

اثر دانه اسپند روی فاکتورهای خونی، پاسخ ایمنی و جمعیت باکتریایی انتخابی روده جوجه های گوشتی

مجید گودرزی^{۱*}، شهرام ننه کرانی^۱، حسین وثوقی^۲

۱- گروه علوم دامی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۲- گروه دامپزشکی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

*نویسنده مسئول: majidgoudarzi117@gmail.com

چکیده

این آزمایش برای بررسی اثر پودر دانه اسپند و آنتی بیوتیک بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون، پاسخ ایمنی و جمعیت میکرو فلور روده در جوجه های گوشتی سویه راس (۳۰۸) طراحی شد. ۲۴۰ جوجه گوشتی یک روزه به طور تصادفی برای چهار تیمار آزمایشی در نظر گرفته شدند. تیمار های آزمایشی شامل کنترل (C)، بدون دانه اسپند و آنتی بیوتیک، جیره غذایی حاوی ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم لینکومایسین ۸۸ درصد (A) و جیره های غذایی حاوی ۲ گرم در کیلوگرم (H1) و ۴ گرم در کیلوگرم پودر دانه اسپند (H2) بود. برای تعیین تیتراژ آنتی بادی علیه بیماری نیوکاسل در ۱۴ و ۲۱ روزگی و برای پارامترهای بیوشیمیایی در سن ۴۲ روزگی نمونه گیری خون انجام شد. جمعیت باکتری های انتخابی در قسمت ایلئوم روده با استفاده از روش های میکروبیولوژیکی مرسوم با استفاده از محیط های انتخابی آگار شمارش شدند. وجود پودر دانه اسپند در جیره غذایی منجر به کاهش قابل توجه کلسترول کل و افزایش قابل توجه HDL نسبت به گروه کنترل و آنتی بیوتیک شد. تیتراژ آنتی بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل (NDV) تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار نگرفت. جمعیت *E. coli* در جوجه های گوشتی تغذیه شده با آنتی بیوتیک و پودر دانه اسپند به طور قابل توجهی کمتر از گروه شاهد بود، اما جمعیت باکتری های لاکتوباسیل تنها توسط آنتی بیوتیک افزایش یافت. به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن پودر دانه اسپند می تواند تأثیر مثبتی بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و میکرو فلور دستگاه گوارش داشته است.

واژگان کلیدی: جوجه های گوشتی، دانه اسپند، آنتی بیوتیک، پاسخ ایمنی، پارامترهای بیوشیمیایی خون

مقدمه

مانند ضد باکتری و ضد قارچ (۱۲)، ضد کوکسیدیوز (۳۳)، ضد عفونی کننده (۲۷)، تقویت رشد (۳۰) و کاهش کلسترول و اثرات محافظت کبدی (۱۳)، کاهش گلوکز (۲۹)، مهار مونوآمینوآکسیداز (۲۵)، هیپوترمی (۲)، جلوگیری از تجمع پلاکت ها (۲۴)، اثرات تعدیل سیستم ایمنی (۱۴) و ضد التهابی (۲۰) می باشد. ارشد و همکاران (۲۰۰۸) اعلام کردند که عصاره اسپند فعالیت ضد میکروبی محدودی در برابر *E.coli* در داخل بدن دارد. تنویر و همکاران (۲۰۱۴) نتیجه گرفتند که اسپند اثر ضد کوکسیدیوزی در جوجه های گوشتی دارد. گزارش شده است که غلظت HDL و LDL خون به ترتیب با استفاده از عصاره متانولی اسپند در جیره غذایی جوجه های گوشتی افزایش و کاهش می یابد (۳۱). علی رغم این یافته ها، اطلاعات کمی در رابطه با اثر اسپند بر روی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون و میکروفلور روده در مقایسه با محرک رشد آنتی بیوتیکی در جوجه های گوشتی وجود دارد. بنابراین، مطالعه حاضر به منظور مقایسه و بررسی تأثیر دو سطح پودر دانه اسپند و آنتی بیوتیک لینکومایسین بر روی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون و میکرو فلور روده و عکس عمل ایمنی در جوجه های گوشتی انجام گرفت.

۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم لینکومایسین ۸۸ درصد (A) و جیره های غذایی حاوی ۲ گرم در کیلوگرم (H1) و ۴ گرم در کیلوگرم (H2) پودر دانه اسپند بود. جیره پایه (جدول ۱) با توجه به احتیاجات غذایی (NRC 1994) بر پایه کنجاله ذرت و سویا برای دو دوره آغازین (۱ تا ۲۱ روزگی) و رشد (۲۲ تا ۴۲ روز) فرموله گردید. پودر دانه اسپند و آنتی بیوتیک به جیره پایه اضافه گردید.

محرک های رشد مانند آنتی بیوتیک ها در تولید تجاری طیور نقش فعالی دارند. اگرچه نتایج خوبی با این مواد بدست می آید، اما استفاده از آنها ممکن است دارای اثرات نامطلوبی روی سلامت انسان باشد (۹). به همین دلیل، اخیراً کاربرد بسیاری از محرک های رشد آنتی بیوتیکی در خیلی از کشورها ممنوع شده است. دانشمندان به دنبال جایگزین هایی برای این مواد هستند که این اثرات سوء را نداشته باشد. گیاهان دارویی به مدت طولانی در درمان برخی بیماری ها در انسان مورد استفاده قرار گرفته اند. در عمل گیاهان، عصاره ها و اجزای استخراج شده از آنها به عنوان جایگزینی برای محرک های رشد آنتی بیوتیکی مورد استفاده قرار گرفته اند (۱۶، ۷). اسپند با نام علمی *Peganum harmala* از خانواده زیگوفلاسه (*Zygophyllaceae*)

می باشد. این ماده برای درمان طیف وسیعی از بیماریهای انسانی مورد استفاده قرار گرفته است (۶). این گیاه حاوی چندین آلکالوئید بتاکاربولین مانند هارمالین، هارمین، هارمالول و هارمول است. این ترکیبات دارای برخی از فعالیتهای دارویی و بیولوژیکی

مواد و روش ها

جهت انجام این آزمایش ۲۴۰ جوجه گوشتی یک روزه (میانگین وزن اولیه: $37/5 \pm 1$ گرم) سویه راس ۳۰۸ بطور تصادفی در ۱۶ قفس زمینی با بستر تراشه چوب توزیع گردیدند. آزمایش شامل ۴ تیمار و هر تیمار شامل ۴ تکرار بود. تیمارهای آزمایشی شامل کنترل - (C) بدون دانه اسپند و آنتی بیوتیک، جیره غذایی حاوی

لازم حتی الامکان منطبق با روشهای توصیه شده تجاری به عمل آمد. در هفته اول دمای محیط حدود ۳۳ درجه سانتیگراد بود و سپس هر هفته حدود سه درجه دما کاهش یافت تا نهایتاً در ۲۲ درجه سانتیگراد حفظ گردید.

اسپند از بازار محلی تهیه شد. سپس بذرهای خشک از مواد و دانه های خارجی پاک شد و با استفاده از آسیاب به صورت پودر نرم درآورده شد. در طول دوره پرورش که تا سن ۴۲ روزگی بطول انجامید دسترسی پرندگان به آب و خوراک آزاد بود. مراقبت های

جدول ۱- ترکیب اقلام خوراکی (درصد) و مواد مغذی جیره پایه

اقلام خوراکی	جیره آغازین (۲۱-۰ روزگی)	جیره رشد (۲۱-۴۲ روزگی)
دانه ذرت	۵۴/۳۵	۶۵/۶۳
کنجاله سویا	۳۷/۸۱	۲۹/۲۸
روغن سویا	۴/۰۰	۱/۷۵
دی کلسیم فسفات	۱/۲۹	۱/۰۹
پودر صدف	۱/۴۱	۱/۳۲
نمک	۰/۴۴	۰/۳۱
پیش مخلوط ویتامینی	۰/۲۵	۰/۲۵
پیش مخلوط معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵
دی - ال - متیونین	۰/۱۴	۰/۰۶
لیزین	۰/۰۶	۰/۰۶
انرژی قابل متابولیسم ظاهری (Kcal/ kg)	۳۰۰۰	۳۰۰۰
پروتئین خام (%)	۲۱/۵۷	۱۸/۷۴
کلسیم (%)	۰/۹۴	۰/۹۱
فسفر قابل دسترس (%)	۰/۳۸	۰/۳۳
متیونین (%)	۰/۵۵	۰/۳۶
لایزین (%)	۱/۱۵	۰/۹۵
متیونین + سیستین (%)	۰/۹	۰/۶۸

- پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون

از سیاهرگ زیر بال آنها تهیه و در لوله های غیر همپارینی ویژه ریخته شد. نمونه ها یک ساعت در دمای اتاق و سپس بطور مورب در فلاسک یخ قرار گرفتند تا لخته به وجود آمده از سرم جدا شود.

برای تهیه نمونه های خون جهت آزمایشات بیوشیمیایی، بعد از ۸ ساعت گرسنگی در پایان دوره آزمایش از هر تکرار دو جوجه انتخاب شد. با استفاده از سرنگ یکبار مصرف ۵ میلی لیتر خون

(Fulka 92435) اندازه گیری شد. جمعیت باکتری های ایکلای با استفاده از محیط کشت پلیت کانت آگار (Fluka 80961) و محیط کشت (Fluka 92435) TBX Agar شمارش گردید. نتایج به صورت واحدهای تشکیل دهنده کلنی بر پایه لگاریتم ۱۰ در هر گرم مواد هضمی گزارش گردید.

- تجزیه آماری

تجزیه آماری داده ها بوسیله نرم افزار آماری SAS (۲۶) و تحت آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت. مقایسه نتایج مربوط به تیتراژ آنتی بادی بیماری نیوکاسل پس از اعمال تبدیل لگاریتمی (بر مبنای ۱۰) بر روی داده های اولیه انجام گرفت.

داده های حاصل از این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و طبق مدل آماری زیر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

$$y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{هر یک از مشاهدات}$$

$$\mu : \text{میانگین جامعه}$$

$$T_i : \text{اثر تیمارها}$$

$$\varepsilon_{ij} : \text{خطای آزمایشی}$$

سپس نمونه ها به آزمایشگاه منتقل شدند و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند تا سرم آنها جدا شود. مقادیر تری آسید گلیسرول، HDL، LDL، پروتئین کل، با استفاده از کیت های تجاری (پارس آزمون) با دستگاه اتوآنالایز (آلیسون-۳۰۰، آمریکایی) اندازه گیری شدند.

- تعیین تیتراژ آنتی بادی

جوجه ها در سن ۷ روزگی واکسن تزریقی نیوکاسل سویه لاسوتا را برای ایمن سازی دریافت نمودند. ایمن سازی مطابق برنامه واکسیناسیون دامپزشکی شهرستان بروجرد انجام شد. به منظور ارزیابی پاسخ ایمنی در جوجه ها، خونگیری در روزهای ۷ و ۱۴ بعد از ایمن سازی انجام شد. برای اندازه گیری تیتراژ آنتی نیوکاسل از تست ممانعت از آگلوتیناسیون (HI) استفاده شد (۳۴).

- جمعیت باکتری های انتخابی روده

برای اندازه گیری جمعیت میکروارگانیزم های انتخابی در روده از ۳۲ پرنده (۲ پرنده در هر تکرار) نمونه هایی از محتویات ایلئومی جمع آوری گردید و برای سنجش های میکروبی ظرف یک ساعت از زمان جمع آوری مورد استفاده قرار گرفتند. برای شمارش باکتری های لاکتوباسیل و اشریشیا کلی توسط تکنیک های مرسوم میکروبیولوژیکی با استفاده از محیط های کشت انتخابی آگار، نمونه های گرفته شده به طور سریالی در محلول نمکی استریل ۰/۸۵ درصد رقیق شدند. تمام اندازه گیری های میکروبیولوژیکی در دو تکرار انجام گرفت و میانگین آن ها برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد. جمعیت باکتری های لاکتوباسیل در شرایط غیر هوازی با بکار بردن محیط کش آگار MRS

نتایج

- متابولیت های سرم خون

گروهی که آنتی بیوتیک دریافت کرده بودند، شد (جدول ۲). مقدار HDL با استفاده از ۲ گرم در کیلوگرم پودر دانه اسپند در جیره غذایی افزایش یافت، اما اختلاف آن برای مقدار ۴ گرم در کیلوگرم معنی دار نبود. مقادیر تری گلیسیرید، LDL و پروتئین کل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند.

استفاده از ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم پودر دانه اسپند در جیره غذایی منجر به کاهش قابل توجه کلسترول کل نسبت به گروه شاهد و

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت متابولیت های سرم

تیمارهای آزمایشی					
فراسنجه	C	A	H1	H2	SEM
تری گلیسیرید (میلی گرم در دسی لیتر)	۶۹/۵۰	۷۴/۰۰	۸۰/۵۰	۸۵/۰۰	۳/۳۱
کلسترول کل ((میلی گرم در دسی لیتر)	۱۰۸/۰۰ ^b	۱۱۳/۲۵ ^b	۱۱۹/۳۰ ^{ab}	۱۲۵/۵۰ ^a	۲/۳۲
LDL (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۴/۰۰	۱۳/۷۵	۱۵/۰۰	۱۳/۷۵	۰/۶۹
HDL (میلی گرم در دسی لیتر)	۸۴/۷۵ ^{ab}	۸۲/۰۰ ^b	۹۱/۰۰ ^a	۸۶/۷۵ ^{ab}	۱/۴۶
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)	۳/۲۰	۳/۲۵	۳/۱۸	۳/۲۰	۰/۰۵

^{abc} میانگین های داخل هر سطر با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی داری با هم می باشند. ($p < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین

توجهی بر روی تیتراژ آنتی بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل در

سن ۱۴ و ۲۱ روزگی ایجاد کند ($P > 0.05$).

- عیار پادتن ویروس بیماری نیوکاسل

همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است، استفاده از آنتی بیوتیک و پودر دانه اسپند در جیره غذایی نتوانست تأثیر قابل

جدول ۳- عیار تیتراژ آنتی بادی بیماری نیوکاسل

تیمارهای آزمایشی					
SEM	H2	H1	A	C	فراسنجه
۰/۰۱۴	۰/۷۳۷(۵/۵۰)	۰/۷۰۶(۵/۱۳)	۰/۷۵۰(۵/۶۳)	۰/۶۹۶(۵/۰۰)	تیترا آنتی بادی ۱۴ روزگی *
۰/۰۱۳	۰/۸۲۸(۶/۵۰)	۰/۸۰۷(۶/۵۰)	۰/۸۱۷(۶/۶۳)	۰/۸۱۲(۶/۵۰)	تیترا آنتی بادی ۲۱ روزگی

* اعداد داخل پرانتز تیترا آنتی بادی و اعداد خارج پرانتز لگاریتم آن ها می باشد.

SEM: خطای استاندارد میانگین

- جمعیت باکتری های انتخابی روده

آنتی بیوتیک و پودر دانه اسپند دریافت کرده بودند، به طور قابل توجهی کمتر از گروه شاهد بود. البته تأثیر آنتی بیوتیک بر روی آن بیشتر از پودر دانه اسپند بود. تفاوت بین گروه های H1 و H2 معنی دار نبود. جمعیت باکتری های لاکتوباسیل فقط توسط آنتی بیوتیک افزایش یافت و تفاوت بین گروه های کنترل و گروه های حاوی پودر دانه اسپند معنی دار نبود ($P > 0.05$).

داده های مربوط به جمعیت باکتری های ایلئوم جوجه های گوشتی در سن ۴۲ روزگی در جدول ۴ نشان داد شده است. استفاده از آنتی بیوتیک و پودر دانه اسپند در جیره غذایی تأثیر معنی داری ($P \leq 0.05$) بر روی جمعیت باکتری های ایکلاهی و لاکتوباسیل داشت. جمعیت باکتر های ایکلاهی در پرندگانی که

جدول-۴- میانگین جمعیت میکروبی روده (CFU/g)

تیمارهای آزمایشی					
SEM	H2	H1	A	C	فراسنجه
۰/۱۰۲	۶/۳۲۵ ^b	۶/۴۲۵ ^b	۵/۸۵۰ ^c	۶/۸۷۵ ^a	اشرشیاکلاهی
۰/۰۸۲	۴/۸۵ ^b	۴/۷۰۰ ^b	۵/۲۲۵ ^a	۴/۶۷۵ ^b	لاکتوباسیل

^{abc} میانگین های داخل هر سطر با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی داری باهم می باشند. ($p < 0.05$).

SEM: خطای استاندارد میانگین

بحث

۱۰ درصد برگ گیاه اسپند استفاده می کنند، کاهش می یابد. ابازا و همکاران (۲۰۰۳) ۲/۵ کیلوگرم دانه اسپند و ۲/۵ کیلوگرم گل بابونه را به ازای هر تن جیره غذایی در جوجه های گوشتی مورد استفاده قرار دادند و مشاهده کردند که کلسترول سرم در مقایسه با گروه شاهد کاهش می یابد. در مقابل این یافته ها، حسن زاده و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از عصاره آبی و اتانولی دانه های اسپند تفاوت معنی داری در کلسترول کل و HDL مشاهده نکردند.

تنوبر و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که ۲۵۰ میلی گرم در لیتر عصاره متانولی دانه اسپند در آب آشامیدنی باعث کاهش کلسترول کل، تری گلیسیریدها و LDL و افزایش HDL در جوجه های گوشتی می شود. اینی و همکاران (۲۰۱۴) نتایج مشابهی را در موش صحرایی نر نژاد ویستار گزارش کردند. قزن (۲۰۰۹) دریافت که غلظت کلسترول سرم در جوجه هایی که از جیره غذایی حاوی

نتایج تنویر و همکاران (۲۰۱۴) می باشد. آن ها گزارش کردند که عصاره متانولی اسپند هنگامی که به میزان ۲۵۰ میلی گرم در لیتر آب اشامیدنی جوجه های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد، به طور قابل توجهی باعث بهبود تیترا آنتی بادی علیه ویروس نیوکاسل در روزهای ۲۱ و ۲۸ می شود. قرقانی پور و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که عصاره اسپند با دز بهینه ی ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم می تواند به عنوان محرک سیستم ایمنی عمل کرده و پاسخ ایمنی ماهیان پرورشی را افزایش دهد.

نتایج نشان داد که اسپند باعث کاهش جمعیت باکترهای ایکلاهی در روده می گردد. گزارش شده است که گیاه اسپند دارای اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی است (۲۸). به طور سنتی با سوزاندن بذره های آن در ایران به عنوان یک ماده ضد عفونی کننده مورد استفاده قرار می گیرد (۵). نشان داده شده است که عصاره اتانولی اسپند دارای فعالیت ضد باکتریایی بالایی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (۱۹)، و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم در برابر سفیکسیم (۲۱) می باشد. ارشد و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که عصاره اسپند دارای فعالیت ضد میکروبی محدودی علیه باکتری ایکلاهی در داخل بدن موجود زنده می باشد، اما تغذیه طولانی مدت آن ممکن است دارای اثرات نامطلوبی باشد. عبدالعزیز و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که آکالوئید- β کاربولین جدا شده از قسمتهای هوایی گیاه اسپند، فعالیت ضد باکتریایی قابل توجهی در برابر استرپتوکوکوس پیوژنوس نشان می دهد. گزارش شده است که هارمن به عنوان یک آکالوئید بسیار معطر فعالیت ضد باکتریایی خود را از طریق

تفاوت در نتایج بدست آمده در مورد کلسترول احتمالاً به دلیل تفاوت در طرح های آزمایشی، سن و گونه های حیوانی و قسمت های گیاه مورد استفاده است. آنزیم اصلی که در تنظیم متابولیسم کلسترول نقش دارد، ۳-هیدروکسی-۳-متیل-گلو تاریل کوآنزیم آ (HMGCoA) ردوکتاز (آنزیم محدود کننده سرعت در مسیر بیوسنتز کلسترول) است. بازدارنده های این آنزیم با مهار رقابتی در تولید کلسترول تداخل ایجاد می کنند. در نتیجه آنها باعث کاهش کلسترول کل، LDL، آپولیپوپروتئین B، VLDL و تری گلیسیریدهای پلاسما می شوند. آنها همچنین غلظت سرمی HDL را افزایش می دهند (۱۰). ممکن است که آنزیم HMGCoA ردوکتاز توسط آکالوئیدهای مختلف هارمین، هارمالین، هارمول موجود در اسپند مهار شده باشد. این گیاه خاصیت آنتی اکسیدانی دارد (۱۸) که باعث کاهش اکسیداسیون LDL و در نتیجه کاهش کلسترول کل می شود. بروگوی و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که هارمالین به طور قابل توجهی ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به هارمین در مهار یا ظرفیت جلوگیری کننده در برابر رادیکال های آزاد دارد.

نتیجه این آزمایش نشان داد که، پاسخ های ایمنی هومورال تحت تأثیر جیره های غذایی نگرفتند. از آنجا که در رابطه با اسپند فعالیت ضد میکروبی (۱۲) و فعالیت آنتی اکسیدانی (۳۳) گزارش شده است، افزایش پاسخ ایمنی جوجه ها گوشتی مورد انتظار بود. نتایج مشابهی در برخی تحقیقات قبلی (۱۵ و ۲۳) با سایر گیاهان گزارش شده است. متأسفانه گزارش کمی در مورد اثرات اسپند بر پاسخ ایمنی پرندگان وجود دارد. نتیجه این مطالعه در تضاد با

کلات شدن داخلی با DNA انجام می دهد(۱۱). بنابراین این مکانیسم ضد باکتریایی باید برای عصاره فعال گیاه اسپنددر نظر گرفته شود.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر با هزینه مالی دانشگاه آزاد واحد بروجرد انجام گرفته است که بدین وسیله تشکرو قدردانی می شود.

منابع

- 1- Abdel Aziz H.G., Abdel Kader S.M., El-Sayed M.M., EL-Malt E.A., Shaker E.S. (1999). Novel β -Carboline alkaloid from *Peganum Harmala* as antibacterial agent. in proc. Tenth Radiation Physics & Protection Conference, Nasr City - Cairo, Egypt, 27-30.
- 2- Abdel-Fattah A.F., Matsumoto K., Gammaz H.A., Watanabe H. (1995). Hypothermic effect of harmala alkaloid in rats: involvement of serotonergic mechanism. Pharmacol. Biochem. Behav., 52(2): 421-426.
- 3- Abaza I.M., Asar M.A., Elshaarrawi G.E., Hassan M.F. (2003). Effect of using Nigella seeds, Chamomile flowers, Thyme flowers and Harmala seeds as feed additives on performance of broiler. Egypt. J. of Agric. Res., 81(2): 735-750.
- 4- Arshad M., Akhtar A., Jan S., (2014). Association of *peganum harmala* Supplementation with immunity against ND, IB and IBD in broiler chicks. Pakistan Journal of Science. 66(1): 88-94.
- 5- Arshad N., Zitterl-Eglseer K., Hasnain S., Hess M. (2008). Effect of *Peganum harmala* or its beta-carboline alkaloids on certain antibiotic resistant strains of bacteria and protozoa from poultry. Phytother. Res., 22(11): 1533-1538.
- 6- Aslam N., Wani A.A., Nawchoo I.A., Bhat M.A. (2014). Distribution and Medicinal importance of *Peganum harmala*- A review. Int J Adv Res., 2(2): 751-755.
- 7- Ayasan T. (2013). Effects of dietary Yucca schidigera on hatchability of Japanese Quails. Indian J Anim Sci., 83(6): 641-644.
- 8- Berrougui H., Isabelle M., Cloutier M., Hmamouchi M., Khalil A. (2006). Protective effects of *Peganum harmala* L. extract, harmine and harmaline against human low-desity lipoprotein oxidation. J. Pharmacy & Pharamacol., 58(7): 967-974.
- 9- Burgat V. (1991). Residues of drugs of veterinary use in food, La Revue du Praticien 41(11): 985-990.
- 10- Ciftci M., Simsek U.G., Yuce A., Yilmaz O., Dalkilic B. (2010). Effects of dietary antibiotic and cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and meat in broiler chickens. Acta Vet. Brno., 79(1): 33-40.
- 11- Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol Rev., 12(4): 564- 582.
- 12- Darabpour E., Motamedi H., Poshtkouhian Bavi A., Seyyed Nejad S.M. (2011). Antibacterial activity of different parts of *Peganum harmala* L. growing in Iran against multi-drug resistant bacteria. EXCLI J., 10: 252-263.
- 13- Eini A.M., Fazaely H., Moharrami Fard M., Meini M., Drab M., Ahmadi Far M. (2014). Effect of *Peganum harmala* L. on lipid parameters in hypercholesterolemia-induced male Wistar Rat. Academia Journal of Medicinal Plants. 2(5): 074-078.
- 14- Ghareghani Poor M., Akbary P., Akhlaghi M., Fereidouni M.S. (2008). Nonspecific immune response of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*, walbaum) fed with seed extract of *peganum harmala* L. Indian J of Fundamental and Applied Life Sciences. 4(3): 249-255.
- 15- Goodarzi M., Landy N. Nanekarani Sh. (2013). Effect of onion (*Allium cepa* L.) as an antibiotic growth promoter substitution on performance ,immune responses and serum biochemical parameters in broiler chicks. Health. 5(8): 1210-1215.
- 16- Goodarzi M., Mohtashami Pour N., Modiri D. (2014). The effect of savory (*Satureja khuzistanica*) essential oils on performance and some blood biochemical parameters of Ross and Cobb broilers. Annu. res. rev. in biol., 4(24): 4336-4343.
- 17- Hasanazadeh Tahery M.M., Hassanpour Fard M., Rabiee N., Ghorishe A., Ravanbakhsh, N. (2013). Effects of aqueous and ethanolic extracts of *Peganum harmala* L. seeds on lipids profile in rats. Journal of Birjand University of Medical Sciences 20(2): 108-114.
- 18- Jinous A., Fereshteh R. (2012). Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. Afr. J. Pharm. Pharmacol., 6(22): 1573-1580.
- 19- Moghadam M.S., Maleki S., Darabpour E., Motamedi H., Seyyednejad S.M. (2010). Antibacterial activity of eight local plant extracts in Khouzestan, Iran against methicillin and cefixime resistant *Staphylococcus aureus* strains. Asian pacific J Trop Med., 3(4): 262- 265.

- 20- Monsef H.R., Ghobadi A., Iranshahi M., Abdollah M. (2004). Antinociceptive effects of *Peganum harmala* L. alkaloid extract on mouse formalin test. J. Pharm. Sci. 7(1): 221-222.
- 21- Prashanth D., John S. (1999). Antibacterial activity of *Peganum harmala*. Fitoterapia. 70(4): 438-439.
- 22- Qazan W.S. (2009). The effect of low levels of dietary *Peganum harmala* L. and *Ballota undulata* or their mixture on chicks. J Anim Vet Adv., 8(8): 1535-1538.
- 23- 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. J of Agricul Sci and Techn., 13(4): 527-539.
- 24- Saeed S.A., Farnaz S., Simjee R.V., Malik A. (1993). Triterpenes and β - sitosterol from piper betel: Isolation antiplatlet and anti-inflammatory effects. Biochem soc Trans., 21(4): 462s.
- 25- Salari E., Ahmadi K., Dehyaghobi R.Z., Purhematy A. Takaloozadeh H.M. (2012). Toxic and repellent effect of harmal (*Peganum harmala* L.) acetonic extract on several aphids and *Tribolium castaneum*. Chilean J of Agricul. Res., 72: 147-151.
- 26- SAS. (1998). User's Guide, Statistics. SAS Institute, Cary, NC. Schmidt, E. and F.W.
- 27- Shahverdi A.R., Monsef-Esfahani H.R., Nickavar B., Bitarafan L., Khodae S. Khoshakhlagh N. (2005). Antimicrobial activity and main chemical composition of two smoke condensates from *Peganum harmala* seeds. J of Biosci., 60(10): 707-710.
- 28- Shonouda M., Osman S., Salama O., Ayoub A., (2008).Toxical effect of *Peganum harmala* L. leaves on the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* Boised and its parasitoids *Microlitis refiventris* Kok. Pak J Biol Sci., 11(4): 546-552.
- 29- Singh A.B., Chaturvedi J.P., Narender T. Srivastava A.K. (2008). Preliminary studies on the hypoglycemic effect of *Peganum harmala* L. Seeds ethanol extract on normal and streptozotocin induced diabetic rats. Indian J of Clini Bioch., 23: 391-393.
- 30- Tanweer A.J., Chand N., Khan S., Qureshi M.S., Akhtar A., Niamatullah M. (2012). Impact of methanolic extract of *Peganum Harmala* on the weight gain, feed conversion ratio, feed cost and gross return of broiler chicks. J Anim Plant Sci., 22(2), 264-267.
- 31- Tanweer A.J., Chand N., Khan S., Sultan S., Qureshi M.S., Akhtar A. Inam M. (2013). Association of *Peganum harmala* L. supplementation with lipid profile and its economic benefit in broiler production. Pak Vet J., 33(3): 313-316.
- 32- Tanweer A.J., Chand N., Khan S., Qureshi M.S., Sadique U., Rehman A.U., Sultan A., Arshad M., Akhtar A., Jan S. (2014a). Association of *peganum harmala l*. Supplementation with immunity against ND, IB and IBD in broiler chicks. Pak J of Sci., 66(1): 88-94.
- 33- Tanweer A.J., Chand N., Saddique U., Bailey C.A., Khan R.U. (2014b). Antiparasitic effect of wild rue (*Peganum harmala* L.) against experimentally induced coccidiosis in broiler chicks. Parasitol. Res., 113: 2951-2960.
- 34- Thayer S.G., Beard C.W. (1998). Serologic proce- dures. In: Swayne, D.E., Ed., *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*. 4th Edition, American Association of Avian Pathologists, Phi- ladelphia, pp. 256-258.

Effect of *Peganum harmala* Seeds on Blood Factors, Immune Response and Intestinal Selected Bacterial Population in Broiler Chickens

Majid Goodarzi^{1*}, Shahram Nanekarani¹, Reza Goodarzi²

1-Department of Animal Science, College of Agriculture, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran

2-Department of Veterinary, College of Agriculture, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran

Corresponding Author: *Majidgoodarzi117@gmail.com

Abstract

This experiment was designed to study the effects of feeding different levels of *Peganum harmala* seeds (PHS) and antibiotic on serum biochemical parameters, immune response and intestinal microflora composition in Ross (308) broiler chickens. A total of 240 one-d-old unsexed broiler chickens were randomly allocated to each of the 4 treatment groups, each with 4 replicate pens of 15 chicks. The dietary treatments included of control (C) - without PHS and antibiotic - the diet contains 300 mg/Kg Lincomycin 0.88% (A) and the diets contain 2g/Kg (H1) and 4g/Kg (H2) PHS. The chicks were raised on floor pens for 6 weeks. Blood samplings were performed for determine of antibody titer against Newcastle disease on 14 and 21 days and for biochemical parameters on 42 days of age. The populations of *Lactobacilli* spp. and *Escherichia coli* were enumerated in ileum by conventional microbiological techniques using selective agar media. Inclusion of PHS in diet resulted in a significant decrease in total cholesterol and significant increase in HDL relative to the control and antibiotic groups. Antibody titer against NDV was not affected by experimental treatments. The *E. coli* population in birds supplemented with antibiotic and PHS was significantly lower than control but the *Lactobacilli* spp. population increased only by antibiotic and not by PHS. In conclusion, the results of this study showed that addition of *Peganum harmala* seeds powder seem to have had a positive influence on some biochemical parameters and gastrointestinal microflora.

Keywords: broiler, *peganum harmala*, antibiotic, biochemical parameters, immune system