نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۴، پاییز ۱۳۹۸
ص‌ص: ۴۱~۵۸

اثر سطوح مختلف پودر گیاهان دارویی آویشن‌شیرازی و مریم‌گلی، مخلوط آن‌ها و پروبیوتیک بر صفات کیفی تخم‌مرغ، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و تغییرات هیستومورفولوژیک کبد مرغ‌های تخم‌گذار

- **وحید خسروی**
  دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
- **سید امیرحسین مهدوی** (نویسنده مسئول)
  دانشیارگروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
- **حمیدرضا رحمانی**
  استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
- **احمد ریاسی**
  دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت : خرداد ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش : مهر ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۳۱۳۳۹۱۳۴۳۵
Email mahdavi@cc.iut.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.121979.1705

چکیده

به‌منظور بررسی اثر پودر گیاهان دارویی آویشن‌شیرازی، مریم‌گلی، مخلوط آویشن‌شیرازی و مریم‌گلی و نیز پروبیوتیک پروتکسین بر صفات کیفی تخم‌مرغ، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و تغییرات هیستومورفولوژیک کبد مرغ‌های تخم‌گذار، آزمایشی با استفاده از تعداد ۲۲۵ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن، بعد از اوج تولید (۴۲ هفتگی) به مدت۱۰هفته انجام پذیرفت. مرغ‌ها به صورت تصادفی بین ۹ تیمار آزمایشی متشکل از ۵ تکرار و ۵ قطعه مرغ در هر تکرار اختصاص یافتند. تیمارها شامل گروه شاهد، سطوح ۰/۲ و ۰/٤ درصد پودر برگ آویشن شیرازی، ۰/۲ و ۰/٤ درصد پودر برگ مریم‌گلی، ۰/۲ و ۰/٤ درصد مخلوط مساوی از آویشن‌شیرازی و مریم‌گلی و ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱ درصد از پروبیوتیک پروتکسین بودند. نتایج بیانگر آن بود که استفاده از سطح ۰/٤ درصد مخلوط مساوی از پودر برگ آویشن و مریم‌گلی موجب کاهش حاشیه‌ای وزن نسبی کبد (P=۰/۰۷)، کاهش فعالیت آنزیم‌های سرمی SGOT (P=۰/۰۸) و SGPT (P<۰/۰۵) و نیز افزایش قابل‌ملاحظه دانسیته رنگ هپاتوسیت‌ها (P<۰/۰۵) و HDL پلاسما (P<۰/۰۵) شد. استفاده از مخلوط پودر گیاهان دارویی مورد آزمون در سطح ۰/٤ درصد سبب افزایش حاشیه‌ای وزن پوسته (P=۰/۰٦) و افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) استحکام پوسته، شاخص رنگ زرده و نیز واحد هاو در دوره آزمایش ٤۸ تا ۵۲ هفتگی شد. لذا یافته‌های مطالعه حاضر پیشنهاد دهنده آن است که بهره‌گیری از سطح ۰/٤ درصد مخلوط پودر گیاهان دارویی آویشن‌شیرازی و مریم‌گلی می‌تواند سبب بهبود قابل ملاحظه شاخص‌های سلامت کبد، پروفیل چربی‌های خون و صفات کیفی تخم‌مرغ هم‌چون استحکام پوسته، شاخص رنگ زرده و واحد هاو نسبت به دیگر سطوح گیاهان دارویی و یا پروبیوتیک شود.

واژه‌های کلیدی: آویشن‌شیرازی، مریم‌گلی، کیفیت تخم‌مرغ، سلامت کبد، مرغ‌های تخم‌گذار.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 124 pp: 41-58

The Effect of Different Levels of *Zataria multiflora* and *Salvia officinalis* Medicinal Plants' Powder, Their Mixture and Probiotic on Egg Quality Traits, Blood Biochemical Parameters and Liver Histomorphological Changes in Laying Hens

By: Vahid Khosravi[1], Amir Hossein Mahdavi*[2], Hamid Reza Rahmani[3] and Ahmad Riasi[2]
1, 2, 3. M.Sc. Student, Associate Professor and Professor, Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

.

Received: June 2018 **Accepted: October 2018**

The current study was conducted to evaluate the effect of different levels of *Zataria multiflora*, *Salvia officinalis*, the mixture of *Zataria multiflora* and *Salvia officinalis* as well as probiotic (Protexin®) on egg quality traits, blood biochemical parameters and liver histomorphological changes in laying hens. A test was performed using 225 Leghorn laying hens, after peak of egg production (42 weeks old), for 10 weeks. The birds were randomly assigned into 9 experimental treatments with 5 replicates and 5 birds in each. Experimental treatments consisted of a control group, 0.2 and 0.4% *Zataria multiflora* leaf powder, 0.2 and 0.4% *Salvia officinalis* leaf powder, 0.2 and 0.4 the equal mixture of *Zattaria multiflora* and *Salvia officinalis* and 0.005 and 0.01% probiotic (Protexin®). Our results indicated that using 0.4% of *Zataria multiflora* and *Salvia officinalis* leaf powder mixture marginally reduced the relative weight of liver (P=0.07), decreased serum activities of SGOT (P=0.08) and SGPT (P<0.05), and also increased hepatocytes color density (P<0.05) and HDL concentration (P<0.05). Feeding 0.4% of the medicinal plants mixture increased eggshell weight, slightly (P=0.06), and enhanced eggshell hardness (P<0.05), yolk color (P<0.05), and Haugh unit, significantly (P<0.05) during the second 35-day experimental period (48-52 weeks of age). Therefore, the present findings suggest that dietary inclusion of 0.4% mixture of powdered herbs of *Zattaria multiflora* and *Salvia officinalis* can improve the liver health indices, blood lipid profile and egg quality traits, such as eggshell hardness, yolk color index, and haugh unit compared to other medicinal plants levels or probiotic, markedly.

Key words: Zataria multiflora, Salvia officinalis, egg quality, liver health, laying hens.

مقدمه

امروزه با عنایت به وابستگی انسان‌ها و حیوانات به گیاهان و نیز ویژگی‌های دارویی منحصر به فرد بسیاری از آنها، تلاش جدی جهت استفاده بهینه از این منابع دارویی در راستای ارتقای شاخص‌های سلامت و عملکردی صورت پذیرفته است (Bulku و همکاران، ۲۰۱۰ ; Mamedov، ۲۰۱۲). عموماً گیاهان دارویی منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند (Behradmanesh و همکاران، ۲۰۱۳). گیاهان دارویی با ویژگی آنتی‌اکسیدانی عموماً متعلق به چند خانواده از جمله نعناعیان (رزماری، مریم‌گلی، پونه، مرزنجوش، ریحان و آویشن)، چتریان (زیره، رازیانه و غیره) و زنجبیلیان (زنجبیل و زردچوبه) می‌باشند (Skrovankova و همکاران، ۲۰۱۲). آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* یکی از گیاهان تیره *Lamiaceae* است (Shokri and Sharifzadeh، ۲۰۱۷). این گیاه حاوی ترکیباتی به نام تیمول و کارواکرول بوده که علاوه بر دارا بودن خواص ضد میکروبی (Talebzadeh و همکاران، ۲۰۱۲)، با مهار اکسیدنیتریک و پراکسیدهیدروژن تولید شده در مونوسیت‌ها می‌تواند موجبات کاهش تنش اکسیداتیو را فراهم آورند (Kavoosi and da Silva، ۲۰۱۲). مریم‌گلی نیز با نام علمی

Salvia officinalis عضوی از یک دسته مهم از خانواده *Lamiaceae* می‌باشد (Imanshahidi and Hosseinzadeh، ۲۰۰۶). از مهم‌ترین ترکیباتی که در گیاه مریم‌گلی وجود دارند، می‌توان به اسید کافئیک و رزمارینیک اسید اشاره نمود (Tanaka و همکاران، ۱۹۹۷). به‌طور کلی بیوسنتز رزمارینیک اسید با حضور اسیدهای آمینه L- فنیل‌آلانین و L- تیروزین آغاز شده و این ماده که استر ۳ و ۴- دی‌هیدروکسی‌فنیل‌لاکتیک‌اسید و کافئیک‌اسید می‌باشد، دارای فعالیت‌های ضد ویروسی، ضد باکتریایی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی است.

اسید رزمارینیک در گیاهان به عنوان یک ترکیب دفاعی انباشته شده و حضور آن دارای اثرات مفیدی بر ارتقاء سلامت می‌باشد (Petersen and Simmonds، ۲۰۰۳). همچنین حضور پلی‌فنول‌ها سبب مهار پراکسیداسیون چربی و بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی می شوند (Zimmermann و همکاران، ۲۰۱۱). به طور کلی پراکسیداسیون لیپید یک مکانیزم اتوکاتالیستی است که منجر به تخریب اکسیداتیو غشاء سلولی می‌شود (Rhee و همکاران، ۱۹۹۶). آنتی‌اکسیدان‌ها قادر به مهار گونه‌های اکسیژن فعال در سلول‌های زنده بوده و تیمول به عنوان یک آنتی‌اکسیدان با به اشتراک‌گذاری الکترون و تشکیل یک پیوند هیدروژنی درون ملکولی از تخریب سلول توسط رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند (Jebelli Javan and Jebeli Javan، ۲۰۱۴). این مواد زیست فعال گیاهی همچنین می‌توانند با تعدیل فراسنجه‌های پلاسمایی خون هم‌چون چربی‌ها، پروتئین‌های فاز حاد، آنزیم‌ها و یا یون‌ها (Koochaksaraie و همکاران، ۲۰۱۱) سبب بهبود شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ، خصوصاً کیفیت پوسته تخم مرغ شوند (Roberfroid، ۲۰۰۰).

نوبخت و مهمان نواز (۱۳۸۹) نشان دادند که استفاده از ۲٪ پودر گیاه آویشن در تغذیه مرغ‌های تخم‌گذار سبب بهبود واحد هاو و شاخص رنگ زرده تخم‌مرغ و نیز کاهش غلظت تری‌گلیسرید پلاسما گردید. وکیلی (۱۳۹۰) نیز گزارش نمود که به دنبال افزودن ۴۰ میلی‌لیتر عصاره الکلی آویشن به هر کیلوگرم خوراک مرغ‌های تخم‌گذار، میانگین وزن تخم‌مرغ، واحد هاو، مقاومت پوسته و غلظت کلسترول تخم‌مرغ کاهش و محتوای اسیدلینولنیک زرده تخم‌مرغ افزایش یافت. همچنین تغذیه ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم پودر برگ گیاه آویشن توانست موجبات کاهش غلظت کلسترول، LDL و تری‌گلیسرید پلاسما در جوجه‌های گوشتی را فراهم کند (فانی‌مکی و همکاران ۱۳۹۲). بهره‌گیری از سطوح ۱۵۰ تا ۴۵۰ میلی‌گرم اسانس مریم‌گلی ایرانی (مروتلخ) به ازای هر کیلوگرم خوراک، سبب کاهش غلظت LDL و تری‌گلیسرید پلاسمای جوجه‌های گوشتی شد (بیاتی و همکاران، ۱۳۹۶). نتایج بیکی و همکاران (۱۳۸۹) نیز بیانگر آن است که بهره‌گیری از ۰/۵ درصد مخلوط پودر گزنه و مریم‌گلی توانست سبب بهبود استحکام پوسته تخم‌مرغ شود. امروزه بسیاری از یافته‌ها به خوبی ثابت نموده‌اند که بهره‌گیری از مخلوط گیاهان دارویی با بروز اثرات هم‌افزایی می‌توانند موجبات تقویت و تعدیل شاخص‌های ایمونولوژیک و ضدمیکروبی (Lavinia و همکاران، ۲۰۰۹) و نیز بهبود مؤلفه‌های بیوشیمیایی خون و صفات عملکردی (Bolukbasi و همکاران، ۲۰۱۰) را فراهم آورند. چراکه بر اساس مطالعات صورت گرفته، عموماً پتانسیل مخلوط گیاهان دارویی در بروز اثرات بیولوژیک آنها بسیار قوی‌تر از اثرات انفرادی آنهاست (Almeida و همکاران، ۲۰۱۱).

از سوی دیگر، امروزه به خوبی ثابت شده است که بهره‌گیری از ترکیبات میکروارگانیسمی با ماهیت پروبیوتیکی نیز می‌توانند پاسخ‌های مشابهی را در رابطه با بهبود شاخص‌های سلامت خونی، همچون پروفیل چربی‌های خون، توان آنتی‌اکسیدانی و یا

معیارهای آنزیمی ایجاد نمایند. نتایج برخی از مطالعات بیان‌گر آن است که پروبیوتیک‌ها می‌توانند به طور موثری سبب کاهش سطح کلسترول خون شوند (Guo و همکاران، ۲۰۱۱). در این میان، مهار و یا کاهش نرخ جذب کلسترول از روده، کاهش راندمان بازجذب اسیدهای صفراوی به دلیل افزایش فرم‌های کونژوگه (Noh and Gilliland، ۱۹۹۳ ; Zhang و همکاران، ۲۰۱۲) و نیز تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر که در سنتز کلسترول درگیر هستند را می‌توان به عنوان مهم‌ترین مکانیسم‌های کنترلی کاهش سطح کلسترول خون دانست (Hara و همکاران، ۱۹۹۹). هرچند استفاده از پروبیوتیک‌ها با اهداف مختلفی در جیره‌های غذایی پرندگان صورت می‌گیرد، اما گونه‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (Kirpich and McClain، ۲۰۱۲)، *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* می‌توانند مهم‌ترین اثرات را بر عملکرد سیستم ایمنی و بهبود شاخص‌های سلامت برجای گذارند (Vlasova و همکاران، ۲۰۱۶). بهره‌گیری از این ترکیبات همچنین می‌توانند با تأثیراتی که بر کاهش رقابت میکروبی و کاهش pH دستگاه گوارش می‌گذارند، سبب افزایش زیست فراهمی مواد مغذی، هم‌چون پروتئین‌ها و یا فرم‌های یونیزه مواد معدنی شده و از این طریق شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ را بهبود دهند (Mahdavi و همکاران، ۲۰۰۵).

لذا با توجه به آنکه گیاهان دارویی و پروبیوتیک‌ها دارای اثرات مشترک زیستی بر شاخص‌های سلامت پرندگان و برخی صفات تولیدی آن‌ها می‌باشند، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی و مقایسه اثر سطوح مختلف پودر گیاهان دارویی آویش‌شیرازی، مریم‌گلی، مخلوط مساوی از این گیاهان دارویی و نیز میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی بر صفات کیفی تخم‌مرغ، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، وزن نسبی اندام‌های داخلی و نیز تغییرات هیستومورفولوژیک کبد مرغ‌های تخم‌گذار طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مهرماه ۱۳۹۴ و در مزرعه آموزشی- تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام گرفت. در این آزمایش تعداد ۲۲۵ قطعه مرغ تخم‌گذار (در سن ۴۲ هفتگی) سویه های- لاین (W_{36}, Hy-line)، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۹ تیمار، ۵ تکرار و ۵ مشاهده در هر تکرار توزیع شدند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد، سطوح ۰/۲ و ۰/۴ درصد پودر برگ گیاه آویشن‌شیرازی، ۰/۲ و ۰/۴ درصد پودر برگ گیاه مریم‌گلی، ۰/۲ و ۰/۴ درصد مخلوط آویشن‌شیرازی و مریم‌گلی و ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱ درصد پروبیوتیک پروتکسین بودند. جیره‌های آزمایشی بر اساس توصیه کاتالوگ سویه های- لاین (W36، ۲۰۱۱) تنظیم گردیدند (جدول ۱) و طی یک دوره ۸۰ روزه (شامل ۱۰ روز دوره عادت‌پذیری و ۷۰ روز دوره اصلی) در اختیار پرندگان قرار گرفتند.

سیستم نگهداری مرغ‌ها، از نوع سالن بسته با قفس‌های ردیفی و مجهز به آب‌خوری‌های پستانکی بود. برنامه نوری به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت خاموشی انجام شد. متوسط دمای سالن ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد بود و در تمام طول دوره، آب و غذا به صورت آزاد در اختیار مرغ‌ها قرار گرفت. در پایان هر دوره ۳۵ روزه ۳ عدد تخم‌مرغ از هر تکرار جمع‌آوری و برای اندازه‌گیری صفات کیفی تخم‌مرغ (وزن پوسته، ضخامت پوسته، استحکام پوسته، شاخص زرده، شاخص رنگ زرده، واحد هاو و شاخص شکل) به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

جدول ۱. اجزاء و ترکیب‌های شیمیایی جیره پایه

اجزای جیره	مقدار (٪)	ترکیب شیمیایی جیره مورد استفاده	
		آنالیز محاسبه شده	تأمین شده
ذرت، دانه	۵۶/۳۵	انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۸۲۰
کنجاله دانه سویا (روغن‌گیری با روش حلال)	۲۴/۴۶	پروتئین خام (درصد)	۱۵/۲۵
روغن سویا	۳/۹۷	کلسیم (درصد)	۴/۳۵
سبوس گندم	۲/۰۰	فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۶
دی‌کلسیم فسفات	۱/۸۰	پتاسیم (درصد)	۰/۶۹
کربنات کلسیم	۱۰/۲۱	کلر (درصد)	۰/۱۸
نمک طعام	۰/۲۴	سدیم (درصد)	۰/۱۹
دی ال- متیونین	۰/۱۷	لیزین (درصد)	۰/۷۹
بی‌کربنات سدیم	۰/۳۰	ترئونین (درصد)	۰/۵۹
مکمل ویتامینه[1]	۰/۲۵	متیونین (درصد)	۰/۴۲
مکمل مواد معدنی[2]	۰/۲۵	متیونین+ سیستئین (درصد)	۰/۶۷

[1] میزان ویتامین‌های تأمین شده توسط مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم خوراک: A، ۱۰۰۰۰ IU؛ D3، ۲۵۰۰ IU؛ E، ۱۰ IU؛ B1، ۲/۲ میلی‌گرم؛ B2، ۴ میلی‌گرم؛ B3، ۸ میلی‌گرم؛ B6، ۲ میلی‌گرم؛ B9، ۰/۵۶ میلی‌گرم؛ B12، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم؛ H2، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ کولین کلراید، ۲۰۰ میلی‌گرم.

[2] میزان مواد معدنی تأمین شده توسط مکمل معدنی در هر کیلوگرم خوراک: منگنز، ۸۰ میلی‌گرم؛ آهن، ۵۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۰ میلی‌گرم؛ مس، ۵ میلی‌گرم؛ ید، ۱ میلی‌گرم؛ و سلنیوم، ۰/۱ میلی‌گرم.

طول و عرض تخم‌مرغ توسط کولیس دیجیتال و استحکام پوسته با دستگاه استحکام‌سنج با دقت ۰/۱ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع اندازه‌گیری شد. همچنین محتویات تخم‌مرغ‌ها به روی سطح شیشه‌ای منتقل شد و با استفاده از میکرومتر سه‌پایه، ارتفاع سفیده در سه نقطه به فواصل یکسان از زرده و با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به عنوان ارتفاع نهایی سفیده تعیین شد. قطر زرده توسط کولیس با دقت ۰/۱ میلی‌متر، ارتفاع زرده با استفاده از میکرومتر سه‌پایه و شدت رنگ زرده توسط نوارهای رنگی استاندارد (Roche color fan) تعیین شد. قطر پوسته در سه محل (انتهای باریک، مرکز و انتهای پهن) به کمک میکرومتر و با دقت ۰/۰۱ میکرومتر اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به عنوان ضخامت نهایی پوسته در نظر گرفته شد (فلاح و همکاران، ۱۳۹۳). برای محاسبه واحد هاو، شاخص شکل و شاخص زرده از فرمول‌های زیر استفاده شد (Vakili and Majidzadeh Heravi، ۲۰۱۶).

$$HU = 100 \log10(H - 1.7W^{0.37} + 7.57)$$

HU = واحد هاو

W= وزن تخم‌مرغ (گرم)

H = ارتفاع سفیده (میلی‌متر)

$$\text{شاخص زرده} = \frac{\text{ارتفاع زرده(میلی‌متر)}}{\text{قطر زرده(میلی‌متر)}} \times 100$$

$$\text{شاخص شکل تخم‌مرغ} = \frac{\text{عرض تخم‌مرغ}}{\text{طول تخم‌مرغ}} \times 100$$

عملکرد اقتصادی در پایان دوره و بر اساس هزینه خوراک به ازای یک کیلوگرم تخم‌مرغ به‌دست آمد. هزینه خوراک به ازای یک کیلوگرم تخم‌مرغ با ضرب نمودن ضریب تبدیل (داده ها ارائه نشده است) در هزینه هر کیلوگرم خوراک برآورد گردید (Obih and Ekenyem، ۲۰۱۰). در پایان دوره آزمایش از هر تکرار ۲ قطعه پرنده به صورت تصادفی انتخاب و مقدار ۳ میلی‌لیتر خون از سیاهرگ بال تهیه و به لوله‌های آزمایشی حاوی هپارین منتقل شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پلاسمای نمونه‌ها جهت تعیین فراسنجه‌های بیوشیمیایی به آزمایشگاه منتقل شدند. فراسنجه‌های مورد بررسی

شامل غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و HDL و نیز فعالیت آنزیم‌های ALT، SGPT و SGOT بودند. غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید و HDL با بهره‌گیری از دستگاه اتوآنالایزر هیتاچی ۹۰۲ و توسط کیت‌های استاندارد شرکت پارس آزمون، اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم‌های ALP، SGPT، SGOT نیز به روش رایتمن و فرانکل (۱۹۵۷) و با استفاده از دستگاه ABA و کیت‌های مخصوص سنجش گردید.

همچنین در روز پایانی آزمایش، دو قطعه مرغ به شکل تصادفی به ازای هر تکرار انتخاب و کشتار گردیدند. سپس از قطعه راست کبد یک نمونه (۱×۱×۰/۵ سانتی‌متر) جهت بررسی تغییرات بافتی کبد جدا شد. برای جلوگیری از تخریب بافت، نمونه کبد بلافاصله در ظرف حاوی فرمالین ۱۰ درصد به عنوان تثبیت‌کننده قرار داده شد. به منظور تثبیت کامل نمونه کبد، فرمالین نمونه‌ها در ۳ نوبت و به فاصله ۴۸ ساعت تعویض گردید تا نمونه‌ها به‌طور کامل تثبیت گردند. پس از فرآیند قالب‌گیری، برش‌هایی به قطر ۵ میکرومتر از بافت‌ها تهیه و روی لام قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها توسط آمیزه‌ایی از هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و لامل‌گذاری شدند. نمونه‌ها به کمک میکروسکوپ و با بزرگنمایی ۱۰ و ۴۰، جهت سنجش دانسیته رنگ، انسجام بافتی، تعداد سلول‌های کاپفر و میزان واکوئل‌های چربی مورد بررسی و با روش رتبه‌بندی بر اساس شدت تغییرات بافتی ۱+ تا ۵+ امتیازدهی شدند. همچنین در این زمان وزن نسبی اندام‌های داخلی مانند قلب، کبد (بدون کیسه صفرا)، کیسه صفرا (با محتویات)، طحال، پانکراس و اویداکت محاسبه شد. این شاخص از تقسیم وزن خالص هر اندام بر وزن زنده پرنده به صورت درصد محاسبه گردید (Mahdavi و همکاران، ۲۰۱۰; Rahman Alizadeh و همکاران، ۲۰۱۷).

کلیه داده‌های به دست آمده پس از ثبت با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۱۳) و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی متشکل از نه تیمار با پنج تکرار و پنج مشاهده در هر تکرار مورد آنالیز قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد و سطوح احتمال $0/05<P<0/1$ به عنوان تمایل به معنی‌داری یا سطوح حاشیه ای درنظر گرفته شد. مدل آماری که جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت به صورت زیر بود: $Y_{ij}=\mu+T_i+e_{ij}$ که در آن Y_{ij}= مقدار عددی هر مشاهده، μ= میانگین مشاهدات، T_i= اثر سطوح مختلف گیاهان دارویی و پروبیوتیک، و e_{ij}= اثرات باقی مانده می‌باشند. همچنین، آنالیز داده‌های رتبه‌بندی در مطالعه بافت‌شناسی، پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk با رویه GLM نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

اثرات سطوح مختلف پودر آویشن‌شیرازی، مریم‌گلی و پروبیوتیک بر صفات کیفی پوسته تخم‌مرغ در جدول ۲ ارائه شده است. استفاده از سطوح مختلف پودر آویشن‌شیرازی، مریم‌گلی و پروبیوتیک تنها بر استحکام پوسته در ۴۸ تا ۵۲ هفتگی تفاوت معنی‌داری ایجاد نمود؛ به طوری‌که استفاده از مخلوط گیاهان دارویی مورد آزمون در سطح ۰/۴ درصد سبب افزایش استحکام پوسته تخم‌مرغ در این دوران گردید ($P<0/05$). این امر می‌تواند به دلیل تمایل به افزایش معنی‌دار وزن پوسته ($P=0/06$) در این گروه آزمایشی باشد. بسیاری از عصاره‌های گیاهی با کاهش جمعیت باکتری‌های پاتوژن روده و به دنبال آن کاهش رقابت میکروبی برای مواد مغذی مورد نیاز پرنده، همچون اسیدهای آمینه و یا مواد معدنی مانند Ca^{2+} و Mg^{2+}، موجبات بهبود شاخص‌های تولیدی پرندگان همچون کیفیت پوسته را فراهم می‌آورند (Roberfroid، ۲۰۰۰). بر اساس یافته‌های اخیر، از آنجایی که بسیاری از گیاهان دارویی دارای اثرات هم‌کوشی بیولوژیک هستند، توصیه می‌شود تا به طور همزمان در خوراک پرندگان استفاده شوند تا بیشترین راندمان اثر، بروز نماید (Behnamifar و همکاران، ۲۰۱۵). این امر سبب گردید تا در مطالعه حاضر نیز بالاترین کیفیت پوسته تخم‌مرغ چه به لحاظ وزن و چه از نظر استحکام متعلق به پرندگانی باشد که از بالاترین سطح مخلوط گیاهان دارویی بهره برده بودند. بر اساس یافته‌های Wienkotter و همکاران (۲۰۰۷)، تیمول موجود در گیاهان

مورد آزمون در مطالعه حاضر با تأثیر مستقیمی که بر گیرنده‌های بتا آدرنرژیک می‌گذارند، سبب آرام شدن ماهیچه‌های صاف رحمی شده و این امر موجب ماندگاری بیشتر تخم در رحم و رسوب بیشتر ترکیبات پوسته می‌گردد. از سوی دیگر، این ترکیب سبب افزایش سطح استروژن خونی شده که به دنبال آن ذخیره کلسیم در استخوان و نیز میزان پروتئین متصل شونده با کلسیم در سلول‌های رحم افزایش می‌یابد (Squires، ۲۰۱۰). این مکانیسم‌ها سبب افزایش ترشح کربنات کلسیم شده و وزن پوسته تخم‌مرغ و پی‌آیند آن استحکام پوسته را بهبود می‌دهند. یافته‌های Bozkurt و همکاران (۲۰۱۲) نیز موید آن است که بهترین پاسخ‌ها در رابطه با بهبود ضخامت پوسته، وزن پوسته و استحکام پوسته زمانی محقق شده است که از مخلوط روغن‌های ضروری (اسانس‌ها) در جیره استفاده شده است. این نتایج توسط Kaya و همکاران (۲۰۱۳) نیز تأیید شد به طوری که آن‌ها گزارش نمودند که استفاده از مخلوط اسانس مریم‌گلی، آویشن و نعناع توانست به شکل معنی‌داری سبب افزایش وزن و ضخامت پوسته تخم‌مرغ گردد. از سوی دیگر، نوبخت و همکاران (۱۳۹۴) نیز گزارش کردند که استفاده از سطح ۰/۷۵ درصد پودر آویشن سبب بهبود استحکام پوسته تخم در بلدرچین‌های تخم‌گذار ژاپنی گردید. بهره‌گیری از سطوح ۰/۴ درصد گیاهان دارویی و مخلوط آن‌ها موجب بهبود شاخص رنگ زرده ($P<0/05$) در دوره دوم آزمایش (۴۸-۵۲ هفتگی) گردید؛ این در حالی بود که بهترین شاخص عددی واحد هاو زمانی مشاهد شد ($P<0/05$) که از سطوح بالای آویشن و نیز مخلوط آویشن با مریم‌گلی به مدت ۱۰ هفته استفاده شد (جدول ۳). این یافته‌ها نشان دهنده اهمیت طول مدت زمان استفاده از این گیاهان دارویی بر بهبود شاخص های کیفی تخم مرغ است. مواد گیاهی حاوی ترکیباتی همچون گزانتوفیل بوده و تغییر رنگ زرده در اثر انتقال این رنگدانه‌ها به زرده تخم‌مرغ صورت می‌گیرد (Loetscher و همکاران، ۲۰۱۳). در تطابق با تحقیق حاضر Ghasemi و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که استفاده از آویشن سبب افزایش رنگ زرده تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار شد. بیکی و همکاران (۱۳۸۹) نیز نشان دادند که استفاده از جیره‌های حاوی مخلوط پودر بخش‌های هوایی گزنه و مریم‌گلی و همچنین مخلوط شنبلیله و مریم‌گلی به ترتیب سبب افزایش استحکام پوسته و رنگ زرده تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار گردید. از سوی دیگر، واحد هاو که تا حد زیادی تابع قوام سفیده تخم‌مرغ می‌باشد، منعکس کننده کیفیت داخلی تخم‌مرغ بوده و خود به شدت وابسته به میزان حضور پروتئین اومیوسین جهت ایجاد ساختار ژله‌ای سفیده تخم‌مرغ و یا عدم تخریب آن است (Leeson and Summers، ۲۰۰۱). مطالعات نشان داده است که عصاره‌های گیاهی مانند تیمول و کارواکرول نقش مهمی در تحریک سنتز پروتئین اومیوسین داشته (Abdel-Wareth، ۲۰۱۳) و افزودن روغن مریم‌گلی به جیره مرغ‌های تخم‌گذار توانسته موجبات افزایش واحد هاو را فراهم کند (Bolukbas و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین در تطابق با یافته‌های حاضر، Ozek و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش نمودند که مکمل نمودن جیره مرغ‌های تخم‌گذار با مخلوط روغن‌های ضروری آویشن، مریم‌گلی و رزماری توانست سبب افزایش واحد هاو گردد.

بررسی هزینه خوراک مصرفی به ازای هر کیلوگرم تخم مرغ تولید شده نیز نشان دهنده آن است که اعمال تیمارهای مورد آزمون نسبت به گروه کنترل، نه تنها سبب افزایش معنی داری هزینه تولید نشد، بلکه به دنبال بهره‌گیری از سطوح ۰/۰۰۵ و ۰/۰۱ درصد پروبیوتیک و نیز سطح ۰/۴ درصد پودر برگ آویشن شیرازی، هزینه تولید هرکیلوگرم تخم مرغ، به دلیل بهبود ضریب تبدیل غذایی، کاهش یافت ($P<0/01$، جدول ۳).

جدول ۲- اثر سطوح مختلف پودر آویشن شیرازی، مریم‌گلی، مخلوط پودر آویشن شیرازی و مریم‌گلی و پروبیوتیک بر صفات کیفی پوسته تخم‌مرغ (۴۲ تا ۵۲ هفتگی)

منابع تغییرات	وزن پوسته (گرم)		ضخامت پوسته (میکرومتر)		استحکام پوسته (kg/cm^2)	
	۴۲-۴۷	۴۸-۵۲	۴۲-۴۷	۴۸-۵۲	۴۲-۴۷	۴۸-۵۲
شاهد	۶/۸۵	۷/۵۳	۰/۴۲۵	۰/۴۷۷	۲/۶۷	۳/۰۹^{b}
۰/۲درصد آویشن	۶/۸۳	۷/۵۱	۰/۴۲۵	۰/۴۷۷	۲/۶۹	۳/۱۰^{b}
۰/۲درصد مریم‌گلی	۶/۷۸	۷/۴۹	۰/۴۳۰	۰/۴۸۰	۲/۶۷	۳/۰۹^{b}
۰/۴درصد آویشن	۶/۹۱	۷/۶۰	۰/۴۳۲	۰/۴۸۲	۲/۷۴	۳/۲۸^{ab}
۰/۴درصد مریم‌گلی	۶/۸۶	۷/۵۵	۰/۴۳۰	۰/۴۸۰	۲/۷۲	۳/۱۴^{b}
۰/۲درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	۶/۸۱	۷/۴۹	۰/۴۳۰	۰/۴۸۲	۲/۷۱	۳/۱۳^{b}
۰/۴درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	۶/۹۹	۷/۹۸	۰/۴۳۷	۰/۴۸۷	۲/۸۳	۳/۴۰^{a}
۰/۰۰۵ درصد پروبیوتیک	۶/۸۴	۷/۵۲	۰/۴۳۰	۰/۴۸۰	۲/۶۶	۳/۰۰^{b}
۰/۰۱ درصد پروبیوتیک	۶/۸۵	۷/۵۳	۰/۴۳۲	۰/۴۸۲	۲/۷۲	۳/۱۳^{b}
SEM	۰/۰۹۲	۰/۰۸۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۴۱	۰/۰۵۳
سطح احتمال	۰/۸۷	۰/۰۶	۰/۸۶	۰/۹۴	۰/۱۷	۰/۰۴

$^{a-b}$ میانگین‌های با حداقل یک حرف غیر مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$).

SEM: میانگین خطای استاندارد

جدول ۳- اثر سطوح مختلف پودر آویشن شیرازی، مریم‌گلی، مخلوط پودر آویشن شیرازی و مریم‌گلی و پروبیوتیک بر صفات کیفیت داخلی تخم‌مرغ (۴۲ تا ۵۲ هفتگی)

منابع تغییرات	شاخص شکل	شاخص زرده		شاخص رنگ		واحد هاو		هزینه خوراک: کیلوگرم تخم مرغ (ریال)
	۴۲-۴۷	۴۸-۵۲	۴۲-۴۷	۴۸-۵۲	۴۲-۴۷	۴۸-۵۲	۴۲-۴۷	
شاهد	۰/۷۵۲	۰/۷۰۲	۰/۴۳۵	۰/۴۶۷	۶/۷۵	۵/۲۵^{b}	۸۰/۸۶	۸۱/۶۴^{bc}	۲۴۰۷۰^{ab}
۰/۲ درصد آویشن	۰/۷۵۵	۰/۷۰۷	۰/۴۳۵	۰/۴۶۷	۷/۰۰	۶/۰۰^{b}	۸۲/۲۵	۸۲/۱۷^{b}	۲۴۲۹۰^{ab}
۰/۲ درصد مریم‌گلی	۰/۷۶۷	۰/۷۱۷	۰/۴۴۲	۰/۴۷۵	۶/۷۵	۵/۵۰^{b}	۸۱/۶۵	۸۱/۳۳^{c}	۲۳۷۸۰^{bc}
۰/۴ درصد آویشن	۰/۷۷۰	۰/۷۲۲	۰/۴۴۵	۰/۴۷۷	۷/۰۰	۷/۵۰^{a}	۸۲/۹۱	۸۴/۱۲^{a}	۲۳۳۰۰^{c}
۰/۴ درصد مریم‌گلی	۰/۷۶۷	۰/۷۱۷	۰/۴۴۰	۰/۴۷۲	۶/۷۵	۶/۷۵^{ab}	۸۲/۵۸	۸۳/۷۶^{a}	۲۴۱۴۰^{ab}
۰/۲ درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	۰/۷۵۷	۰/۷۰۷	۰/۴۳۰	۰/۴۶۲	۷/۰۰	۵/۵۰^{b}	۸۲/۲۳	۸۲/۹۷^{b}	۲۴۴۱۰^{a}
۰/۴ درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	۰/۷۷۰	۰/۷۲۰	۰/۴۴۵	۰/۴۷۷	۷/۰۰	۷/۷۵^{a}	۸۳/۳۰	۸۴/۲۳^{a}	۲۳۸۹۰^{ab}
۰/۰۰۵ درصد پروبیوتیک	۰/۷۵۷	۰/۷۱۰	۰/۴۳۵	۰/۴۶۷	۷/۰۰	۵/۷۵^{b}	۸۱/۸۸	۸۲/۶۴^{b}	۲۳۲۸۰^{c}
۰/۰۱ درصد پروبیوتیک	۰/۷۶۵	۰/۷۱۵	۰/۴۴۷	۰/۴۷۷	۶/۷۵	۶/۰۰^{b}	۸۲/۵۲	۸۳/۲۴^{ab}	۲۳۱۲۰^{c}
SEM	۰/۰۰۷	۰/۰۰۸	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۱۶	۰/۲۶	۰/۶۰۶	۰/۳۱۷	۱۷۷
سطح احتمال	۰/۶۱	۰/۶۸	۰/۷۴	۰/۸۱	۰/۷۴	۰/۰۴	۰/۲۳	۰/۰۴	۰/۰۱

$^{a-c}$ میانگین‌های با حداقل یک حرف غیر مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($P<۰/۰۵$).

SEM: میانگین خطای استاندارد

اثر سطوح مختلف پودر گیاهان دارویی آویشن، مریم‌گلی، مخلوط آویشن و مریم‌گلی و نیز پروبیوتیک بر وزن نسبی اندام‌های داخلی در جدول ۴ ارائه شده است. استفاده از تیمارهای مورد آزمون اثر معنی‌داری بر وزن نسبی اندام‌های داخلی نداشتند. با این وجود، استفاده از سطح ۰/۴ درصد مخلوط پودر آویشن‌شیرازی و مریم‌گلی موجب کاهش حاشیه‌ای وزن نسبی کبد شد (P=۰/۰۷). تغییرات وزن کبد می‌تواند تحت تأثیر میزان چربی کبد باشد (Hu و همکاران، ۱۹۹۹). بر همین اساس، Gibson و Roberfroid (۲۰۰۸) نشان دادند که وزن کبد به طور مستقیم متأثر از میزان فعالیت کبدی و انباشت چربی در آن می‌باشد. عدم تأثیر اسانس یا پودر گیاهان دارویی مورد استفاده پیش از این نیز گزارش شده است. به عنوان مثال، Demir و همکاران (۲۰۰۸) و Rahimi و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که همسو با یافته‌های حاضر، استفاده از آویشن و مریم‌گلی به طور جداگانه اثر معنی‌داری بر وزن نسبی اندام‌های داخلی جوجه‌های گوشتی نداشته است.

جدول ٤- اثر سطوح مختلف پودر آویشن شیرازی، مریم‌گلی، مخلوط پودر آویشن شیرازی و مریم‌گلی و پروبیوتیک بر وزن نسبی اندام‌های داخلی (درصدی از وزن زنده)

منابع تغییرات	قلب	کبد	کیسه صفرا	طحال	لوزالمعده	اویداکت
شاهد	۰/۴۵۲	۲/۲۳	۰/۰۷۰	۰/۰۸۲	۰/۱۷۰	۳/۸۰۵
۰/۲درصد آویشن	۰/۴۷۵	۲/۲۲	۰/۰۷۰	۰/۰۹۰	۰/۲۱۵	۴/۰۹۷
۰/۲درصد مریم‌گلی	۰/۵۰۲	۲/۲۸	۰/۰۶۰	۰/۰۸۰	۰/۱۸۵	۳/۶۸۵
۰/۴ درصد آویشن	۰/۴۸۲	۲/۱۰	۰/۰۶۵	۰/۰۹۲	۰/۲۱۲	۴/۱۳۵
۰/۴درصد مریم‌گلی	۰/۴۸۷	۲/۱۱	۰/۰۵۵	۰/۰۸۰	۰/۱۹۲	۳/۹۶۵
۰/۲ درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	۰/۴۸۰	۲/۱۳	۰/۰۵۰	۰/۰۹۵	۰/۲۰۲	۳/۸۲۵
۰/۴ درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	۰/۴۷۲	۱/۹۶	۰/۰۵۲	۰/۰۹۷	۰/۲۱۲	۳/۹۸۷
۰/۰۰۵ درصد پروبیوتیک	۰/۴۷۲	۲/۴۴	۰/۰۷۵	۰/۰۹۰	۰/۱۷۰	۳/۸۲۰
۰/۰۱ درصد پروبیوتیک	۰/۴۶۰	۲/۲۵	۰/۰۶۲	۰/۰۹۲	۰/۲۰۷	۴/۰۰۷
SEM	۰/۰۱۷	۰/۰۹۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۰/۰۱۳	۰/۱۲۲
سطح احتمال	۰/۶۹	۰/۰۷	۰/۱۵	۰/۶۱	۰/۱۲	۰/۲۰

SEM: میانگین خطای استاندارد

اثر سطوح مختلف تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۵ نشان داده شده است. استفاده از سطوح مختلف آویشن، مریم‌گلی و مخلوط آن‌ها و نیز پروبیوتیک سبب ایجاد تفاوت معنی‌داری در غلظت گلوکز پلاسما شد (P<۰/۰۵)؛ به طوری که استفاده از سطح ۰/۴ درصد مریم‌گلی بیشتر از دیگر گروه‌ها سبب کاهش سطح گلوکز پلاسما گردید. بر اساس مطالعات صورت گرفته، مریم‌گلی می‌تواند حساسیت سلول‌های کبدی به انسولین را افزایش و حساسیت به گلوکاگون را کاهش داده و با افزایش نرخ جذب گلوکز، موجبات مهار گلوکونئوژنز را فراهم آورد. این اثرات شبیه به عملکرد متفورمین بوده که امروزه به عنوان مهارکننده موثر گلوکونئوژنز جهت پیشگیری از دیابت شناخته می‌شود (Lima و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین در مطالعات انجام شده توسط Eidi و همکاران (۲۰۰۵) بر روی موش صحرایی نیز اثرات کاهش دهندگی گلوکز توسط مریم‌گلی در سرم تأیید شد. استفاده از سطوح مختلف آویشن، مریم‌گلی و پروبیوتیک سبب ایجاد تفاوت معنی‌داری در غلظت کلسترول پلاسما شد (P<۰/۰۵). به طوری‌که استفاده از سطوح ۰/۲ و ۰/۴ درصد گیاهان دارویی مورد آزمون و مخلوط آن‌ها و نیز سطح ۰/۰۱

درصد پروبیوتیک موجب کاهش کلسترول پلاسما گردید و در این میان موثرترین تیمار، بهره‌گیری از سطح ۰/۴ درصد مریم‌گلی بود. گیاهان و محصولات گیاهی با کاهش فعالیت آنزیم محدود کننده در سنتز کلسترول (۳- هیدروکسیل۳- متیل‌گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز) اثرات هیپوکلسترولمیک را ایجاد می‌کنند (Hong و همکاران، ۲۰۱۲). در این راستا، یافته‌های تحقیقات صورت گرفته بر روی گیاه مریم‌گلی، که اثرات قابل ملاحظه‌ای در آزمایش حاضر بر کاهش کلسترل پلاسما داشت، بیانگر آن است که این گیاه دارای اجزای زیست فعالی همچون لکتین و ساپونین بوده که به طور قدرتمندی می‌توانند اثرات هیپولیپیدمیک را در خون و کبد بروز دهند (Katayama و همکاران، ۲۰۰۵; Alayan، ۲۰۰۶). همچنین کاهش کلسترول سرم می‌تواند به دلیل تجزیه گوارشی ساپونین موجود در این گیاهان دارویی به ساپوژنین باشد؛ چرا که این ترکیب با کلسترول موجود در روده کمپلکس نامحلولی را تشکیل داده که در نهایت منجر به دفع کلسترول و اسیدهای صفراوی می‌شود (Sauvaire و همکاران، ۱۹۹۶). در تطابق با یافته‌های حاضر Capkovicova و همکاران (۲۰۱۴) و Asheg و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که استفاده از پودر گیاه مریم‌گلی در جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش کلسترول پلاسما شده است. از سوی دیگر، استفاده از سطح ۰/۰۱ درصد پروبیوتیک نیز سبب بروز پاسخ‌های مشابهی گردید. چراکه باکتری‌های پروبیوتیکی می‌توانند با تبدیل نمک‌های صفراوی اولیه به ثانویه و نیز فرم‌های کونژوگه، راندمان بازجذب آن‌ها از انتهای ایلئوم را کاهش داده و در نتیجه شرایط دفع کلسترول در قالب اسیدهای صفراوی را افزایش دهند (Mahdavi و همکاران، ۲۰۰۵). در عین حال، باکتری‌ها با ساخت آنزیم‌های استرازی، اسیدهای چرب آزاد و کلسترول را به اشکال استری‌شان تبدیل کرده و به این ترتیب جذب روده‌ای آن‌ها را کاهش داده و از این سو شرایط کاهش سطح کلسترول پلاسما را فراهم می‌نمایند (Zhuang و همکاران، ۲۰۱۲). در این راستا، Maddahian و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که استفاده از پروبیوتیک‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای توانست با افزایش همزمان باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک در روده جوجه‌های گوشتی، سبب کاهش کلسترول پلاسما گردد.

استفاده از سطوح مختلف آویشن، مریم‌گلی و پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر غلظت تری‌گلیسرید پلاسما نداشت؛ اما با این وجود، پس از استفاده از سطح ۰/۴ درصد مریم‌گلی، آویشن و مخلوط آن‌ها، غلظت تری‌گلیسرید پلاسما تمایل به کاهش معنی‌دار داشت (P=۰/۰۷). عصاره مریم‌گلی به طور موثری می‌تواند گیرنده PPARγ را فعال کرده و از آنجا که این گیرنده تنظیم کننده ژن‌های درگیر در مصرف انرژی و نیز متابولیسم چربی و گلوکز است، فعال شدن آن سبب افزایش نسبت HDL به LDL و کاهش تری‌گلیسرید سرمی و مقاومت انسولینی شده که پی آیند آن کاهش چربی بافت‌ها می‌باشد (Christensen و همکاران، ۲۰۱۰). Khashan و Al-khefaji در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که استفاده از عصاره آبی مریم‌گلی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به مدت ۱۴ روز در موش سبب کاهش قابل توجه میزان تری‌گلیسرید خون شد. در این راستا، Ninomiya و همکاران (۲۰۰۴) ثابت نمودند که حضور ترکیبات ترپنی در مریم‌گلی به دلیل مهار فعالیت آنزیم لیپاز پانکراسی می‌تواند تری‌گلیسرید خون را کاهش دهد. قوسیان مقدم و همکاران (۱۳۹۳) نیز نشان دادند که میزان تری‌گلیسرید سرم در موش‌های دیابتی تحت تیمار با مریم‌گلی به شکل قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. همچنین Khaksar و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که استفاده از اسانس آویشن در جیره بلدرچین‌ها می‌تواند موجب کاهش تری‌گلیسرید پلاسما گردد.

استفاده از سطوح ۰/۲ و ۰/۴ درصد مریم‌گلی و نیز بالاترین سطح مخلوط این دو گیاه سبب افزایش معنی‌دار غلظت HDL پلاسما شد (P<۰/۰۵). انواع گیاهان (هم به صورت انفرادی و هم به صورت ترکیبی) می‌توانند متابولیسم و عملکرد HDL را از طریق مکانیزم‌های متعددی همچون فعال‌سازی پروتئین‌های LXR/RXR، PPAR، افزایش در بیان ABCA1 و apoA-I و نیز تنظیم فعالیت PON1 بهبود دهند (Hottman و همکاران، ۲۰۱۴). Christensen و همکاران، (۲۰۱۰)، Fehresti Sani

و همکاران (۲۰۱۲) وKianbakht and Dabaghian، (۲۰۱۳)، نشان دادند که مریم‌گلی می‌تواند در موش‌های عادی و یا دیابتی موجبات افزایش غلظت HDL پلاسما را از طریق فعال نمودن گیرنده‌های γ PPAR فراهم نماید.

پس از بهره‌گیری از سطوح بالای تیمارهای مورد آزمون، فعالیت آنزیم SGOT تمایل به کاهش معنی‌دار داشت (P=۰/۰۸). با این وجود، فعالیت SGPT تنها پس از مصرف سطوح بالای مریم‌گلی و مخلوط آویشن و مریم‌گلی به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). فعالیت ALP سرمی نیز تحت تأثیر سطح بالای پروبیوتیک (۰/۰۱ درصد) کاهش یافت (P<۰/۰۵). رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) با اثرات سمی خود موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تخریبی آن می‌شوند (Matalona و همکاران، ۲۰۰۴). Amin and Hamza در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که مریم‌گلی به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کرده و با حفظ غشای سلولی موجب کاهش ترشح آنزیم‌های ALT و AST به خون شد. همسو با نتایج حاضر، Elkomy and Elsaid (۲۰۱۵) گزارش دادند که استفاده از مخلوط آویشن، مریم‌گلی و رزماری سبب کاهش فعالیت ALT، AST و ALP در موش شد. از سوی دیگر سطوح افزایشی پروبیوتیک نیز سبب کاهش فعالیت آنزیم ALP در سرم گردید. عموماً پروبیوتیک‌ها با کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز باکتریایی سبب کاهش جذب روده‌ای آمونیاک و به طبع آن کاهش تنش‌های اکسیداتیو ناشی از آن می‌شوند تا عملکرد کبد بهبود یابد (Yeo and Kim،۱۹۹۸). کاهش سطح آنزیم‌های کبدی به دلیل آن است که پروبیوتیک‌ها با ایجاد تعادل در فلور روده‌ای و افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و همچنین بهبود پاسخ‌های ایمونولوژیک، تنش‌های ناشی از حضور ترکیبات ضد تغذیه‌ای و یا توکسین‌های روده‌ای و به دنبال آن رهاسازی آنزیم‌های درون سلولی همچون ALP را کاهش می‌دهند (افشار مازندران و رجب، ۱۳۸۱).

همسو با نتایج حاضر، BagherzadehKasmani and Mehri، (۲۰۱۵) نشان دادند که میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی فعالیت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز را در خون بلدرچین ژاپنی کاهش دادند. یافته‌های Rahman و همکاران (۲۰۰۴) نیز بیانگر آن است که افزودن این ترکیبات میکروبی در خوراک جوجه‌های گوشتی، سبب کاهش غلظت آنزیم‌های کبدی خون در مقایسه با گروه شاهد شد.

جدول ۵- اثر سطوح مختلف پودر آویشن شیرازی، مریم‌گلی، مخلوط پودر آویشن شیرازی و مریم‌گلی و پروبیوتیک بر فراسنجه‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار

منابع تغیرات	گلوکز (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	تری‌گلیسرید (mg/dl)	HDL (mg/dl)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	ALP (U/L)
شاهد	۲۸۱/۳۸^{a}	۱۷۲/۲۵^{a}	۱۸۴۶/۸۸	۱۶/۳۷^{c}	۱۷۲/۳۸	۲۳/۱۱^{a}	۱۰۰۷/۵۰^{a}
۰/۲ درصد آویشن	۲۶۲/۵۰^{ab}	۱۶۴/۶۲^{ab}	۱۸۲۵/۰۰	۲۳/۱۲^{bc}	۱۶۷/۳۸	۱۷/۳۲^{ab}	۹۶۵/۷۵^{a}
۰/۲درصد مریم‌گلی	۲۶۱/۵۰^{ab}	۱۵۵/۸۷^{bc}	۱۸۲۴/۶۳	۳۲/۵۰^{bc}	۱۶۹/۳۸	۲۰/۰۳^{ab}	۹۷۷/۵۰^{a}
۰/۴ درصد آویشن	۲۵۷/۰۰^{bc}	۱۵۷/۶۲^{bc}	۱۷۸۶/۱۳	۲۹/۸۷^{bc}	۱۴۹/۰۰	۱۴/۲۶^{bc}	۹۴۳/۵۰^{ab}
۰/۴درصد مریم‌گلی	۲۳۶/۵۰^{c}	۱۴۸/۲۵^{c}	۱۷۴۴/۷۵	۴۱/۰۰^{ab}	۱۵۶/۶۳	۱۲/۸۷^{bc}	۹۳۱/۲۵^{ab}
۰/۲ درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	۲۶۳/۸۸^{ab}	۱۵۸/۱۲^{bc}	۱۸۰۲/۶۳	۳۰/۷۵^{bc}	۱۶۲/۵۰	۱۵/۳۳^{bc}	۹۷۰/۰۰^{a}
۰/۴ درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	۲۴۸/۲۵^{bc}	۱۵۱/۱۲^{bc}	۱۷۴۹/۶۳	۵۳/۲۵^{a}	۱۴۳/۲۵	۱۰/۴۲^{c}	۹۲۴/۵۰^{ab}
۰/۰۰۵ درصد پروبیوتیک	۲۷۱/۲۵^{ab}	۱۶۸/۶۲^{ab}	۱۸۳۵/۶۳	۲۷/۰۰^{bc}	۱۶۸/۸۸	۱۷/۳۸^{ab}	۹۸۰/۰۰^{a}
۰/۰۱ درصد پروبیوتیک	۲۵۸/۷۵^{bc}	۱۵۲/۱۲^{bc}	۱۷۶۶/۰۰	۳۷/۷۵^{ab}	۱۵۲/۳۸	۱۹/۱۲^{ab}	۹۰۹/۵۰^{b}
SEM	۴/۳۱	۲/۱۱	۲۶/۲۴	۶/۲۰	۷/۲۳	۱/۷۱	۲۱/۳۵
سطح احتمال	۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۳

SEM: میانگین خطای استاندارد

$^{a-c}$ میانگین‌های با حداقل یک حرف غیر مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

اثر سطوح مختلف آویشن، مریم‌گلی، مخلوط آویشن و مریم‌گلی و نیز پروبیوتیک بر تغییرات هیستولوژیک کبد مرغ‌های تخم‌گذار در جدول ۶ ارائه شده است. هرچند استفاده از سطوح مختلف تیمارهای مورد آزمون بر انسجام بافتی کبد، تعداد سلول‌های کاپفر و قطر غدد لنفاوی تأثیر معنی‌داری نداشت، اما استفاده از بالاترین سطح مخلوط آویشن و مریم‌گلی سبب افزایش قابل ملاحظه دانسیته رنگ سیتوپلاسمی سلول‌های کبدی گردید (P=۰/۰۵). این یافته‌ها با نتایج حاصل از بررسی وزن نسبی کبد ارتباط جالب توجهی دارد. بر اساس مطالعات صورت گرفته، افزایش دانسیته رنگ در کبد عموماً می‌تواند با میزان حضور چربی در این بافت و نیز احتمال بروز فساد اکسیداتیو رابطه‌ای معکوس داشته باشد (Hu و همکاران، ۱۹۹۹). دخالت رادیکال‌های آزاد در بروز آسیب‌های کبدی از طریق مکانیزم‌هایی مانند کاهش سطح گلوتاتیون و یا پروتئین‌های تیولی در سلول و نیز افزایش پراکسیداسیون لیپیدی به خوبی شناخته شده است (Poli، ۱۹۹۳). بروز چنین واکنش‌هایی در نهایت می‌تواند منجر به مرگ سلول‌های کبدی در شرایط in-vitro و in- vivo شود (Oboh and Rocha، ۲۰۰۷). تیمول به عنوان یکی از ترکیبات زیست‌فعال اصلی تشکیل دهنده آویشن، علاوه بر دارا بودن اثرات کاهشی بر میزان چربی کبد (و پی‌آیند آن افزایش دانسیته رنگ بافتی)، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قدرتمندی در این بافت بوده و می‌تواند تولید تتراکلریدکربن ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش و از ترشح غیر منتظره آنزیم‌های کبدی و تغییر چگالی رنگ بافت کبد جلوگیری نماید (Raskovic و همکاران، ۲۰۱۵). Cristovao و همکاران، ۲۰۰۵ و Parsai و همکاران، ۲۰۱۴ نیز نشان دادند که استفاده از مریم‌گلی می‌تواند سبب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی هپاتوسیت‌ها و کاهش اختلالات کبدی شود.

جدول ٦- اثر سطوح مختلف پودر آویشن شیرازی، مریم‌گلی، مخلوط پودر آویشن شیرازی و مریم‌گلی و پروبیوتیک بر تغییرات هیستولوژیک کبد مرغ‌های تخم‌گذار

منابع تغییرات	تعداد سلول‌های کاپفر (نمره)	دانسیته رنگ سلول‌های کبد (نمره)	انسجام بافتی سلول‌های کبد (نمره)	واکوئل‌های چربی (نمره)
شاهد	+۲/۵۰[1]	+۲/۳۷	+۲/۵۰	+۴/۰۰
۰/۲ درصد آویشن	+۳/۰۰	+۲/۸۷	+۲/۷۵	+۳/۷۵
۰/۲ درصد مریم‌گلی	+۲/۷۵	+۲/۷۵	+۲/۷۵	+۳/۲۵
۰/۴ درصد آویشن	+۳/۵۰	+۳/۳۷	+۳/۱۲	+۳/۲۵
۰/۴ درصد مریم‌گلی	+۳/۰۰	+۳/۱۲	+۲/۸۷	+۲/۵۰
۰/۲ درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	+۲/۷۵	+۲/۸۷	+۲/۸۷	+۳/۵۰
۰/۴ درصد مخلوط آویشن و مریم‌گلی	+۳/۲۵	+۳/۸۷	+۳/۱۲	+۳/۰۰
۰/۰۰۵ درصد پروبیوتیک	+۲/۷۵	+۲/۶۲	+۲/۷۵	+۳/۵۰
۰/۰۱ درصد پروبیوتیک	+۳/۰۰	+۳/۰۰	+۲/۸۷	+۳/۱۲
SEM	۰/۲۲	۰/۲۴	۰/۱۸	۰/۳۱
سطح احتمال	۰/۱۲	۰/۰۵	۰/۳۸	۰/۱۰

SEM: میانگین خطای استاندارد

[1] تعداد مثبت نشان دهنده شدت بروز مشخصه بافتی است.

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های مطالعه حاضر بیانگر آن است که بهره‌گیری از بالاترین سطح مخلوط مریم‌گلی و آویشن شیرازی به‌مدت ده‌هفته سبب بهبود قابل ملاحظه استحکام پوسته تخم‌مرغ، شاخص رنگ زرده و واحد هاو، شاخص‌های آنزیمی سلامت کبد (هم‌چون فعالیت آنزیمی‌های SGPT و ALP) و پروفیل چربی‌های خونی نسبت به دیگر سطوح گیاهان دارویی و نیز پروبیوتیک شد. لذا به نظر می رسد که با توجه به قیمت مناسب و عدم افزایش هزینه تولید، فراهمی این گیاهان در کشور و نیز اثرات مثبت آنها بر شاخص های بیولوژیک فوق، بهره‌گیری از سطح ۰/۴ درصد مخلوط مساوی مریم‌گلی و آویشن شیرازی در تغذیه مرغ‌های تخم‌گذار قابل توصیه است.

منابع

افشار مازندران، ن. و رجب، ا. (۱۳۸۱). پروبیوتیک‌ها و کاربرد آنها در تغذیه دام و طیور (چاپ دوم)، انتشارات نوربخش، تهران.

بیاتی، س.، سالاری، س.، طاطار، ا.، ساری، م. و میرزاده، خ. (۱۳۹۶). اثر سطوح مختلف اسانس مروتلخ بر عملکرد و برخی فراسنجه‌های خونی و ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی. *فصلنامه تحقیقات تولیدات دامی*، دوره ۶. شماره ۴، ص ص ۸۰-۶۹.

بیکی، م.، لطف‌الهیان، ه.، کلانتر، م. و خجسته‌کی. م. (۱۳۸۹). اثر ترکیبات مختلف گزنه، شنبلیله، مریم‌گلی و وسمه بر عملکرد مرغ تخم‌گذار. *همایش ملی گیاهان دارویی*. ص. ۱.

فانی‌مکی، ا.، ابراهیم‌زاده، ا.، انصاری‌نیک، ح. و قزاقی، م. (۱۳۹۲). اثر گیاهان دارویی خارمریم (*Silybum marianum* L.) و آویشن (*Thymus vulgaris* L.) بر سیستم ایمنی و برخی از فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی. *مجله آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی*، دوره ۷. شماره ۲، ص ص. ۱۸۴۳-۱۸۳۶.

فلاح، ح.، محیط، ا. و انصاری، ز. (۱۳۹۳). تأثیر سین‌بیوتیک بر فراسنجه‌های خونی، عملکرد تولید، کیفیت تخم‌مرغ و قدرت جوجه درآوری در مرغ‌های مادر گوشتی. *مجله تحقیقات دامپزشکی*. دوره ۲. شماره ۱، ص ص. ۷۱- ۶۵.

قوسیان مقدم، م. ح.، روغنی، م.، گرجی‌زاده، ز. و صدرائی، س. (۱۳۹۳). اثر تجویز خوراکی گیاه مریم‌گلی بر سطح گلوکز، لیپیدهای سرم و استرس اکسیداتیو بافت کبدی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان*. دوره ۱۷. شماره ۲، ص ص. ۴۴- ۳۸.

نوبخت، ع.، آذرفر، س.، مهمان‌نواز، ی. و قلعه‌نویی، م. ر. (۱۳۹۴). اثرات استفاده از گیاهان دارویی پونه (*Mentha plugium* L.) و آویشن (*Thymus vulgaris* L.) بر عملکرد و متابولیت‌های خون در بلدرچین‌های تخم‌گذار. *نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی)*. شماره ۱۰۹، ص ص. ۱۴- ۳.

نوبخت، ع. و مهمان‌نواز، ی. (۱۳۸۹). بررسی اثرات استفاده از گیاهان دارویی آویشن، نعناع و پونه بر عملکرد،کیفیت تخم‌مرغ و فراسنجه‌های خونی و ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار. *مجله علوم دامی ایران*. دوره ۴۱. شماره ۲۱، ص ص. ۱۳۶- ۱۲۹.

وکیلی، ر. (۱۳۹۰). اثر عصاره‌های گیاهی رازیانه و آویشن با و بدون کتان بر عملکرد و کیفیت تخم‌مرغ مرغ‌های تخم‌گذار. *نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران*. دوره ۳. شماره ۳، ص ص. ۲۴۹- ۲۴۳.

Abdel-Wareth, A. A. A. (2013). Effects of thyme and oregano on performance and egg quality characteristics of laying hens. *World's Poultry Science Journal*. 69: 1-5.

Alayan, I. (2006). The effects of *Salvia officinalis* leaves on hyperlipidemia, glycemia, ulcer, inflammation and bactericidal activity. M.Sc. Thesis. School of Arts and Sciences, Lebanese American University. Lebanon.

Almeida, I. M. C., Barreira, J. C. M., Oliveira, M. B. P. P. and Ferreira, I. C. F. R. (2011). Dietary antioxidant supplements: benefits of their combined use. *Food and Chemical Toxicology.* 49: 3232-3237.

Amin, A. and Hamza, A. A. (2005). Hepatoprotective effects of hibiscus, *Rosmarinus* and *Salvia* on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sciences*. 77: 266- 278.

Asheg, A. A., EL-Nyhom, S. M., Eissa, A. E., Kammon, A. M., Kanoun, A. H., Ben Naser, K. M. and Abouzeed, Y. M. (2015). Effect of some libyan medicinal plants on hematological profile, cholesterol level and Immune status of broiler chicken. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* 6 (2): 1164- 1170.

BagherzadehKasmani, F. and Mehri, M. (2015). Effects of a multi-strain probiotics against aflatoxicosis in growing Japanese quails. *Livestock Sciences*. 177: 110- 116.

Behnamifar, A., Rahimi, S., Karimi Torshizi, M. A., Hasanpour, S. and Mohammadzade, Z. (2015). Effect of thyme, garlic and caraway herbal extracts on blood parameters, productivity, egg quality, hatchability and intestinal bacterial population of laying Japanese quail. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*. 9 (3): 179- 187.

Behradmanesh, S., Derees, F. and Rafieian-kopaei, M. (2013). Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients. *Journal of Renal Injury Prevention*. 2 (2): 51-54.

Bolukbas, S. C., Erhan, M. K. and Kaynar, O. (2008). The effect of feeding thyme, sage and rosemary oil on laying hen performance, cholesterol and some proteins ratio of egg yolk and *Escherichia coli* count in feces. *Archiv fur Geflugelkunde.* 72 (5): 231- 237.

Bolukbasi, S. C., Urusan, H., Erhan, M. K. and Kiziltunc, A. (2010). Effect of dietary supplementation with bergamot oil (*Citrus bergamia*) on performance and serum metabolic profile of hens, egg quality and yolk fatty acid composition during the late laying period. *Arch Geflugelk*. 74: 172-177.

Bozkurt, M., Kucukyilmaz, K., Catli, A. U., Cınar, M., Bintas, E. and Coven, F. (2012). Performance, egg quality, and immune response of laying hens fed diets supplemented with mannan-oligosaccharide or an essential oil mixture under moderate and hot environmental conditions. *Poultry Science.* 91: 1379-1386.

Bulku, E., Zinkovsky, D., Patel, P., Javia, V., Lahoti, T., Khodos, I., Stohs, S. J. and Ray, S. D. (2010). A novel dietary supplement containing multiple phytochemicals and vitamins elevates hepatorenal and cardiac antioxidant enzymes in the absence of significant serum chemistry and genomic changes. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 3 (2): 129-144.

Capkovicova, A., Makova, Z., Piesova, E., Alves, A., Faix, S. and Faixova, Z. (2014). Evaluation of the effects of *Salvia officinalis* essential oil on plasma biochemistry, gut mucus and quantity of acidic and neutral mucins in the chicken gut. *Acta Veterinaria*. 46 (1): 138-148.

Christensen, K. B., Jorgensen, M., Kotowska, D., Petersen, R. K., Kristiansen, K. and Christensen, L. P. (2010). Activation of the nuclear receptor PPARγ by metabolites isolated from sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Ethnopharmacology.* 132 (1): 127-133.

Cristovao, F. L., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Fernandes-Ferreira, M. and Pereira Wilson, C. (2005). The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 97: 383-389.

Demir, E., Kilinc, K., Yildirim, Y., Dincer, F. and Eseceli, H. (2008). Comparative effects of

mint, sage, thyme and flavomycin in wheat-based broiler diets. *Archiva Zootechnica.* 11: 54-63.

Eidi, M., Eidi, A. and Zamanizadeh, H. R. (2005). Effect of Salvia officinalis L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology.* 100: 310- 313.

Elkomy, M. M and F. G. Elsaid. (2015). Anti-osteoporotic effect of medical herbs and calcium supplementation on ovariectomized rats. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 72: 81-88.

Fehresti Sani, M., Montasser Kouhsari, S. and Moradabadi, L. (2012). Effects of three medicinal plants extracts in experimental diabetes: Antioxidant enzymes activities and plasma lipids profiles in comparison with metformin. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 11 (3): 897-903.

Ghasemi, R., Zarei, M. and 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 (2): 151-154.

Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B. (2008). Handbook of prebiotics. Pp 112- 165. crc press.

Guo, Z., Liu, X. M., Zhang, Q. X., Shen, Z., Tian, F. W, Zhang, H. and et al. (2011). Influence of consumption of probiotics on the plasma lipid profile: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases.* 21: 844-850.

Hara, H., Haga, S., Aoyama, Y. and Kiriyama, S. (1999). Short-chain fatty acids suppress cholesterol synthesis in rat liver and intestine. *The Journal of Nutrition*. 129: 942-948.

Hong, J. C., Steiner, T., Aufy, A. and Lien, T. F. (2012). Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. *Livestock Science.* 144: 253-262.

Hottman, D. A., Chernick, D., Cheng, S., Wang, Z. and Li, L. (2014). HDL and cognition in neurodegenerative disorders. *Neurobiology of Disease*. 72: 1- 47.

Hu, F. B., Stampfer, M. J., Rimm, E. B., Manson, J. E., Ascherio, A., Colditz, G. A. and et al. (1999). A prospective study of egg consumption and risk of cardiovascular disease in men and women. *Journal of the American Medical Association*. 281(15):1387-1394.

Imanshahidi, M. and Hosseinzadeh, H. (2006). The pharmacological effects of Salvia species on the central nervous system. *Phytotherapy Research*. 20 (6): 427-437.

Jebelli Javan, A. and Jebeli Javan. M. (2014). Electronic structure of some thymol derivatives correlated with the radical scavenging activity: Theoretical study. *Food Chemistry*. 165: 451-459.

Katayama, T., Okazaki, Y. and Hori, K. (2005). Dietary lectin lowers serum cholesterol and raises fecal neutral sterols in cholesterol-fed rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 51 (5): 343-348.

Kavoosi, G. H. and da Silva, J. A. T. (2012). Inhibitory effects of *Zataria multiflora* essential oil and its main components on nitric oxide and hydrogen peroxide production in glucose-stimulated human monocyte. *Food and Chemical Toxicology*. 50 (9): 3079-3085.

Kaya, H., Kaya, A., celebi, S. and Macit, M. (2013). Effects of dietary supplementation of essential oils and vitamin E on performance, egg quality and *Escherichia coli* count in excreta. *Indian Journal of Animal Research*. 47: 515-520.

Khaksar, V., van Krimpen, M., Hashemipour, H.

and Pilevar, M. (2012). Effects of thyme essential oil on performance, some blood parameters and ileal microflora of japanese quail. *Journal of Poultry Science*. 49: 106-110.

Khashan, K. T. and Abbas Al-khefaji, K. (2015). Effects of *Salvia officinalis* L. (sag) leaves extracts in normal and alloxan-induced diabetes in white rats. *International Journal of Engineering Science*. 6 (1): 20- 28.

Kianbakht, S. and Dabaghian, F. H. (2013). Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming *Salvia officinalis* L. leaf extract: A randomized placebo. Controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*. 21: 441- 446.

Kirpich, I. A. and McClain, C. J. (2012). Probiotics in the treatment of the liver diseases. *Journal of the American College of Nutrition.* 31: 14-23.

Koochaksaraie, R. R., Irani, M. and Gharavysi, S. (2011). The effects of cinnamon powder feeding on some blood metabolites in broiler chicks. *Brazilian Journal of Poultry Science.* 13: 197-201.

Lavinia, S., Gabil, D., Drinceanuy, D., Stef, D., Daniella, M., Julean, C., Ramona, T. and Coriconivoschi, N. (2009). The effect of medicinal plants and plant extracted oils on broiler duodenum morphology and immunological profile-Rom. *Biotechnology Letters*. 14: 4606-4614.

Leeson, S. and Summers, J. D. (2001). Scott's Nutrition of the Chicken. Pp 591. 4th (Ed). University Books.

Lima, C. F., Azevedo, M. F., Araujo, R., Fernandes-Ferreira, M. and Pereira-Wilson, C. (2006). Metformin-like effect of *Salvia officinalis* (common sage): is it useful in diabetes prevention?. *British Journal of Nutrition.* 96: 326-333.

Loetscher, Y., Kreuzer, M. and Messikommer, R. E. (2013). Utility of nettle (*Urtica dioica*) in layer diets as a natural yellow colorant for egg yolk. *Animal Feed Science and Technology*. 186: 158-168.

Maddahian, A., Sadeghi, A. A., Shawrang, P. and Aminafshar, M. (2015). The impacts of prebiotic and feed restriction on serum biochemical parameters of broilers under microbial stress caused by salmonella enterica. *Acta Scientiae Veterinari*. 43: 1-7.

Mahdavi, A. H., Rahmani, H. R. and Pourreza, J. (2005). Effect of Probiotic Supplements on Egg Quality and Laying Hen's Performance. *International Journal of Poultry Science*. 4 (7): 488-492.

Mahdavi, A. H., Rahmani, H. R., Nili, N, Samie, A. H., Soleimanian-Zad, S. and Jahanian, R. (2010). Effects of dietary egg yolk antibody powderon growth performance, intestinal *Escherichia coli* colonization, and immune competence of challenged broiler chicks. *Poultry Science.* 89: 484–494.

Mamedov, N. (2012). Medicinal plants studies: History, challenges and prospective. *Medicinal and Aromatic Plants*. 1 (8): 1-2.

Matalona, S. T., Ornoy, A. and Lishner, A. (2004). Review of the potential effects of three commonly used antineoplastic and immunosuppressive drugs (cyclophosphamide, azathioprine, doxorubicin on the embryo and placenta). *Reproductive Toxicology.* 18 (2): 219-230.

Ninomiya, K., Matsuda, H., Shimoda, H., Nishida, N., Kasajima, N., Yoshino, T. and et al. (2004). Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.* 14 (8): 1943-1946.

Noh, D. O. and Gilliland, S. E. (1993). Influence of bile on cellular integrity and beta-galactosidase activity of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Science*. 76: 1253-1259.

Oboh, G. and Rocha, J. B. T. (2007). Polyphenols in red pepper [capsicum annuum var. aviculare (tepin)] and their protective effect on some pro-oxidants induced lipid peroxidation in brain and liver. *European Food Research and Technology*. 225: 239-247.

Obih, T. K. O. and Ekenyem, B.U. (2010). Performance and cost evaluation of substituting bambara seed [*Vigna subterranean* (L) Verdc] offal for soybean meal in the diets of broiler starter chicks. *International Journal of Poultry Science*. 9: 349-351.

Ozek, K., Wellmann, K. T., Ertekin, B. and Tarim, B. (2011). Effects of dietary herbal essential oil mixture and organic acid preparation on laying traits, gastrointestinal tract characteristics, blood parameters and immune response of laying hens in a hot summer season. *Journal of Animal and Feed Sciences.* 20: 575-586.

Parsai, A., Eidi, M. and Sadeghipour, A. (2014). Hepatoprotective effect of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves hydro-methanolic extract against aspergillus parasiticus aflatoxin-induced liver damage in male rats. *Bulletin of Pharmaceutical Research*. 4 (3): 129-132.

Petersen, M. and Simmonds, M. S. J. (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry*. 62: 121-125.

Poli, G. (1993). Liver damage due to free radicals. *British Medical Bulletin*. 49: 604- 620.

Rahimi, S., Teymouri Zadeh, Z., Karimi Torshizi, M. A., Omidbaigi, R. and 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.

Rahman, M. M., Islam, M. N., Islam, M. W., Kabir, S. M. L. and Kamruzzaman, S. M. (2004). Effects of probiotics supplementation on growth performance and certain haematobiochemical parameters in broiler chickens. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*. 2: 39-43.

Rahman Alizadeh, M., Mahdavi, A. H., Rahmani, H. R. and Jahanian, E. (2017). Clove bud (*Syzygium aromaticum*) improved blood and hepatic antioxidant indices in laying hens receiving low n-6 to n-3 ratios. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 101: 881-892.

Raskovic, A., Pavlovic, N., Kvrgic, M., Sudji, J., Mitic, G., Capo, I. and et al. (2015). Effects of pharmaceutical formulations containing thyme on carbon tetrachlorideinduced liver injury in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*.15: 1-11.

Reitman, S. and Frankel, S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*. 28 (1): 56-63.

Rhee, K. S., Anderson, L. M. and Sams, A. R. (1996). Lipid peroxidation potential of beef, chicken and pork. *Journal of Food Science*. 61: 8-12.

Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics: Are they functional foods? *American Journal of Clinical Nutrition*. 71: 1682-1687.

Sauvaire, Y., Bassiac, Y., Leconte, O., Petit, P. and Rebes, G. (1996). Steroid saponins from fenugreek and some of their biological properties. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 405: 37-46.

Shokri, H. and Sharifzadeh, A. (2017). *Zataria multiflora* Boiss.: A review study on chemical composition, anti-fungal and anti mycotoxin

activities, and ultrastructural changes. *Journal of Herbmed Pharmacology*. 6 (1): 1-9.

Skrovankova, S., Misurcova, L. and Machu, L. (2012). Antioxidant activity and protecting health effects of common medicinal plants. *Advances in Food and Nutrition Research*. 67: 75-139.

Squires, E. J. (2010). Applied Animal Endocrinology, 2 (Ed). CABI.

Talebzadeh, R., Alipour, D., Saharkhiz, M. J., Azarfar, A. and Malecky, M. (2012). Effect of essential oils of *Zataria multiflora* on in vitro rumen fermentation, protozoal population, growth and enzyme activity of anaerobic fungus isolated from Mehraban sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 172 (4): 115-124.

Tanaka, T., Nishimura, A., Kouno, I., Nonaka, G. and Yang, C. R. (1997). Four new caffeic acid metabolites, yunnaneic acids E-H from *Salvia yunnanensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 45: 1596-1600.

Vakili, R. and Majidzadeh Heravi, R. (2016). Performance and egg quality of laying hens fed diets supplemented with herbal extracts and flaxseed. *Poultry Science Journal*. 4: 107-116.

Vlasova, A. N., Kandasamy, S., Chattha, K. S., Rajashekara, G. and Saif, L. J. (2016). Comparison of probiotic lactobacilli and bifidobacteria effects, immune responses and rotavirus vaccines and infection in different host species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 172: 72-84.

Wienkotter, N., Begrow, F., Kinzinger, U., Schierstedt, D. and Verspohl, E. J. (2007). The effect of thyme extract on β2-receptors and mucociliary clearance. *Planta Medica*. 73: 629-635.

Yeo, J. and Kim, K. I. (1998). Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poultry Science*. 76: 381-385.

Zhang, J. L., Xie, Q. M., Ji, J., Yang, W. H., Wu, Y. B., Li, C. and et al. (2012). Different combinations of probiotics improve the production performance, egg quality, and immune response of layer hens. *Poultry Science*. 91: 2755-2760.

Zhuang, G., Liu, X. M., Zhang, Q. X., Tian, F. W., Zhang, H. and Zhang, H. P. (2012). Research advances with regards to clinical outcome and potential mechanisms of the cholesterol-lowering effects of probiotics. *Clinical Lipidology*. 7: 501- 507.

Zimmermann, B. F., Walch, S. G., Tinzoh, L. N., Stuhlinger, W. and Lachenmeier, D. W. (2011). Rapid UHPLC determination of polyphenols in aqueous infusions of *Salvia officinalis* L. (sage tea). *Journal of Chromatography B*. 879: 2459-2464.