

تأثیر استفاده از بره موم در جیره بر پاسخ ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی راس

ساسان خجسته شلمانی*^۱، مصطفی تائینا^۲

*^۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد آستارا، گروه علوم دامی، آستارا، ایران، صندوق پستی: ۴۳۹۱۹-۸۳۱۵۹

^۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرانزلی، گروه شیلات، بندرانزلی، ایران، ۴۳۱۴۵۱۴۵۱

s.khojasteh@iau-astara.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی تأثیر استفاده از محلول الکلی بره موم در جیره بر ایمنی خونی (همورال) جوجه‌های گوشتی راس، آزمایشی با ۶ تیمار (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بره موم در کیلوگرم جیره) به مدت ۴۲ روز از طریق اندازه‌گیری عیار آنتی بادی تولیدی ویژه واکسن نیوکاسل بروش تست HI در مقایسه با گروه شاهد انجام گردید. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که عیار پادتن تولیدی بر علیه واکسن نیوکاسل در پرندگان تغذیه شده با بره موم بیشتر می‌باشد، به علاوه با مصرف ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بره موم در هر کیلوگرم جیره، عیار تولیدی در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافته است. بین غلظت بره موم و افزایش عیار آنتی بادی یک رابطه همبستگی مثبت مشاهده شده است. بنابراین این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از محلول الکلی بره موم در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی تأثیر مثبتی بر ایمنی همورال ویژه واکسن نیوکاسل دارد و باعث افزایش میزان تولید آنتی‌بادی اختصاصی و افزایش کارایی سیستم ایمنی بدن می‌شود.

کلمات کلیدی: بره موم، واکسن نیوکاسل، پاسخ ایمنی، جوجه‌های گوشتی.

مقدمه

افزایش انگیزه جهت کاهش و یا حتی حذف آنتی بیوتیک‌هایی که به عنوان محرک رشد در خوراک استفاده می‌شوند موجب یافتن جایگزین‌های بی‌خطر و موثر (داروهای بیولوژیک) در تغذیه طیور شده است. بره موم^۱ می‌تواند این نقش را در خوراک ایفا نماید. بره موم یکی از فرآورده‌های فرعی زنبور عسل بوده که منبع خارجی دارد. این ماده در حقیقت صمغ درختان است. زنبورها از بره موم برای ضد عفونی کردن سلول‌ها، پر کردن منافذ کندو، محکم کردن کادرها و قاب‌های داخل کندو، ترمیم شکستگی، تنگ کردن سوراخ‌های تهویه، جلا دادن سطح کندو و در نهایت مومیایی کردن حشراتی که به داخل کندو راه یافته‌اند استفاده می‌کنند (۴، ۶ و ۱۷). بیش از ۱۸۰ ترکیب نظیر پلی فنولها، کوئی‌نین‌ها، کومارین‌ها، اسیدهای آمینه، استروئیدها و مواد معدنی در نمونه‌های مختلف بره موم شناسایی شده است (۱۹) که خواص و ترکیبات شیمیایی بره موم‌های مناطق مختلف متفاوت است (۱۸). بره موم دارای خاصیت از بین بردن رادیکال‌های آزاد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محرک رشد، خاصیت ضد میکروبی، تقویت سیستم ایمنی و ... می‌باشد (۷، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴). در پرورش طیور پیشگیری از بیماری‌ها از طریق اجرای صحیح برنامه‌ها امری ضروری است و اگر بیماری به وقوع بپیوندد و طیور از نظر عملکرد سیستم ایمنی در وضعیت مطلوبی قرار داشته باشند قادر به دفاع از خود می‌باشند و کارایی سیستم ایمنی در این مرحله باعث کاهش تلفات و خسارت می‌شود. راه‌های مختلفی برای بالا بردن کارایی سیستم ایمنی وجود دارد. علاوه بر انتخاب ژنتیکی، بعضی از عوامل غیر

ژنتیکی مانند غلظت مواد مغذی و سایر مواد بیولوژیکی در جیره قادرند که پاسخ ایمنی بدن در برابر عفونت‌ها را تغییر دهند. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که کاربرد بره موم در جیره طیور باعث افزایش کارایی سیستم ایمنی بدن می‌شود. در تحقیقی که به منظور بررسی تاثیر بره موم بر عملکرد سیستم ایمنی بدن در جوجه‌های گوشتی انجام گرفت روشن شد که بین میزان بره موم در جیره و تقویت سیستم ایمنی رابطه مستقیمی وجود دارد. همچنین مشخص شد که وزن غده تیموس و سایر غدد لنفاوی در پرندگان تغذیه شده با بره موم در مقایسه با گروه شاهد بیشتر می‌باشد (۲۴). نتایج مطالعات مشابهی که با استفاده از محلول بره موم در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی جهت بررسی عملکرد سیستم ایمنی صورت گرفت نشان داد که عیار آنتی بادی تولید شده در پرندگان تغذیه شده با بره موم بیشتر از گروه شاهد می‌باشد (۱۱). در پژوهشی دیگر که با هدف بررسی تاثیر بره موم بر وزن بدن جوجه‌ها و غدد لنفاوی آن‌ها انجام گرفت مشخص شد که میانگین وزن بدن یک هفته پس از تزریق و وزن غده تیموس دو هفته پس از تزریق بره موم افزایش یافته است (۱۳). همچنین نتایج مطالعات انجام شده بر سیستم ایمنی بدن جوجه‌های عفونی شده با ویروس بیماری نیوکاسل (NDV)^۲ نشان داد که با مصرف بره موم میزان تلفات در پرندگان آلوده به ویروس نیوکاسل در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته است. استفاده از بره موم در جوجه‌های مبتلا به بیماری نیوکاسل باعث افزایش عیار پادتن در مقایسه با گروه شاهد گردید (۱۴). در مطالعات جداگانه‌ای که به منظور بررسی تاثیر بره موم بر علیه ویروس‌های نیوکاسل و آنفلوانزا انجام گرفت

² Newcastle Disease Virus

¹ Propolis

موجود در آن برداشته و به جیره‌های غذایی اضافه گردید (۲۴).

تعیین عیار آنتی بادی

در این تحقیق از ۴۸۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه راس به مدت ۴۲ روز استفاده شد. این تحقیق در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با بررسی تاثیر ۶ سطح محلول الکلی بره موم منطقه اردبیل (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم بره موم در کیلوگرم جیره) با ۴ تکرار و ۲۰ قطعه در هر تکرار بر ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی طراحی شد. محلول‌های الکلی بره موم بر حسب روش‌های استاندارد تهیه شدند (۲۳). تهیه جیره‌های غذایی در طی دوره آزمایش توسط نرم‌افزار کامپیوتری تنظیم جیره‌های غذایی حیوانات اهلی (UFFDA)^۲ انجام پذیرفت. جیره‌های غذایی برای دو مرحله جداگانه (۰ تا ۳ هفته‌گی و ۳ تا ۶ هفته‌گی) محاسبه و تهیه گردیدند. پس از فرموله کردن، از محلول الکلی تهیه شده به نسبت بره موم موجود در آن برداشته و به جیره‌های پایه افزوده شد (جدول ۱ و ۲). کلیه شرایط محیطی، پرورشی و بهداشتی برای تمام تیمارها یکسان می‌باشد. واکسیناسیون انجام شده بر علیه بیماری نیوکاسل (ND)^۳ در روز ۷ به صورت قطره چشمی (واکسن زنده B1) و به منظور ایجاد ایمنیت بیشتر، واکسن دیگر ND (واکسن کشته سویه لاسوتا) بود که به صورت تزریق زیر پوستی در روز ۲۳ استفاده شد. پاسخ‌های ایمنی به واکسیناسیون توسط آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)^۴ در نمونه‌های سرم خون پرندگان مورد آزمایش در روزهای ۲۱ و ۴۲

گزارش شد که بره موم مانع فعالیت ویروس‌های فوق می‌شود. آن‌ها علت این امر را غلظت بالای فلاونوئیدهای موجود در بره موم ذکر نمودند (۹ و ۱۵). به منظور پیشگیری از بیماری نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی استفاده از واکسن‌های زنده و کشته بطور توصیه می‌گردد ولی متأسفانه واکسن‌های موجود عیار پادتن بالایی تولید نمی‌کنند. با توجه به ارتباط مستقیم عیار پادتن علیه ویروس و میزان محافظت در برابر بیماری، این مطالعه بر آن است تا تاثیر کاربرد یک ماده محرک سیستم ایمنی به نام بره موم را بر روند تولید پادتن علیه واکسن زنده و کشته نیوکاسل مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

تهیه محلول الکلی بره موم^۱

پس از آن که مقدار بره موم مورد نیاز بر اساس اشتهای پرندگان در هر دوره آزمایشی برآورد گردید نمونه بره موم مورد آزمایش از کندوی زنبورداران شهرستان اردبیل تهیه و تا هنگامی که مورد استفاده قرار گیرد در محیط تاریک و خنک و حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس از طریق رنده کردن به قطعات ریز تبدیل شد و با استفاده از نسبت ۲ گرم بره موم (بر اساس وزن خشک) و ۲۵ میلی لیتر اتانل ۹۶ درصد، مقدار بره موم مورد نیاز هر دوره آزمایشی محاسبه و در آزمایشگاه موسسه تحقیقات علوم دامی کرج داخل شیشه‌های کدر مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد روی همزن قرار گرفت. در مرحله بعد محلول الکلی بره موم تهیه شده توسط کاغذ صافی فیلتر شد و به نسبت بره موم

² User Friendly Feed Formulation Done Again

³ Newcastle Disease

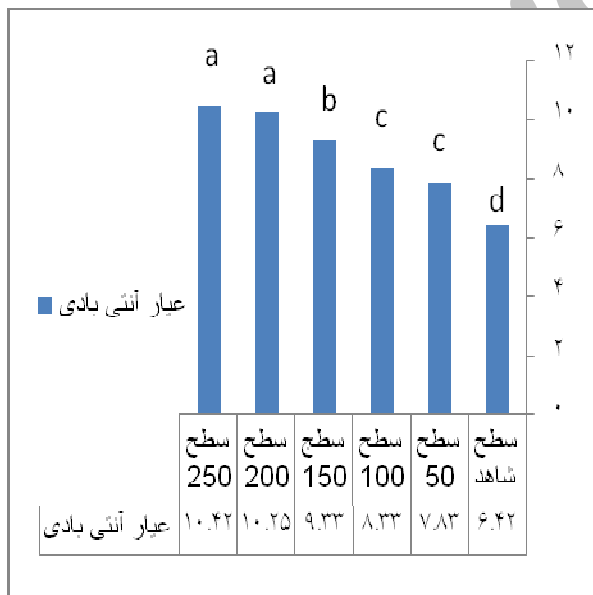
⁴ Hemagglutination Inhibition

¹ Alcoholic Extract of Propolis

نتایج

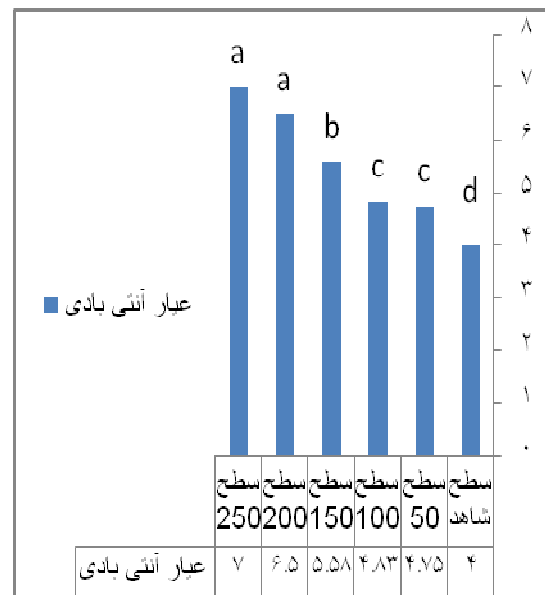
نتایج حاصله نشان داد که با افزایش مقدار بره موم در جیره (۲۵۰ میلی گرم) عیار آنتی بادی ویژه ویروس نیوکاسل در روزهای ۲۱ و ۴۲ آزمایش به طور معنی داری افزایش می یابد ($p < 0/05$). بیشترین عیار آنتی بادی در پرندگان تغذیه شده با جیره های حاوی ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم بره موم و کمترین مقدار با جیره های شاهد به دست آمده است. مطالعه حاضر نشان می دهد که استفاده از بره موم در جیره تاثیر مثبتی بر ایمنی همورال در برابر واکسن نیوکاسل دارد و مصرف آن باعث افزایش کارایی سیستم ایمنی بدن جوجه های گوشتی می شود.

ارزیابی شد (۵۲و). بدین منظور در روزهای ۲۱ و ۴۲ آزمایش دو قطعه از هر تکرار به تصادف انتخاب و از ورید بال آن ها خونگیری به عمل آمد. سرنگ های حاوی نمونه های خون به مدت ۲ ساعت به طور وارونه در دمای محیط قرار داده شدند تا خون لخته گردد و سرم آن جدا شود. سپس نمونه های خون به مدت ۲۴ ساعت در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و پس از آن سرم نمونه ها در آزمایشگاه استخراج گردید و عیار پادتن ویژه واکسن نیوکاسل توسط روش (HI) تعیین گردید. به منظور تجزیه و تحلیل داده ها نرم افزار (SAS Statistical Analysis System) مورد استفاده قرار گرفت (۳) و برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن استفاده گردید (۸). همچنین جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excell استفاده شد.



نمودار ۲: مقایسه میانگین عیار آنتی بادی بین سطوح مختلف

محلول بره موم در ۴۲ روزگی



نمودار ۱: مقایسه میانگین عیار آنتی بادی بین سطوح

مختلف محلول بره موم در ۲۱ روزگی

جدول ۱: مواد متشکله و ترکیبات جیره های آزمایشی در مرحله آغازین (۳ تا ۳۰ هفتگی)

تیمار (میلی گرم بره موم / کیلوگرم جیره)						مواد خوراکی (%)
۲۵۰	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	۰	
۶۴/۴۹	۶۴/۴۹	۶۴/۴۹	۶۴/۴۹	۶۴/۴۹	۶۴/۴۹	ذرت
۲۶/۰۲	۲۶/۰۲	۲۶/۰۲	۲۶/۰۲	۲۶/۰۲	۲۶/۰۲	کنجاله سویا ^۱
۶	۶	۶	۶	۶	۶	پودر ماهی ^۲
۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	روغن آفتابگردان
۱/۱۹	۱/۱۹	۱/۱۹	۱/۱۹	۱/۱۹	۱/۱۹	پودر صدف
۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	دی کلسیم فسفات
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینه*
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی**
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	نمک
۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	دی ال متیونین
ترکیبات شیمیایی						
۲۶۹۲	۲۶۹۲	۲۶۹۲	۲۶۹۲	۲۶۹۲	۲۶۹۲	انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری در کیلو گرم)
۲۰/۵۳	۲۰/۵۳	۲۰/۵۳	۲۰/۵۳	۲۰/۵۳	۲۰/۵۳	پروتئین خام (%)
۳/۳۰	۳/۳۰	۳/۳۰	۳/۳۰	۳/۳۰	۳/۳۰	فیبر خام (%)
۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۲	کلسیم (%)
۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	فسفر قابل دسترس (%)
۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	سدیم (%)
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	کلر (%)
۱/۹۳	۱/۹۳	۱/۹۳	۱/۹۳	۱/۹۳	۱/۹۳	اسید لینولئیک (%)
۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۲۹	۱/۲۹	آرژنین (%)
۱/۱۷	۱/۱۷	۱/۱۷	۱/۱۷	۱/۱۷	۱/۱۷	لایزین (%)
۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	متیونین (%)
۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۲	متیونین + سیستئین (%)
۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۸۰	ترئونین (%)

۱- ۴۴ درصد پروتئین خام

۲- ۶۰ درصد پروتئین خام

* - A, D3, E, B1, B2, B6, B9, B12, k3, اسید پانتوتونیک، نیاسین، بیوتین، کولین کلراید

** - Se, I, Cu, Zn, Fe, Mn

جدول ۲: مواد متشکله و ترکیبات جیره های آزمایشی در مرحله رشد (۳ تا ۶ هفته)

تیمار (میلی گرم بره موم / کیلوگرم جیره)						مواد خوراکی (%)
۲۵۰	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	۰	
۶۷/۹۹	۶۷/۹۹	۶۷/۹۹	۶۷/۹۹	۶۷/۹۹	۶۷/۹۹	ذرت
۲۴/۱۲	۲۴/۱۲	۲۴/۱۲	۲۴/۱۲	۲۴/۱۲	۲۴/۱۲	کنجاله سویا ^۱
۳	۳	۳	۳	۳	۳	پودر ماهی ^۲
۲/۱۱	۲/۱۱	۲/۱۱	۲/۱۱	۲/۱۱	۲/۱۱	روغن آفتابگردان
۱/۱۲	۱/۱۲	۱/۱۲	۱/۱۲	۱/۱۲	۱/۱۲	پودر صدف
۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	دی کلسیم فسفات
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینه [*]
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی ^{**}
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	نمک
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	دی ال متیونین
ترکیبات شیمیایی						
۳۰۹۶	۳۰۹۶	۳۰۹۶	۳۰۹۶	۳۰۹۶	۳۰۹۶	انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری در کیلوگرم)
۱۸/۱۹	۱۸/۱۹	۱۸/۱۹	۱۸/۱۹	۱۸/۱۹	۱۸/۱۹	پروتئین خام (%)
۳/۲۱	۳/۲۱	۳/۲۱	۳/۲۱	۳/۲۱	۳/۲۱	فیبر خام (%)
۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	کلسیم (%)
۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	فسفر قابل دسترس (%)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	سدیم (%)
۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	کلر (%)
۲/۸	۲/۸	۲/۸	۲/۸	۲/۸	۲/۸	اسید لینولئیک (%)
۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۱۳	آرژنین (%)
۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۹۷	لازین (%)
۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	متیونین (%)
۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۴	متیونین + سیستین (%)
۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹	۰/۶۹	ترئونین (%)

۱- ۴۴ درصد پروتئین خام

۲- ۶۰ درصد پروتئین خام

* A, D3, B1, B2, B6, B9, B12, k3 ، اسید پانتوتونیک، نیاسین، بیوتین، کولین کلراید

** Se, I, Cu, Zn, Fe, Mn

بحث

بر اساس یافته‌های حاصل از مطالعه قبلی اینجانب در خصوص تعیین ترکیبات شیمیایی بره موم منطقه اردبیل، به دلیل غلظت بالای ترکیبات فلاونوئیدی در بره موم، این ماده محرک سیستم ایمنی بدن می‌باشد. یافته‌های مشابهی توسط محققین دیگر بدست آمده است که استفاده از بره موم موجب تقویت سیستم ایمنی بدن می‌شود (۱۱ و ۱۵). در تحقیقی که به منظور بررسی تاثیر بره موم بر علیه ویروس‌های نیوکاسل و آنفلوانزا انجام گرفت مشخص شد که بره موم مانع فعالیت ویروس‌های فوق می‌شود (۱۴). آن‌ها علت این امر را به واسطه وجود ترکیبات فلاونوئیدی زیاد در بره موم ذکر نمودند. نتایج مطالعات محققین دیگر در خصوص تاثیر بره موم بر سیستم ایمنی بدن جوجه‌های گوشتی نشان داد که بره موم به طور موثری باعث تقویت سیستم ایمنی بدن می‌شود و از این نظر بین میزان مصرف بره موم در جیره و کارایی سیستم ایمنی رابطه مستقیمی وجود دارد (۲۴). مکانیسم احتمالی تقویت سیستم ایمنی بدن توسط بره موم در جوجه‌ها بدین صورت است که فلاونوئیدهای موجود در بره موم باعث افزایش وزن غدد لنفاوی نظیر غده تیموس و بورس فابرسیوس شده و مقدار سلول‌های B و T در بدن افزایش یافته که نتیجه‌اش بالا رفتن عیار آنتی بادی در خون می‌باشد (۱، ۱۰ و ۱۴). از طرف دیگر بره موم به دلیل دارا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی و خاصیت ضد التهاب، مانع از سنتز پروستاگلاندین (ماده ضد ایمنی) در بدن شده و در نتیجه کارایی سیستم ایمنی بدن افزایش می‌یابد (۲۱). در این تحقیق با افزایش غلظت بره موم در جیره عیار پادتن ویژه ویروس نیوکاسل در روزهای ۲۱ و ۴۲ آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش

یافته است بطوریکه بیشترین مقدار تولید پادتن در تیمار ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم بره موم در کیلو گرم جیره مشاهده گردید. یک رابطه خطی بین سطوح مختلف محلول الکلی بره موم در جیره و عیار پادتن برای ND مشاهده شد. بنابراین گزارش می‌شود که EEP می‌تواند به عنوان عامل تنظیم کننده سیستم ایمنی بدن در جوجه‌های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از موسسه تحقیقات علوم دامی کشور و پرسنل آن واحد که امکان چنین تحقیقی را فراهم آوردند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. جوکار، ع.، پوررضا، ج. و مهدیزاده، م.، ۱۳۸۳. اثر استفاده از بره موم در جیره بر روی عملکرد و سیستم ایمنی مرغان تخمگذار تجارتي، مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبیان، شماره ۶۴، صفحات ۸۵-۸۹.
۲. خضرای نیاب، ب. و قلمسیاه، ح.، ۱۳۷۹. روش‌های آزمایشگاهی دامپزشکی (ترجمه)، انتشارات نوربخش، صفحات ۳۵-۴۷.
۳. سلطانی، م.، ۱۳۷۷. کاربرد نرم افزار SAS در تجزیه‌های آماری (برای رشته‌های کشاورزی)، چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، صفحات ۴۱-۴۶.
۴. شهرستانی، ن.، ۱۳۶۶. زنبورعسل و پرورش آن، مرکز نشر سپهر، تهران، صفحات ۵۹-۶۳.
۵. گرانسر، ع.، ۱۳۶۹. ایمونولوژی و سرولوژی، انتشارات جهاد دانشگاهی، صفحات ۵۹-۶۸.

16. Kimoto, T. and Kurimoto, T., 1990. Antioxidant and preventive effects of carcinogenesis by oral administration of Brazilian propolis and Artepillen c. Honey Bee Science. 20: pp 67-74.
17. Krell, R., 1996. Value-Added products from bee keeping. Milan, FAO Publications.43:pp 102-106.
18. Kujungiev, A.; Tsvetkova, I.; Serkedjieva, Y.; Bankova, V.; Christov, R. and Popov, S., 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic.J.Ethnopharmacol.64: pp 235-240.
19. Marcucci, M.C., 1995. Propolis: Chemical Composition, biological properties and the therapeutic activity.Apidologie.26: pp 83-99.
20. Moreno, M.I.N.; Isal, I.; Sampietro, A.R. and Vattuone, M.A., 2000. Composition of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. Journal of Ethnopharmacology.71: pp 109-114.
21. Namgoong, S.Y.; Son, K.H.; Chang, H.W.; Kang, S.S. and Kim, H.P., 1994. Effects of naturally occurring flavonoids on mitogen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture.Life Sci. 45: pp 313-320.
22. Quichanqoing, L.I.Y.C., 1995. Study of the persistent period of immunity and un-activated propolis adjuvant vaccine against the egg drop syndrome in hen. Veterinary Research Institute,CAAS.Lan Zou, China.23:pp 68-72.
23. Savickas, A.; Majiene, D.; Ramanauskiene, K.; Pavilonis, A.; Muselik, J.; Mastekova, R. and Chalupova, Z., 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of Lithuanian and Czech propolis.Biologia.4: pp 59-63.
24. Yong, K.P. and Masaharu, I., 1998. Preparation of water and ethanolic extract of propolis and evaluation of the preparations. Biosci Biotechnol Biochem. 62, 11: pp 2230-2232.
۶. مشیری، م.، ۱۳۶۳. پرورش زنبور عسل، انتشارات اشراقی، صفحات ۷۷-۸۱.
7. Addle, S. and Samiha, M., 2000. Effect of the addition of propolis extract as natural antioxidant on the keeping quality of biscuit during storage. Egyptian Journal of Agricultural Research. 78: pp 1659-1671.
8. Duncan, K.B., 1955. Multiple range and multiple F.Test.Biometrics.11: pp 1-42.
9. Esanu, V.; Prahoveanu, E.; Crisan, I. and Cioca, A., 1981. The effect of an aqueous propolis extract of rutin-quercetin mixture on experimental influenza virus infection in mice (absiraci), in Revue Roumanie de Medecine, Virologie, Jul, Se Pt. 32, 3: pp 213-215.
10. Galal, A.; Abd El-Motaal, A.M.; Ahmed, A.M.H. and Zaki, T.G., 2008. Productive performance and immune response of laying hens as affected by dietary propolis supplementation. International Journal of Poultry Science.7, 3: pp 272-278.
11. Giurgea, R.; Coprean, D.; Popescu, H. and Polinicencu, C., 1984. Effect of standardized propolis extract on the compositions of chicken muscle.Clujul Medical.57, 1: pp 33-36.
12. Hayashi, K.; Komura, S.; Isaii, N.; Ohishi, N. and Tagi, R., 1999. Isolation of antioxidative compounds from Brazilian propolis. Chemical and Pharmaceutical Bulletin.47: 1521-1524.
13. Hegazi, A.G.; El Miniawy, F.A. and Abd El Hady, F.K., 1996. Influence of administration of propolis on chicken immune status.The Egypt. J.Immunol. 3: pp 111-116.
14. Hegazi, A.G.; El Miniawy, H.F. and El Miniawy, F.A., 1995. Effect of some honey bee products on immune response of chicken infected with virulent NDV.Egyptian J.Immuol. 2: 79-86.
15. Hegazi, A.G.; Eberdiny, F.; Eassily, S.; Khashabah, E.; Hassan, N. and Popov, S., 1993. Studies on some aspects of antiviral activity.1-Influence of propolis on NDV. Vet. Med. J. Giza. 41, 2: pp 53-56.