلسیم (٪)	۱/۳۴	۱/۲۴
نمک یددار (٪)	۰/۳۶	۰/۳۶
دی –ال‌متیونین (٪)	۰/۲	۰/۲
آل- لیزین هیدروکلراید (٪)	–	۰/۱
پیش‌آمیخته ویتامینی (٪)	۰/۵	۰/۵
پیش‌آمیخته معدنی (٪)	۰/۵	۰/۵

جدول ۲- مواد مغذی محاسبه شده جیره آغازین (۲۱-۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۲)

	آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی)	پایانی (۲۲ تا ۴۲ روزگی)
انرژی (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۷۵	۳۰۱۳
پروتئین خام (٪)	۲۰/۸	۱۹/۸۵
کلسیم (٪)	۰/۹۴	۰/۸۸
فسفر در دسترس (٪)	۰/۴۳	۰/۴۳
لیزین (٪)	۱/۱۱	۱/۱۱
متیونین+سیستئین (٪)	۰/۸۶	۰/۸۳

جدول ۳- مقایسه میانگین تیمارها بر عیار پادتن علیه SRBC جوجه‌ها در ۴۲ روزگی (لگاریتم در پایه ۲)*

تیمار	IgTotal	IgY	IgM
شاهد°	۵/۵^{C}	۳/۶۲۵^{b}	۱/۸۷۵^{b}
۰/۲ درصد	۷/۰^{b}	۳/۵^{b}	۳/۵^{a}
۰/۴ درصد	۸/۰^{ab}	۴/۱۲۵^{ab}	۳/۸۷۵^{a}
۰/۶ درصد	۸/۷۵^{a}	۴/۵^{a}	۴/۲۵^{a}
±SE	۰/۴۵۸۹	۰/۲۳۸۱	۰/۴۰۱

* میانگین‌ها با حروف ناهمسان در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

جدول ۴- مقایسه میانگین بورس فابرسیوس و طحال در ۲۱ و ۴۲ روزگی (گرم/ کیلوگرم وزن زنده)*

تیمار	بورس فابرسیوس		طحال	
	۲۱ روزگی	۴۲ روزگی	۲۱ روزگی	۴۲ روزگی
شاهد	۲/۰۴^{b}	۰/۶۶^{b}	۱/۱۶	۱/۳۸
۰/۲ درصد	۲/۱۷^{b}	۱/۰۱^{a}	۰/۹۴	۱/۲۳
۰/۴ درصد	۲/۴۹^{ab}	۱/۱۱^{a}	۱/۱۱	۱/۲۱
۰/۶ درصد	۲/۷۶^{a}	۱/۳۳^{a}	۱/۰۶	۱/۳۵
±SE	۰/۱۹	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۰۹

* میانگین‌ها با حروف ناهمسان در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

جدول ۵- اثر جنس بر بورس فابرسیوس و طحال در ۲۱ و ۴۲ روزگی (گرم/کیلوگرم وزن زنده)

	بورس فابرسیوس		طحال	
	۲۱ روزگی	۴۲ روزگی	۲۱ روزگی	۴۲ روزگی
خروس	۲/۴۲	۱/۰۳	۱/۰۷	۱/۲۳
مرغ	۲/۳۱	۱/۰۳	۱/۰۶	۱/۳۶
±SE	۰/۱۳	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۶

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۶- مقایسه میانگین تیمارها بر *اشریشیا کلی* و *لاکتوباسیلوس* (Log CFU/gr)*

تیمار°	*اشرشیاکولی*		*لاکتوباسیلوس*	
	۲۱ روزگی	۴۲ روزگی	۲۱ روزگی	۴۲ روزگی
شاهد	۸/۳۳۶۷[a]	۸/۴۶۱۰	۷/۴۷۲۴[c]	۷/۷۷۸۳
۰/۲ درصد	۸/۰۳۱[ab]	۸/۳۰۰۷	۷/۷۵۲۳[bc]	۷/۸۷
۰/۴ درصد	۷/۹۱۷۴[b]	۸/۲۵۱۶	۷/۹۰۳۶[ab]	۸/۰۸۲۳
۰/۶ درصد	۷/۶۳۵۹[b]	۸/۲۹۵۲	۸/۱۳۸۱[a]	۸/۰۳۵۲
±SE	۰/۱۲۸	۰/۰۸۸۴	۰/۱۱۰۶	۰/۱۷۹۳

* میانگین‌ها با حروف ناهمسان در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

نتایج و بحث

در این پژوهش میزان ایمونوگلوبولین‌های تام، IgM و IgY در ۴۲ روزگی اندازه‌گیری شد. جدول ۳ نشان می‌دهد، افزودن خارمریم به جیره جوجه‌های گوشتی منجر به بهبود سامانه ایمنی و افزایش ایمونوگلوبولین‌های تام، IgM و IgY در برخی از تیمارها در سن ۴۲ روزگی گردید (P<۰/۰۵). با بررسی کارایی سامانه ایمنی در این پژوهش، در پاسخ به پادتن گلبول‌های قرمز گوسفند، میزان تولید پادتن تام، IgM و IgY در تیمار ۰/۶ درصد خارمریم بیشترین افزایش را داشت و کمترین میزان ایمونوگلوبولین تام و IgM در تیمار شاهد مشاهده شد. تیمار ۰/۶ درصد خارمریم در عیار IgY اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد داشت (P<۰/۰۵). تیمارهای ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد خارمریم در عیار IgM اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند (P<۰/۰۵). سیاوونه و همکاران (۲۴) گزارش کردند که خارمریم دارای اثرات سودمندی بر سامانه ایمنی بوده و مرگ و میر را تا حدود ۴ درصد در جوجه گوشتی کاهش داده است که این می‌تواند برآمده از توانایی بیشتر تولید ایمنوگلوبولین‌ها باشد. مشتاق و همکاران (۲۱) با استفاده از ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر بر لیتر عصاره خارمریم و زرشک در جوجه گوشتی گزارش کردند که در ۲۰ میلی‌لیتر بر لیتر، عیار پادتن برعلیه نیوکاسل و برونشیت افزایش یافته است. فانی‌مکی و همکاران (۱۱) از ۰/۵ درصد خارمریم در جوجه گوشتی چالش‌شده با نیوکاسل گزارش نمودند که عیار پادتن آن در سنجش با تیمار شاهد تغییر ننموده بود.

میزان پادتن‌های به‌وجود آمده از تزریق SRBC نشان دهنده وضعیت سامانه ایمنی خونی است. برای ارزیابی سامانه ایمنی طیور از معیارهای مختلفی استفاده می‌شود که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان عیار ایمونوگلبولین‌ها و وزن اندام‌های لنفاوی را نام برد (۲۶). با بررسی کارایی سامانه ایمنی در این پژوهش، در پاسخ به پادتن گلبول‌های قرمز گوسفند، میزان تولید پادتن تام، IgM و IgY در تیمار ۰/۶ درصد خارمریم بیشترین افزایش را داشت و کمترین میزان ایمونوگلوبولین تام و IgY در تیمار شاهد مشاهده شد. این پدیده با توجه به افزایش وزن بورس فابرسیوس در تیمارهای خارمریم پذیرفتنی است زیرا که بورس فابرسیوس اولین جایگاه تولید ایمونوگلوبولین‌ها است (۱). افزایش توانایی تولید IgM در جوجه‌هایی که خارمریم دریافت کرده‌اند می‌توانند برآمده از بزرگ‌شدن اندازه بورس فابرسیوس این جوجه‌ها باشد (۲). گزارش شده است که برگ زیتون به‌دلیل داشتن ماده مؤثره فلاونوئید می‌تواند از راه بالا بردن IgY، سامانه ایمنی خونی را تقویت کند (۶). خارمریم نیز دارای ماده مؤثره فلاونوئید بوده و ممکن است از این راه سامانه ایمنی خونی را تقویت کند.

Archive of SID

www.SID.ir

فلاونوئیدها خاصیت پادآماسی، پادحساسیتی و پادویروسی داشته و در کاهش بیماری‌های قلبی عروقی و بهبود عملکرد سامانه ایمنی مؤثر می‌باشند (۹). به‌نظر می‌رسد عصاره برخی گیاهان از طریق افزایش عیار پادتن موجب افزایش ایمنی بدن گردیده و احتمال داده شده که این عصاره‌ها با اثر بر لنفوسیت‌های زیر مخاطی دستگاه گوارش و تحریک ایمنی موضعی موجب افزایش فراسنجه‌های ایمنی خونی گردند (۲۵). ترکیبات پلی‌فنلی و به‌ویژه فلاونوئیدها در مرحله نخست روی سامانه سیتوکروم P450 اثر مهاری داشته و به‌دنبال آن تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند (۷). این ترکیبات هم‌چنین به واسطه خاصیت پاداکسیدانی می‌توانند رادیکال‌های آزاد موجود در محیط را خنثی کرده و از اثرات مخرب آن‌ها جلوگیری به‌عمل آورند (۲۳). بنابراین گمان می‌رود که گیاه خارمریم با دارا بودن ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئیدها باعث تقویت سامانه ایمنی جوجه‌های گوشتی گردیده است.

مقایسه میانگین وزن بورس فابرسیوس در ۲۱ روزگی نشان می‌دهد که بیشترین وزن آن در تیمار ۰/۶ درصد و کمترین وزن بورس فابرسیوس نیز در تیمار شاهد و دو درصد بود (جدول ۴). در ۲۱ روزگی تیمار ۰/۶ درصد خارمریم اختلاف معنی‌داری از نظر میانگین وزن نسبی بورس فابرسیوس با تیمارهای شاهد و ۰/۲ درصد خارمریم داشت (P<۰/۰۵). هم‌چنین در ۴۲ روزگی، تیمارهای ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد خارمریم در میانگین وزن نسبی بورس فابرسیوس اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). در ۲۱ و ۴۲ روزگی، اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای آزمایشی از نظر میانگین وزن نسبی طحال مشاهده نشد (P>۰/۰۵). همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود اثر جنس در ۲۱ و ۴۲ روزگی اختلاف معنی‌داری بر وزن‌های نسبی بورس فابرسیوس و طحال نشان نداد (P>۰/۰۵).

یافته‌های این پژوهش در رابطه با تأثیر مثبت گیاه خارمریم در افزایش وزن غده بورس فابرسیوس مشابه با یافته‌های کالوری و همکاران (۱۷) بود. ایشان بیان کردند که اندازه‌گیری اندام‌های سامانه ایمنی، روشی شناخته‌شده برای برآورد کارایی سامانه ایمنی در جوجه‌ها است. رشد خوب این اندام‌ها، نشانه‌ای برای کارآیی بالاتر تولید ایمنوگلوبین‌هاست. ساپونین‌ها و پلی‌ساکاریدها وزن نسبی بورس فابرسیوس را افزایش می‌دهد. گمان می‌رود گیاه دارویی خارمریم نیز با دارا بودن ترکیبات پلی‌ساکاریدی باعث افزیش وزن نسبی بورس فابرسیوس می‌شود.

نتایج مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی در دو گروه باکتریایی *اشریشیا کلی* و *لاکتوباسیلوس* در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی در جدول ۶ نشان داده شده است. در این پژوهش با بررسی مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی در ۲۱ روزگی بر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *لاکتوباسیلوس* نشان داده که تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* در تیمار ۰/۶ درصد نسبت به شاهد و ۰/۲ درصد خارمریم افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، در حالی که اختلاف معنی‌داری با تیمار ۰/۴ درصد نداشت. کمترین تعداد باکتری‌های *اشریشیا کلی* در ۲۱ روزگی مربوط به تیمار ۰/۶ درصد خارمریم بود و بیشترین تعداد این باکتری در تیمار شاهد مشاهده شد. تعداد باکتری‌های *اشریشیا کلی* در تیمارهای ۰/۶ و ۰/۴ درصد خارمریم اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد در ۲۱ روزگی داشت (P<۰/۰۵). در پایان دوره (۴۲ روزگی) بین تیمارهای مختلف از نظر شمار پرگنه‌های باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *لاکتوباسیلوس* تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

Archive of SID

www.SID.ir

خارمریم با افزایش شمار باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* و کاهش باکتری‌های بیماری‌زا می‌تواند بر تقویت سامانه ایمنی تأثیرگذار باشند. باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌توانند از عفونت‌های روده‌ای پیش‌گیری کرده و به‌عنوان تقویت کننده سامانه ایمنی استفاده شوند. گزارش‌ها نشان می‌دهند که مصرف پروبیوتیک‌ها و گیاهان دارویی ارگانیسم‌های مفید را افزایش داده و منجر به حذف رقابتی و تخریب میکروارگانیسم‌های مهاجم شده و یا از طریق جذب پادتن آزاد شده از باکتری‌های مرده بیماری‌زا، باعث تحریک سامانه ایمنی شوند (۱۵). عمده خواص پادباکتریایی اسانس‌های گیاهی به ترکیبات فنولی آن‌ها نسبت داده شده است. نحوه عمل این‌طور بیان شده که این ترکیبات، باعث ایجاد اختلال در غشای سیتوپلاسمی یاخته، اختلال در جابه‌جایی پروتون، جریان انتقال الکترون و انتقال فعال و انعقاد محتوای یاخته می‌شود (۳). میوه خارمریم نیز به دلیل دارا بودن فلاونوئیدها، تری‌ترپن‌ها، ترکیبات فنولی و پلی فنولی باعث افزایش ایمونوگلوبولین‌ها شده و در نهایت باعث تقویت سامانه ایمنی طیور می‌گردد. بنابراین چنین به‌نظر می‌رسد که افزودن خارمریم بر توان ایمنی جوجه‌ها اثرات مطلوبی بر جا گذاشته است که این اثرات به صورت افزایش عیار پادتن‌ها قابل مشاهده می‌باشد.

دقیقاً مشخص نیست که چرا مهار تمایزی رخ می‌دهد، اما ممکن است به علت اختلاف در ترکیب غشاهای باکتریایی و اختلاف در نفوذپذیری آن‌ها باشد. فرکت و همکاران (۳) گزارش کردند کاهش تعداد باکتری‌های گرم مثبت فعال مانند *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* می‌تواند حضور گونه‌های گرم منفی را در روده افزایش دهد و برعکس. در آزمایش‌های مختلف در بین گیاهان استفاده شده، اسانس گیاهان رزماری، مریم گلی و آویشن به‌دلیل داشتن ترکیبات فلاونوئیدی در مقابل سویه‌های *اشریشیا کلی* اثر بهتری را از خود نشان دادند (۱۴).

عصاره‌های گیاهی رشد فلور مفید روده را تحریک کرده و در نتیجه حضور باکتری‌های گرم منفی مانند *اشریشیا کلی* را کاهش می‌دهند. پلی‌ساکاریدها (از اجزای تشکیل دهنده عصاره سرخارگل) باعث افزایش تولید اسیدلاکتیک و در نتیجه افزایش تکثیر باکتری‌های مفید در روده و کاهش حضور باکتری‌های گرم منفی مانند *اشریشیا کلی* می‌شوند (۸).

بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که افزودن خارمریم بر تعداد *لاکتوباسیلوس‌ها* اثرات مطلوبی بر جای گذاشته است و این اثرات می‌تواند برگرفته از مواد مؤثره خارمریم همانند سیلی‌مارین، پلی‌ساکاریدها، فلاونوئیدها و خاصیت پاداکسیدانی آن باشد. از دلایل کاهش باکتری‌های *اشریشیا کلی* می‌توان به افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها اشاره کرد که با افزایش *لاکتوباسیلوس‌ها* تولید اسید لاکتیک افزایش یافته و محیط اسیدی را ایجاد می‌کند. باکتری‌های *اشریشیا کلی* به محیط اسیدی حساس بوده و تعداد آن‌ها در این محیط کاهش می‌یابد (۱۳) که می‌تواند از دلایل کاهش این باکتری‌ها باشد.

با توجه به نتایج این پژوهش به‌نظر می‌رسد خارمریم موجب بهبود سامانه ایمنی جوجه‌های گوشتی گردید و تعادل قابل قبولی را در فلور طبیعی دستگاه گوارش طیور ایجاد نموده و توصیه می‌شود از این گیاه دارویی برای تولید محصولی سبز و با کیفیت در واحدهای تجاری پرورش جوجه‌های گوشتی استفاده شود.

منابع

۱. پناهی دهقان، م.ر.، رسولی‌نژاد فریدونی، س.، زنده‌روح کرمانی، ر.، مدیر صانعی، م.، معافی، م.، میرسلیمی، س.م.،

Archive of SID
www.SID.ir

نیک‌نفس، ف. (۱۳۷۴). *فیزیولوژی پرندگان* (ترجمه). چاپ چهارم، واحد آموزش و پژوهش معاونت کشاورزی سازمان اقتصادی کوثر، تهران.

۲. نظرزاده، ا.، خواجوی، م.، پارسایی، س.، محقق دولت‌آبادی، م. (۱۳۹۰). پیامدهای کاهش انرژی جیره و افزودن جین‌سنگ قرمز بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی پرورش. پایان‌نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.

3. Barton, M.D. (2000). Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutrition Research Reviews* **13**: 279-99.

4. Cheema, M.A., Qureshi, M.A., Havenstin, G.B. (2003). A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 random bred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science Association* **9**: 1591-2.

5. Christake, E., Paneri, P., Giannenas, I., Papazahariadou, M., Botsoglou, N.A., Spais, A.B. (2004). Effect of mixture of herbal extract on broiler chicken infected with *Eimeria tenella*. *Animal Research* **53**: 137-44.

6. Cordova, C.A., Siqueira, I.R., Netto, C.A., Yunes., R.A., Volpato, A.M. (2002). Protective properties of butanolic extract of the *Calendula officinalis L.* against lipid peroxidation of rat liver microsomes and action as free radical scavenger. *Redox Report* **7**: 95-102.

7. Cross, D.E., Acamovic, T., Deans, S.G., Mc Devitt, R.M. (2002). The effects of dietary inclusion of herbs and their volatile oils on the performance of growing chickens. *Journal of British Poultry Science* **43**: 44-5.

8. Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids: review. *International Journal of Antimicrobial Agents* **26**: 343-56.

9. El-Kamary, S.S., Shardell, M.D., Abdel-Hamid, M., Ismail, S., El-Ateek, M., Metwally, M., Mikhail, N., Hashem, M., Mousa, A., Aboul-Fotouh, A., El-Kassas, M., Esmat, G., Strickland, G.T. (2009). A randomized controlled trial to assess the safety and efficacy of silymarin on symptoms, signs and biomarkers of acute hepatitis. *Phytomedicine* **16**: 391-400.

10. Fani makki, O., Afzali, N., Omidi, A. (2013). Effect of milk thistle seeds (*Silybum marianum L.*) on the immune system, intestinal related variables, appearance and mortality of broilers contaminated with Aflatoxin B1. *Journal of Herbal Drugs* **4**: 33-8.

11. Ferket, P.R. (2002). Use of organic acid and gut modifiers as replacements for dietary antibiotics. Proceeding of 63rd Minnesota Nutrition Conference, September 17-18, Eagan: 169-82.

12. Fuller, R. (1992). *Problems and Prospects*. In: *Probiotics, the Scientific Basis*. Springer, Germany. Pp: 377-86.

13. Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* **86**: 985-90.

14. Jin, L.A., Ho, Y.W., Abdullah, N., Jalaludin, S. (1998). Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. *Poultry Science* **77**: 1259-63.

15. Kalmar, L., Kadar, J., Somogyi, A., Gergely, P., Csomos, G., Feher, J. (1990). Silibinin (Legalon-70) enhances the motility of human neutrophils immobilzed by formyl-tripeaptide, calcium ionophore, lymphokine and by normal human serum. *Agents and Actions* **29**: 239-46.

16. Kalorey, D., Kurkure, N.V., Ramgaonkar, I., Sakhare, P., Warke, S., Nigot, N. (2005). Effect of polyherbal feed supplement "Growell" during induced aflatoxicosis, ochratoxicosis and combined mycotoxicoses in broilers. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences* **18**: 375-83.

17. Katiyar, S.K. (2002). Treatment of silymarin, a plant flavonoid, prevents ultraviolet light induced immune suppression and oxidative stress in mouse skin. *International Journal of Oncol*ogy **21**: 1213-22.

18. Klaver, F.A.M., Van der Meer, R. (1993). The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bils salt deconjugating activity. *Applied Environmental Microbiology* **59**: 1120-4.

Archive of SID

www.SID.ir

19. Luper, S. (1998). A review of plants used in the treatment of liver disease: part 1. *Alternative of Medicinal Review* **3**: 410-21.
20. Mushtaq, M., Shabana, N., Sarzamin, Kh., Rehman, S., Rifat, G. (2013). In vivo effect of *Berberis lyceum* and *Silybum marianum* on production performance and immune status in broiler chicks. *Xenobiotica* **91**: 256-62.
21. Peric, L., Zikic, D., Lukic, M. (2009). Application of alternative growth promoters in broiler production. *Biotechnology in Animal Husbandry* **25**: 387-97.
22. Pyo, Y.H., Lee, T.C., Logendra, L., Rosen, R.T. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard extracts. *Food chemistry* **85**: 19-26.
23. Schiavone, A., Righi, F., Quarantelli, A., Bruni, R., Serventi, P., Fusari, A. (2007). Use of *Silybum marianum* fruit extract in broiler chicken nutrition Influence on performance and meat quality. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **91**: 256-62.
24. Shams-Ghafarokhi, M., Razafsha, M., Allumeh, A., Razzaghi Abyaneh, M. (2003). Inhibitory effect of aqueous onion and garlic extracts on growth and keratinase activity in *Trichophyon Mentagrophytes*. *Journal of Iranian Biomedical* **7**: 113-8.
25. Yang, M., Ferket, C., Liu, P., Zhou, T., Zhang, L., Xiao, L., Chen, A. (2011). Effects of probiotic *Clostridium butyricum* on growth performance immune function, and cecal microflora in broiler chickens. *Poultry Science* **91**: 2121-9.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 12, Issue 2, 2016

The Effect of *Silybum marianum* on Humeral Immune System and Numbers of Useful and Baneful Bacteria in Digestive Tract of Chickens

Jafari, M.[1], Naghiha, R.[2*], Parsai, S.[2], Memar, M.[2]

1. M.Sc. Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

Received Date: 9 June 2015 *Accepted Date: 17 October 2015*

Abstract

The aims of this study were investigate the effects of Silybum marianum seed on the intestinal microflora and immune system of broilers. Current research was conducted in a completely randomized design with 4 treatments, 4 replicates and 20 chicks in every replicate. Treatments included: basal diet without adding Silybum marianum seed powder, basal diet with 0.2% seeds of Silybum marianum, basal diet containing 0.4% of Silybum marianum and basal diet containing 0.6% Silybum marianum seed powder. To evaluate the efficiency of the immune system by injection of sheep red blood cells as antigen, immune response with haemagglutination method were measured and weight of immune organs such as spleen and bursa of fabricius were measured too. Also at the ages of 21 and 42, two groups of bacteria, Escherichia coli and Lactobacillus were counted. Total immunoglobulin of treatments 0.2, 0.4 and 0.6%, were increased significantly compared to the control. IgY in receiving treatment 0.6% of Silybum marianum significantly increased in comparison with the control and 0.2 0% of Silybum marianum. IgM of all Silybum marianum treatments are also higher compared to the control. The results showed that the number of lactic acid bacteria in treatments 0.4 and 0.6% of Silybum marianum compared to the control at 21 days was significantly increased ($P<0.05$). In 21 days, the number of E. coli bacteria in treatments receiving 0.4 and 0.6% of Silybum marianum decreased significantly compared to the control.

Keywords: *Broilers; Silybum marianum; Immune system; Microbial flora*

**Corresponding author: Naghiha, R,*
Address: Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran. *Tel: +989163210868*
Email: Naghiha@yu.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir