تحقیقات تولیدات دامی
سال چهارم/شماره چهارم/زمستان ۱۳۹۴ (۴۵-۳۷)

# مقایسه اثر ضدباکتریایی عصاره‌های مختلف کاسنی و تاثیر آن بر قابلیت هضم مواد مغذی و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش در جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی

**زهرا تراز[۱*]، محمود شمس شرق [۲]، فیروز صمدی[۲] ، پونه ابراهیمی[۳]، سعید زره داران[۴]**

۱- دانشجوی دکتری دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و عضو هیات علمی گروه علوم دام دانشگاه گنبد کاووس
۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳- استادیار گروه شیمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴- استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۱ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۱۹)

**چکیده**

این آزمایش به منظور بررسی اثر عصاره گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) و پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. تیمارها شامل یک جیره ذرت- سویا به عنوان جیره پایه (شاهد) و جیره پایه حاوی سه سطح ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره اتیل‌استات کاسنی و پروبیوتیک به میزان توصیه شده در خوراک بودند. گیاه کاسنی با استفاده از چهار حلال مختلف (کلروفرم، اتیل‌استات، متانول و آب) عصاره‌گیری شد و موثرترین عصاره از نظر خاصیت ضدباکتریایی در محیط آزمایشگاه به روش دیسک‌دیفیوژن و با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد تعیین شد. بیشترین اثر ضدباکتریایی بر اشریشیاکلی به وسیله عصاره اتیل‌استات نشان داده شد. اثر عصاره اتیل‌استات کاسنی بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و درصد قابلیت هضم مواد مغذی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی بررسی شد. برای تعیین قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام و چربی خام از روش نمونه‌برداری از خوراک و ایلئوم به همراه نشانگر اکسیدکروم استفاده شد. نتایج آزمایش نشان داد که استفاده از عصاره کاسنی، سبب کاهش تعداد باکتری اشریشیاکلی و افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها در دستگاه گوارش شد. درصد قابلیت هضم پروتئین و چربی تحت تاثیر عصاره کاسنی افزایش معنی‌دار نشان داد، اما قابلیت هضم ماده خشک در تیمارهای مختلف تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان گفت استفاده از عصاره اتیل‌استات کاسنی در شرایط تنش‌گرمایی می‌تواند سبب بهبود قابلیت هضم و میکروفلور دستگاه گوارش شود.

**واژه‌های کلیدی:** تنش گرمایی، جمعیت میکروبی، عصاره کاسنی، قابلیت هضم

* نویسندهٔ مسئول: zahrataraz@yahoo.com

**مقدمه**

تنش‌گرمایی اثرات مخربی بر سلامت و فیزیولوژی پرنده دارد که می‌تواند منجر به تغییرات در ترکیب بدن شود. دستگاه گوارش به طور خاصی نسبت به عوامل تنش‌زا مثل تنش گرمایی واکنش نشان می‌دهد به نحوی که تنش گرمایی جمعیت میکروبی محافظ و عادی دستگاه گوارش را تغییر می‌دهد (Bailey and Lubach, 2004). فلور میکروبی دستگاه گوارش نقش کلیدی در راندمان تولید و سلامت پرنده دارد. از طرفی عدم تعادل در اکوسیستم دستگاه گوارش، با تضعیف میکروارگانیسم‌های مفید شانس عوامل بیماریزا جهت تشکیل کلنی را افزایش می‌دهد. عواملی همچون تنش‌ها، اختلالات گوارشی، تغییر جیره و مصرف آنتی بیوتیک‌ها منجر به عدم تعادل در جمعیت میکروفلورای لوله گوارش می‌شوند (Lin *et al*., 2011).

هر چند آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد با بهبود شرایط روده و در نتیجه تقویت میکروارگانیسم‌های مفید سبب بهبود عملکرد عمومی پرنده می‌شوند، اما تاثیر سوء آنها بر سلامت و بهداشت انسان منجر به استقبال روزافزون از محصولات ارگانیک شده است. بنابراین تلاش برای یافتن موادی که بتوانند رشد حیوانات را بهبود داده و اثرات جانبی کمتری بر سلامت مصرف کننده داشته باشند همچنان ادامه دارد (Haj Ayed *et al*., 2004). امروزه گیاهان دارویی و پروبیوتیک‌ها به عنوان جانشین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها پیشنهاد می‌شوند. ترکیبات موثره موجود در گیاهان دارویی به دلیل داشتن خواص ضدباکتریایی مورد توجه بوده و می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی بجای آنتی‌بیوتیک‌ها باشد (Si *et al*., 2006).

کاسنی با نام علمی *Cichorium intybus* L. گیاهی علفی از خانواده *Compasitae* با ارتفاع متوسط ۱/۵ متر و دارای اثر ضد باکتریایی است. گل‌های آبی روشن کاسنی،که در ماه‌های تیر تا شهریور ظاهر می‌شود، در اوایل گلدهی بیشترین میزان ماده موثره را دارد. ترکیبات اصلی گیاه کاسنی شامل اینولین، الیگوفروکتوز، اسید شیکوریک، فلاونویید، پلی‌فنل‌ها و ترپنوییدها است (Finke *et al*., 2002). اینولین موجود در عصاره کاسنی، در داخل روده پرنده، قابل دسترس برای میکروفلورای دستگاه گوارش است (Roberfroid *et al*., 1998). اینولین و الیگوفروکتوز جزء فروکتان‌های اصلی قابل تخمیر به وسیله میکروفلورای دستگاه گوارش می‌باشند که باعث افزایش میکروب‌های مفید (لاکتو باسیل‌ها، بیفیدوباکترها و باکتری‌های تولیدکننده بوتیرات) و کاهش باکتری‌های بیماریزا (اشریشیاکلی و سالمونلا) در روده جوجه‌های گوشتی می‌شوند (Chow, 2002). بیفیدوباکترها و لاکتوباسیل‌ها اسیدهای چرب زنجیر کوتاه تولید کرده و با ایجاد شرایط اسیدی در روده، رشد باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین را متوقف می‌کنند (Chen *et al*., 2003).

گزارشات متعددی در مورد کاهش قابلیت هضم پروتئین در شرایط تنش گرمایی وجود دارد (Larbier *et al*., 1993; Wallis and Balnave, 1984). فعالیت آنزیم‌های تریپسین، کیموتریپسین و آمیلاز در شرایط تنش گرمایی بطور معنی‌داری کاهش می‌یابد (Hai *et al*., 2000). عصاره‌های گیاهی احتمالاً اثرات مثبت خود بر سیستم گوارشی را از راه تحریک آنزیم‌های گوارشی پانکراس، موکوس روده و افزایش نمک‌های صفراوی اعمال می‌کنند (Jang *et al*., 2007; Jamroz *et al*., 2005). در همین رابطه، Hernandz *et al*. (2004) گزارش نمودند که استفاده از عصاره‌های گیاهی باعث بهبود هضم در روده، قابلیت هضم نشاسته و افزایش قابلیت استفاده از ماده خشک خوراک در جوجه‌های گوشتی می‌شود.

تنش‌گرمایی در ماه‌های گرم سال خسارات زیادی به پرورش‌دهندگان جوجه‌های گوشتی وارد می‌کند. از این‌رو استفاده از ترکیبات گیاهی جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها که بتوانند از کاهش عملکرد ناشی از تنش گرمایی جلوگیری کند، اهمیت زیادی دارد. استفاده از پروبیوتیک در ایران از چند سال پیش به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک آغاز شده است، اما با توجه به وارداتی بودن و هزینه بالای پروبیوتیک استفاده از آن مقرون به صرفه نمی‌باشد.

هدف از این تحقیق تعیین امکان کاهش اثر تنش گرمایی بر پرنده از راه افزودن عصاره کاسنی به جیره و بهبود قابلیت هضم مواد مغذی و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش‌گرمایی بود.

## مواد و روش‌ها

به منظور عصاره‌گیری از کاسنی، گیاه کامل استفاده شد. گیاه کاسنی مورد استفاده در این آزمایش از منطقه کوهستانی در نزدیکی شهر بجنورد، استان خراسان شمالی جمع‌آوری شد. گیاه جمع‌آوری شده در سایه و در دمای اتاق کاملاً خشک شد. سپس به کمک آسیاب مدل IKH. SI، شرکت ایران خودساز، آسیاب شد تا قطعات آن به طول ۳ تا ۵ میلی‌متر کاهش یابند. سپس در هر یک از حلال‌های مورد نظر غوطه‌ور شد. بعد از ۳ روز، سوسپانسیون حاصله با استفاده از قیف بوخنر صاف شده و محلول زیر صافی در دستگاه روتاری، تحت شرایط خلاء، در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و سپس با گاز ازت کاملاً خشک شد. به منظور افزایش راندمان و تسریع در فرآیند استخراج از امواج فراصوت یا حمام اولتراسونیک استفاده شد. سپس عصاره‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال ذخیره شدند (Mehmood *et al*., 2012).

فعالیت ضدمیکروبی ۴ نوع عصاره گیاه کاسنی (کلروفرمی، اتیل‌استاتی، متانولی، آبی) بر باکتری اشریشیاکلی با روش دیسک‌دیفیوژن (NCCLS, 1997) تعیین شد. دیسک بدون نمونه به عنوان شاهد منفی استفاده شد. فعالیت ضدمیکروبی با اندازه‌گیری هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت.

آزمایش در ایستگاه تحقیقات طیور دانشگاه گنبدکاووس انجام شد. تعداد ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۵ تیمار آزمایشی تقسیم شدند. هر تیمار آزمایشی دارای ۴ تکرار و هر تکرار نیز دارای ۲۰ قطعه جوجه گوشتی بود که روی بستر پوشال پرورش داده شد. جیره پایه بر اساس توصیه راهنمای سویه ( ROS 308، جدول ۱) برای دوره‌های آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) به شکل آردی تهیه و به صورت آزادانه در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. جیره‌های آزمایشی شامل جیره پایه (شاهد)، جیره پایه حاوی سه سطح ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم عصاره اتیل-استات کاسنی در هر کیلوگرم خوراک و جیره پایه حاوی پروبیوتیک به میزان توصیه شده در هر کیلوگرم بودند. جهت اعمال تنش‌گرمایی مزمن، در طول دوره رشد و پایانی، جوجه‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت در روز (۱۱ صبح تا ۴ بعد از ظهر) با رطوبت ۵۰ درصد قرار گرفتند (Akbarian *et al*., 2013).

در روز ۱۰ آزمایش یک قطعه جوجه از هر واحد آزمایشی انتخاب و جداگانه به مدت ۴ روز با جیره حاوی ۰/۳ درصد اکسید کروم تغذیه شدند. پس از کشتار جوجه‌ها، محتویات ایلئوم به روش Ravindran *et al*. (1999) جمع‌آوری و در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد خشک شد. سپس میزان اکسیدکروم نمونه‌های ایلئوم و خوراک با روش Williams *et al*. (1962) و مقدار ماده خشک، پروتئین خام و چربی خام در نمونه‌های جیره و محتویات ایلئوم با روش-های استاندارد AOAC (1990) جهت تعیین میزان قابلیت هضم ایلئومی تعیین شد.

میزان قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام به کمک معادله Huang *et al*. (2005) به شکل زیر محاسبه شد:

$$DD = 1- [ ( ID * AF ) / ( IF * AD ) ]$$

DD= قابلیت هضم ماده مغذی

ID= غلظت مارکر در جیره

AF= غلظت مواد مغذی در محتویات مدفوع

IF= غلظت مارکر در محتویات مدفوع

AD= غلظت مواد مغذی در جیره

جدول ۱- ترکیبات مواد مغذی جیره پایه

Table1. Ingredient nutrient composition of the basal diet

| Ingredient | (1-10 d) | (11-24 d) | (25-42 d) |
|---|---|---|---|
| Corn | 55.88 | 58.96 | 62.67 |
| Soy bean meal | 37.16 | 34.06 | 29.73 |
| Soy bean oil | 2.22 | 2.95 | 3.75 |
| Limestone | 1.31 | 1.07 | 1.06 |
| Dicalcium phosphate | 1.79 | 1.55 | 1.49 |
| Salt | 0.5 | 0.50 | 0.43 |
| Vitamin premix | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| Mineral premix | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| L-Lysine | 0.29 | 0.14 | 0.13 |
| Methionine –DL | 0.35 | 0.27 | 0.24 |
| ME (kcal/kg) | 2900 | 3000 | 3100 |
| CP (g/kg) | 21.1 | 20 | 18.41 |
| Ca (%) | 1.00 | 0.86 | 0.82 |
| Available P (%) | 0.48 | 0.43 | 0.41 |
| Lysine (%) | 1.37 | 1.18 | 1.05 |
| Methionine | 0.68 | 0.57 | 0.52 |
| Methionine+Cysteine (%) | 1.02 | 0.90 | 0.83 |
| Sodium (%) | 0.21 | 0.21 | 0.19 |

Vitamin and mineral premix supplied per kilogram of diet: vitamin A: 10,000IU; vitamin D3: 9790 IU; vitamin E: 121 IU; vitamin B12: 20 µg; riboflavin:4.4mg; calcium pantothenate:40mg; niacin:22mg; choline: 840 mg; biotin:30 µg; thiamin:4mg; zincsulfate:60mg; manganese oxide:60mg; sodium selenite: 0.3 mg; potassium iodide: 1mg; copper (II) sulfate:10mg; andiron sulfate: 50mg

در روز ۲۵ آزمایش یک قطعه جوجه با وزنی معادل میانگین وزن واحد آزمایشی از هر واحد آزمایشی انتخاب شد. پس از کشتار جوجه‌ها و ضدعفونی سطح شکمی لاشه، محتویات چینه‌دان و ایلئوم جوجه‌ها در شرایط استریل خارج شده (Ravindran *et al*., 1999) و به نسبت ۱:۹ با محلول نمکی ۰/۸۵ درصد هموژنیزه شد. پس از ساخت سری رقیق‌سازی از رقت‌های مناسب روی محیط کشت اختصاصی ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. جمعیت لاکتوباسیلوس‌های موجود در چینه‌دان (Engberg *et al*., 2000) و جمعیت کلی‌فرم‌های موجود در ایلئوم (Murry *et al*., 2006) روی محیط کشت اختصاصی شمارش شدند.

برای شمارش کلی‌فرم‌ها از محیط کشت مک‌کانکی آگار[1] (مرک آلمان) و همچنین برای شمارش باکتری‌های لاکتوباسیل از محیط کشت ام آر اس آگار[2] (مرک آلمان) استفاده شد. در پایان، تعداد کلنی‌های تشکیل شده در زیر کلنی‌کانتر شمارش و نتایج حاصل از شمارش در عکس رقت ضرب و به داده‌های لگاریتمی تبدیل شد. نتایج حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ انجام گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از مقایسه اثر ضدباکتریایی عصاره‌های مختلف استخراج شده از گیاه کاسنی با حلال‌های مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که همه عصاره‌های بدست آمده از کاسنی، اثر ضدباکتریایی بر باکتری اشریشیاکلی نشان دادند اما بیشترین اثر ضدباکتریایی مربوط به عصاره اتیل‌استات بود. قطر هاله عدم رشد عصاره اتیل‌استاتی در غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی-لیتر (۷/۸ میلی‌متر) و در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی-لیتر (۲/ ۱۵میلی‌متر) نسبت به عصاره‌های دیگر بیشتر بود ($P <$ ۰/۰۵). حلال‌های قطبی متانول و اتیل‌استات می‌توانند ترکیبات قطبی مانند فلاوونوئیدها را که در عصاره گیاه کاسنی وجود دارند در خود حل کرده و بر باکتری‌ها اثرات ضدباکتریایی نشان دهند. معمولاً ترکیباتی مانند فلاونوئیدها و فنول‌ها می‌توانند به خوبی در متانول و اتیل‌استات حل شوند (Guido *et al.*, 2001). احتمال می‌رود که ترکیبات نیمه قطبی و قطبی از گیاه کاسنی در حلال‌های آبی حل نشده و باید برای آن از عصاره‌های آلی دیگر مانند کلروفرم و اتیل‌استات استفاده نمود (Ceksteryte, 2006). پیشنهاد شده است که عمل ضدباکتریایی عصاره‌های گیاهی به خاطر خصوصیات چربی‌دوستی و ساختمان شیمیایی این مواد می‌باشد (Farag *et al.*, 1989).

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایش بر قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی (ماده خشک، پروتئین و چربی خام) در جدول ۳ ارائه شده است. تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم ایلئومی ماده خشک نداشتند ($P >$ ۰/۰۵). مصرف تیمارهای آزمایشی سبب افزایش قابلیت هضم ایلئومی پروتئین در مقایسه با تیمار شاهد شد. بالاترین قابلیت هضم پروتئین مربوط به تیمار حاوی ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسنی بود. قابلیت هضم ایلئومی چربی تحت تاثیر مصرف پروبیوتیک قرار نگرفت اما مصرف تیمار حاوی ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسنی سبب افزایش معنی‌دار قابلیت هضم چربی نسبت به تیمار شاهد شد. میکروارگانیسم‌های مضر سبب افزایش فعالیت دی‌آمیناسیون و تجزیه اسیدهای آمینه و پروتئین در اثر ترشح آنزیم اوره از می‌شوند (Lee *et al.*, 2003). در اثر مصرف کاسنی، باکتری‌های مضر کاهش یافته و سرعت تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی کاهش می‌یابد و مقادیر بیشتری از آنها جذب و در بدن ذخیره می‌شود. استفاده از کاسنی قابلیت هضم پروتئین و چربی را بهبود می‌بخشد و سبب بهبود عملکرد می‌شود (Alzueta *et al.*, 2010; Izadi *et al.*, 2010). عصاره گیاه کاسنی ترشح آنزیم‌های هضمی پانکراس را در جوجه‌های گوشتی بهبود می‌بخشد و سبب بهبود قابلیت هضم مواد مغذی می‌شوند (Hinton *et al.*, 2000). با مصرف پروبیوتیک، تجزیه پروتئین به آمونیاک و فعالیت آنزیم اوره آز در روده کاهش می‌یابد و کارآیی مصرف پروتئین افزایش می‌یابد (Klien, 2002; Jin *et al.*, 1997). در مطالعه Afsharmanesh *et al.* (2013) استفاده از پروبیوتیک پریمالاک سبب بهبود قابلیت هضم ایلئومی پروتئین خام و ماده خشک شد. درحالیکه Zhang and Kim (2014) گزارش کردند که استفاده از پروبیوتیک بر قابلیت هضم مواد مغذی موثر نیست ($P <$ ۰/۰۵).

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی ( Log 10 cfu/g) و pH دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. افزودن عصاره اتیل‌استات کاسنی و افزودن پروبیوتیک به جیره جوجه‌های گوشتی، جمعیت لاکتوباسیل‌ها را در چینه‌دان در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد ($P <$ ۰/۰۵). مصرف تیمارهای آزمایشی بر pH

1. Maccanky agar
2. Modified Rogosa Agar (MRSA)

چینه‌دان تاثیر معنی‌دار نداشت ($P > ۰/۰۵$). استفاده از عصاره کاسنی همچنین پروبیوتیک، جمعیت اشرشیاکلی را در ایلئوم پرندگان نسبت به تیمار شاهد کاهش داد ($P < ۰/۰۵$). pH ایلئوم بجز در تیمار حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره کاسنی کاهش معنی‌دار نشان داد ($P < ۰/۰۵$).

اینولین موجود در گیاه دارویی کاسنی می‌تواند به وسیله لاکتوباسیل‌ها استفاده شود و سبب افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها و حذف رقابتی میکروب‌های بیماری‌زا شود و سبب بهبود عملکرد طیور گردد (Biggs *et al*., 2007). کاسنی دارای ترکیبات پلی‌فنلی از جمله فلاوونوییدها است. همچنین اسکولتین یک ترکیب فنلی است که در کاسنی یافت می‌شود. ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌های گیاهی فعالیت ضدمیکروبی قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهند. قابلیت ضدمیکروبی آنها، اکوسیستم روده را متعادل می‌سازد (Si *et al*., 2006). استفاده از گیاهان دارویی و پروبیوتیک‌ها در شرایط نامطلوب محیطی مانند تنش‌های محیطی تاثیر بهتری بر عملکرد پرندگان می‌تواند داشته باشد (Williams, 1999). مطالعات متعددی اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش در جوجه‌های گوشتی را مورد تأیید قرار داده‌اند (Lin *et al*., 2011).

## نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی این مطالعه نشان دادکه استفاده از عصاره اتیل-استات کاسنی در سطح ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش گرمایی سبب افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها در چینه‌دان، کاهش جمعیت کلی‌فرم‌ها در ایلئوم و بهبود قابلیت هضم ایلئومی پروتئین و چربی شد.

جدول ۲- اثر ضد میکروبی عصاره‌های کاسنی بر روی باکتری اشریشیاکلی در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ بر اساس قطر هاله عدم رشد

Table 2. Antibacterial effect of extracts of chicory on *E. coli* at 50 µg/ml and 100 µg/ml concentrations of the diameter of inhibition zone

| | Zone of inhibition in 50 µl (mm) | Zone of inhibition in 100 µl (mm) |
|---|---|---|
| Solvent | *Escherichia coli* | *Escherichia coli* |
| Chloroform | $5.4^{c}$ | $9.9^{d}$ |
| Ethyl acetate | $7.4^{b}$ | $15.2^{b}$ |
| Methanol | $6.2^{bc}$ | $12.6^{c}$ |
| Water | $3.7^{d}$ | $6.7^{e}$ |
| Gentamicin | $10.5^{a}$ | $22^{a}$ |
| *SEM | 0.37 | 0.53 |

Means within the same column without common letters differ significantly ($P$ <0.05).
The positive control was gentamicin.
* Standard error of means.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در ایلیوم جوجه‌های گوشتی در سن ۱۴ روزگی

Table 3. Effect of treatments on total apparent digestibility of nutrients in the ileum in broiler at 14 days of age

| | Treatment | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Nutrients | Control | 150 (mg/kg) | 250 (mg/kg) | 350 (mg/kg) | Probiotic | *SEM |
| Crude protein (%) | $71.20^{c}$ | $71.66^{bc}$ | $74.39^{a}$ | $75.12^{a}$ | $71.91^{b}$ | 0.44 |
| Crude fat (%) | $80.10^{b}$ | $81.19^{b}$ | $85.42^{a}$ | $85.14^{ab}$ | $81.60^{b}$ | 0.34 |
| Dry Matter (%) | 72.18 | 72.20 | 72.19 | 72.21 | 72.25 | 0.36 |

Means within the same row without common letters differ significantly ($P$ <0.05).
*Standard error of means

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی ( $Log_{10}$ cfu/g) و pH دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی

Table 4. Effect of experimental treatments on microbial population (Log 10 cfu/g) and pH of the gastrointestinal tract of broiler chicks

| | Treatment | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | 150 (mg/kg) | 250 (mg/kg) | 350 (mg/kg) | Probiotic | *SEM |
| **Crop** | | | | | | |
| Lactobacilli | 6.98[b] | 7.62[ab] | 7.78[ab] | 8.11[a] | 8.02[a] | 0.21 |
| pH | 4.93 | 4.82 | 4.79 | 4.70 | 4.73 | 0.13 |
| **Ileum** | | | | | | |
| *E.coli* | 6.20[a] | 5.93[ab] | 4.97[b] | 4.86[b] | 5.78[ab] | 0.30 |
| pH | 6.88[a] | 6.83[a] | 6.75[ab] | 6.45[b] | 6.72[ab] | 0.11 |

Means within the same row without common letters differ significantly ($P$ <0.05).
*Standard error of means

## فهرست منابع


Afsharmanesh M., Sadaghi B. and Silversides F. G. 2013. Influence of supplementation of prebiotic, probiotic, and antibiotic to wet-fed wheat-based diets on growth, ileal nutrient digestibility, blood parameters, and gastrointestinal characteristics of broiler chickens. Comparative Clinical Pathology, 22: 245-251.

Alzueta C., Rodríguez M., Ortiz L., Rebolé A. and Treviño J. 2010. Effects of inulin on growth performance, nutrient digestibility and metabolisable energy in broiler chickens. British Poultry Science, 51: 393-398.

Akbarian A., Golian H., Kermanshahi R., Farhoosh A., Raji R., De S., Smet S. and Michiels. J. 2013. Growth performance and gut health parameters of finishing broilers supplemented with plant extracts and exposed to daily increased temperature. Spanish Journal of Agricultural Research, 11(1): 109-119.

AOAC. 2005. Association of official analytical chemists, official methods of analysis. 18th (Ed). Maryland, USA.

Bailey M. T., Lubach G. R. and Coe C. L. 2004. Prenatal stress alters bacterial colonization of the gut in infant monkeys. The Journal of pediatric Gastroenterology and Nutrition, 38: 414-421.

Biggs P., Parsons C. M. and Fahey G. C. 2007. Several oligosaccharides on growth performance, nutrient digestibility, and cecal microbial populations in young chicks. Poultry Science, 86: 2327-2336.

Ceksteryte V., Kazlauskas S. and Racys J. 2006. Composition of flavonoids in Lithuanian honey bee bread. Biologija, 2: 28-33.

Chen Y. C., Nakthong C. and Chen T. C. 2005. Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inulin. International Journal of Poultry Science, 4: 170-178.

Chow J. 2002. Probiotics and prebiotics: A brief overview. Journal of Renal Nutrition, 12: 76-86.

Engberg R. M., Hedemann M. S. Leser T. D. and Jensen B. B. 2000. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. Poultry Science, 79: 1311–1319.

Farag R. S., Badei A. Z. M. A., Hewedi F. M. and El-Baroty G. S. A. 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleice and oxidation in aqueous medisa. Journal of the American Oil Chemists' Society, 66: 792-799.

Finke B., Stahl B., Pritschet M., Facius D., Wolfgang J. and Boehm G. 2002. Preparative continuous annular chromatography (P-CAC) enables the large-scale fractionation of fructans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 4743-4748.

Guido F., Antognoli E. and Morelli I. 2001. Two flavonoids and other compounds (Ed.), Longman Scientific and Technical, Essex. Nutrition, 85-117

Hai L., Rong D. and Zhang Z. Y. 2000.The effect of thermal environment on the digestion of broilers. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 83: 57-64.
Haj Ayed M., Laamari Z. and Rrkik. B. 2004. Effects of incorporating an antibiotic Avilamycin and probiotic activis in broiler diets Proceeding, Western section, American Society of Animal Science, 55: 237-240.
Herandez F., Madrir J. and Garcia V. 2004. Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility and digestive organ size. Poultry Science, 83: 169-174.
Hinton A. J. R., Buhr R. J. and Ingram K. D. 2000. Reduction of Salmonella in the crop of broiler chickens subjected to feed withdrawal. Journal of Poultry Science, 79: 1566-1570.
Huang K. H., Ravindran V., Li X. and Bryden W. L. 2005. Influence of age on the apparent ileal amino acid digestibility of feed ingredients for broiler chickens. British Poultry Science, 46: 236-245.
Izadi shoorab H., Arshaami J., golian A., Raji A. R. 2013. Effects of chicory root powder on growth performance and histomorphometry of jejunum in broiler chicks, Veterinary Research Forum, 4: 169-174
Jamroz D. A., Wiliczkiewicz T., Wertelecki J. 2005. Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. British Poultry science, 46: 485-493.
Jang L. S., Ko Y. H., Kang S. Y. and Lee C. Y. 2007. Effect of commercial essential oils on growth performance, digestion enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. Animal Feed Science and Technology, 134: 304-315.
Jin L. Z., Ho Y. W., Abdullah N. and Jalaludin S. 1997. Probiotic in poultry: modes of action. Worlds Poultry Science, 53: 351-368.
Klien H. 2002. Poultry feeding programs without antibiotic. From http://www.afac.se/pdf.
Larbier Z. N., Chagnau A. M. and Geraert P. A. 1993. Influence of ambient temperature on true digestibility of protein and amino acids of rapeseed and soybean meals in broilers. Poultry science, 72: 289-295.
Lee K. W., Everts H., Kappert H. J., Frehner M., Losa R. and Beynen A. C. 2003b. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. British Poultry Science, 44: 450–457.
Lin S. Y., Hung A. T. Y. and Lu. J. J. 2011. Effects of supplement with different level of Bacillus coagulans as probiotic on growth performance and intestinal microflora populations of broiler chickens. Journal of Animal and Veterinary Advances, 10: 111-114.
Mehmood N., Zubaır M., Rızwan K. and Rasool N. 2012. Antioxidant, Antimicrobial and phytochemical analysis of Cichorium intybus seeds extract and various organic fractions. Iranian Journal of Pharmacy Research, 11(4): 1145–1151.
Murry A. C., Hinton A. and Buhr R. J. 2006. Effect of botanical probiotic containing lactobacilli on growth performance and populations of bacteria in the ceca, cloaca, and carcass rinse of broiler chickens. International Journal of Poultry Science, 5 (4): 344-350.
National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1997. Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Test (5th ed.) approved Standard. M2-A6.
Ross R. P., Morgan S. and Hill C. 2002. Preservation and fermentation: Past, present and future. International Journal of Food Microbiology, 79: 3-16
Ravindran V., Cabhug S., Ravindran G. and Bryden W. L. 1999. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of feedstuff for broilers. Poultry Science, 78: 699-706.
Roberfroid M. B., Vanloo J. A. E. and Gibson. G. R. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. Journal of Nutrition, 128: 11–19.
SAS Institute. 2006. SAS/STAT User's Guide. Version 9.1. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
Si W., Gong J., Tsao R., Zhou T., Yu H., Poppe C., Johnson R. and Du Z. 2006. Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. Journal of Applied Microbiology, 100: 296-305.
Wallis I. R. and Balnave D. 1984. The influence of environmental temperature, age and sex on the digestibility of amino acids in growing broiler chickens. British Poultry Science, 25: 401-407
Williams C. H., David D. J and Iismaa O. 1962. Determination of chromium in feed and feces samples. The Journal of Agricultural Science, 59: 381-385.
Williams C. M. 1999. Effects of inulin on lipid parameters in humans. Journal of Nutrition, 129: 1471-1473.
Zhang Z. F. and Kim I. H. 2014. Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers. Poultry Science, 93: 364–370.

Animal Production Research
Vol. 4, No. 4, 2016 (37-45)

University of Guilan

# Comparing antibacterial effect of different extracts of chicory (*Cichorium intybus L.*) and its effects on nutrient digestibility and gastrointestinal microflora population in broiler chicks exposed to heat stress

**Z. Taraz[1*], M. Shams Shargh[2], F. Samadi[2], P. Ebrahimi[3], S. Zerehdaran[4]**

1. Ph.D student, Faculty of Animal Science, Agriculture and Natural Resources University of Gorgan; Scientific Affair of Animal Science Department, Gonbad Kavoos University, Gonbad, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Agriculture and Natural Resources University of Gorgan, Gorgan, Iran
3. Assistant Professor, Department of Chemistry, Agriculture and Natural Resources University of Gorgan, Gorgan, Iran
4. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received: 23-8-2015 – Accepted: 10-12-2015)

**Abstract**

This experiment was conducted to investigate the effect of chicory extract in the diet of broiler chicks in a completely randomized design with 5 dietary treatments, 4 replicates of 20 broiler chicks (1 d old) in each. Treatments consisted of a corn diet - soy as a basal diet (control) and basal diet containing three levels of 150, 250 and 350 mg ethyl acetate extract of chicory per kg and probiotic the recommended amount per kilogram of feed. Chicory was extracted using four different solvents (chloroform, ethyl acetate, methanol and water) and the most effective extracts in vitro antibacterial properties were determined by disk diffusion method and by measuring the diameter of inhibition zone. The most antibacterial effect against *E.coli* was observed to the ethyl acetate extract. Effects of ethyl acetate extract were investigated on nutrient digestibility and microbial population of the gastrointestinal tract of broilers under heat stress. To determine the digestibility of dry matter, crude protein and crude fat feed sampling and ileum with chromium oxide marker was used. The results showed that the use of the chicks chicory extract reduced the number of *E. coli* bacteria and increase the number of lactobacilli in the digestive tract. Digestible of protein and fat under the influence of chicory extract showed a significant increase. In the digestibility of dry matter in different treatments were not affected by treatments ($P<0.05$). It is concluded that improvement in the microflora and digestibility was expected with the use of ethyl acetate extract.

**Keywords:** Heat stress, Microflora population, Chicory extract, Digestibility

*Corresponding author: zahrataraz@yahoo.com