اثر عصاره‌ی گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال جوجه‌های گوشتی در شرایط تضعیف سیستم ایمنی

محمد روستائی‌علی‌مهر[۱*]، محدثه میرباذل[۲] و محمود حقیقیان‌رودسری[۳]

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۶

چکیده

در این تحقیق اثر عصاره‌ی سرخارگل بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی در شرایط سرکوب ایمنی با استفاده از ۲۴۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی بررسی شد. عصاره به مقدار صفر (E_0)، ۱ (E_1) و ۲/۵ ($E_{2.5}$) میلی‌لیتر در لیتر از روز ۶ تا ۴۲ به صورت مستمر به آب آشامیدنی اضافه گردید. در روزهای ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۳۴، ۳۶، ۳۸ و ۴۰ به نیمی از جوجه‌ها در هر سطح عصاره‌ی سرخارگل برای سرکوب ایمنی، سیکلوسپورین به مقدار ۹/۹ mg/kg (C_+) خورانده شد و نیمی از جوجه‌ها هیچ درمانی (C_-) دریافت نکردند. تیمارهای آزمایش شامل E_0C_-، E_0C_+، E_1C_-، E_1C_+، $E_{2.5}C_-$ و $E_{2.5}C_+$ بودند. برای ارزیابی پاسخ‌های ایمنی سلولی در روز ۱۶، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر محلول فیتوهماگلوتینین (۰/۲ mg/ml) به صورت داخل پوستی (چین پوستی بال) تزریق شد و ضخامت پوست بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت اندازه‌گیری گردید. محلول ۲۵٪ گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در روز ۳۳ به صورت عضلانی تزریق شد و عیار پادتن IgG و IgM ضد SRBC از طریق آزمایش هماگلوتیناسیون در روزهای ۳۴، ۳۶، ۳۸ و ۴۰ تعیین گردید. ضریب تبدیل خوراک در مقدار ۱ml عصاره‌ی سرخارگل (۱/۴۹) کم‌تر از مقدار آن در شاهد (۱/۶۲) بود ($P<0/05$). عیار پادتن کل و IgG در روزهای ۳۹ و ۴۲ و پاسخ‌های ایمنی سلولی در تیمار $E_{2.5}C_+$ بیش‌تر از تیمار E_0C_+ و E_1C_+ و کم‌تر از تیمار E_1C_- و $E_{2.5}C_-$ بود ($P<0/05$). نتیجه نهائی این که، افزودن ۲/۵ میلی‌لیتر عصاره‌ی سرخارگل در هر لیتر آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی، سبب تحریک پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال در شرایط سرکوب ایمنی می‌شود.

کلمات کلیدی: عصاره‌ی سرخارگل، سیکلوسپورین، ایمنی سلولی و هومورال، عملکرد، جوجه‌ی گوشتی

مقدمه

امروزه در صنعت پرورش جوجه‌های گوشتی خسارات حاصل از وقوع عفونت‌های تحت درمانگاهی و آلودگی جیره‌ها به سموم قارچی به دلیل آگاهی کم و بی توجهی مدیران پرورش به مسائل بهداشتی، غیر قابل انکار است؛ به علاوه، در شرایطی که وضعیت بهداشتی مواد مورد نیاز در پرورش طیور مانند خوراک، بستر و غیره در حد مطلوب نیست، امکان بروز استرس‌های محیطی و تغذیه‌ای به‌شدت افزایش می‌یابد. استرس‌ها به واسطه‌ی ایجاد خسارات آشکار و پنهان بر سیستم ایمنی و سلامتی طیور واجد اهمیت هستند. تضعیف سیستم ایمنی توسط استرس‌های مختلف زمینه را برای هجوم میکروارگانیسم-های بیماری‌زا فراهم می‌کند و در نهایت، با افزایش تلفات و خسارات سبب افت تولید و بازده اقتصادی می‌شوند؛ بنابراین کاهش اثر استرس‌های محیطی و تغذیه‌ای در پرورش جوجه‌های گوشتی یک الزام محسوب می‌شود.

شایع‌ترین مایکوتوکسین‌ها در جیره‌ی طیور آفلاتوکسین و تریکوتکسین‌ها هستند که با تضعیف ایمنی پرنده و کاهش اثر واکسیناسیون، زمینه را برای بروز بیماری‌های درمانگاهی فراهم می‌کنند (Girgis and Smith 2010, Shini et al. 2010). به علاوه، آلاینده‌های محیط زیست،

[۱*] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان E-mail: roostaei@guilan.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

[۳] استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

از جمله آفت‌کش‌ها، کربوفوران، کربامیل، هگزاکلروبنزن، فلزات سنگین مانند سرب، کادمیوم، نیکل، کروم و هیدروکربن‌های هالوژنه مانند دیوکسین می‌توانند به طرق مختلف وارد بدن طیور شوند و سبب تضعیف سیستم ایمنی می‌شوند (Schrank et al. 1990)؛ هم‌چنین شرایطی مانند تراکم، حمل و نقل، محرومیت غذا و آب، شرایط غیر بهداشتی و سوء تغذیه ممکن است منجر به کاهش توان ایمنی و افزایش حساسیت طیور به بیماری‌ها شوند (Shini et al. 2010). مصرف مواد محرک سیستم ایمنی می‌تواند آثار مضر استرس‌ها را کاهش دهد (Bodinet et al. 2002)؛ بدین منظور مواد طبیعی محرک سیستم ایمنی به‌خصوص مواد به دست آمده از گیاهان، به دلیل نداشتن پس‌ماند در لاشه و یا تولیدات طیور، بیش‌تر از سایر ترکیبات مورد توجه قرار گرفته‌اند. مشخص شده است عصاره‌ی به دست آمده از گیاه سرخارگل حاوی آلکامیدها، پلی‌ساکاریدها، ترکیبات فنولی شامل اسید کافئیک و مشتقات آن مانند اسید شیکوریک است (Nasir 2008). مطالعات نشان داد که مصرف عصاره‌ی سرخارگل در شرایط معمول و بدون هیچ چالشی در جوجه‌های گوشتی سبب بهبود تولید پادتن ضد نیوکاسل (Nasir 2008) و ضد آنفلوانزا (Najafzade et al. 2011) شده است. هم‌چنین اخیراً گزارش شده است که با افزایش مصرف عصاره‌ی سرخارگل در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی شدت پاسخ‌های ایمنی زیاد می‌شود ولی عملکرد تولیدی در هنگام مصرف ۱ ml/l عصاره بیش‌تر از مقادیر بالاتر آن خواهد شد (روستائی‌علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۲). با توجه به این که در شرایط تجاری، حذف تمام استرس-های محیطی و تغذیه‌ای امکان‌پذیر نیست، هدف تحقیق حاضر بررسی اثر عصاره‌ی گیاه سرخارگل بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال جوجه‌های گوشتی در شرایط سرکوب ایمنی توسط سیکلوسپورین است.

مواد و روش کار

تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه‌ی یک روزه‌ی گوشتی (مخلوط نر و ماده) از سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزنی ۴۰ گرم، در واحد مرغداری دانشگاه گیلان پرورش داده شدند. عصاره‌ی الکلی گیاه سرخارگل ایران با ظاهر قهوه‌ای تیره، pH برابر ۵/۷، چگالی برابر ۱/۰۷ و درجه‌ی الکلی صفر از شرکت گیاهان دارویی زردبند تهیه شد . میزان اسید کافئیک موجود در عصاره به وسیله‌ی High-performance liquid chromatography (HPLC) اندازه‌گیری شد (Luo et al. 2003) و آن برابر با ۲/۹۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. جوجه‌ها تا ۵ روزگی با شرایط یکسان پرورش یافتند. در روز ششم جوجه‌ها وزن‌کشی شده و به سه گروه تقسیم شدند. هر گروه در ۸ قفس ۱۰ قطعه‌ای با میانگین وزنی ۱۰۹ گرم توزیع شدند. مقدار صفر، ۱ و ۲/۵ میلی‌لیتر عصاره‌ی سرخارگل در لیتر آب آشامیدنی هر گروه به طور مداوم از روز ۶ تا آخر دوره‌ی پرورش (۴۲ روزگی) اضافه شد (روستائی‌علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۲) . در روزهای ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۳۴، ۳۶، ۳۸ و ۴۰ دوره‌ی پرورش مقدار ۹/۹ mg/kg سیکلوسپورین به صورت محلول (۰/۱ ml/kg) روزانه به جوجه‌ها خورانده شد (Schrank et al. 1990). تیمارهای آزمایشی، شامل سطوح صفر درصد عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین (E_0C_-)، صفر درصد عصاره و ۹/۹ mg/kg سیکلوسپورین (E_0C_+)، ۱٪ عصاره و صفر سیکلوسپورین (E_1C_-)، ۱ ٪ عصاره و ۹/۹ mg/kg سیکلوسپورین (E_1C_+)، ۲/۵٪ عصاره و صفر سیکلوسپورین ($E_{2.5}C_-$)، ۲/۵ ٪ عصاره و ۹/۹ mg/kg سیکلوسپورین ($E_{2.5}C_+$) بودند. نوردهی به صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی در یک دوره‌ی ۲۴ ساعته صورت گرفت. جیره‌های آغازین، رشد و پایانی تهیه و به ترتیب از ۶ تا ۱۴ روزگی، ۱۵ تا ۲۸ روزگی و ۲۹ تا ۴۲ روزگی به جوجه‌ها داده شد. اجزای جیره‌ها و ترکیب شیمیایی آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. در طول دوره‌ی پرورش جوجه‌ها به آب و خوراک دسترسی مداوم داشتند.

جدول ۱: اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌ی غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره‌ی آغازین، رشد و پایانی (درصد)

درصد اجزای خوراک	دوره‌های پرورش			درصد ترکیب شیمیایی	دوره‌های پرورش		
	آغازین	رشد	پایانی		آغازین	رشد	پایانی
ذرت	۵۸/۷	۶۱/۵	۶۴/۴	انرژی	۲۸۳۷	۲۹۴۰	۳۰۲۰
کنجاله‌ی سویا	۳۵/۵۲	۳۲/۴	۲۹	پروتین٪	۲۱/۲	۱۹/۶	۱۸/۳
روغن گیاهی	۱/۵	۲/۰۵	۲/۸	کلسیم٪	۱	۰/۹۶	۰/۹۰
دی‌کلسیم‌فسفات	۲/۱۵	۱/۹۵	۱/۸۹	فسفر قابل دسترس٪	۰/۵۰	۰/۴۸	۰/۴۵
کربنات‌کلسیم	۰/۷۶	۰/۸۵	۰/۸	کلر٪	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰
نمک خوراکی	۰/۲	۰/۲	۰/۲۲	سدیم٪	۰/۲۰	۰/۱۷	۰/۱۶
جوش شیرین	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۶	لیزین٪	۱/۲۰	۱/۱۰	۱/۰۵
مکمل معدنی[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	متیونین٪	۰/۴۶	۰/۴۴	۰/۳۹
مکمل ویتامینه[2]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	متیونین+سیستئین٪	۰/۸۹	۰/۸۴	۰/۸۲
متیونین	۰/۲	۰/۱۸	۰/۱۷				
لیزین	۰/۲۶	۰/۲۲	۰/۱۷				

۱- هر کیلوگرم مواد معدنی حاوی: منگنز (اکسید منگنز ۶۲٪) ۱۶ گرم، آهن (سولفات آهن ۲۰٪) ۲۵ گرم، روی (اکسید روی ۷۷٪) ۱۱ گرم، مس (سولفات مس ۲۵٪) ۴ گرم، ید (کلسیم طدات ۶۲٪) ۰/۱۶ گرم، سلنیوم (۱٪) ۲ گرم.

۲- هر کلیوگرم مواد ویتامینی حاوی ویتامین A (۵۰۰۰۰۰ واح بین‌المللی بر گرم) ۱/۸ گرم، ویتامین B_1 (۹۸/۸٪) ۰/۱۸ گرم، ویتامین B_6 (۹۸/۵٪) ۰/۳ گرم، ویتامین B_{12} (۱٪) ۰/۱۵ گرم، ویتامین D_3 (۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی بر گرم) ۰/۴ گرم، ویتامین E (۵۰۰ واحد بین‌المللی بر گرم) ۳/۶ گرم، ویتامین K_3 (۵۰٪) ۰/۴ گرم، ویتامین B_9 (۸۰٪) ۰/۱۲۵ گرم، ویتامین B_5 (۹۹٪) ۳ گرم، ویتامین H_2 (۲٪) ۰/۵ گرم.

در پایان هر هفته، مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک (هر تکرار) محاسبه شد. به منظور ارزیابی پاسخ‌های ایمنی سلولی در روز ۱۶ پرورش، از هر تیمار ۲۰ قطعه جوجه انتخاب و بعد از شماره‌گذاری پا، مقدار ۰/۱ml از محلول PHA-P (mg/ml ۰/۲) در بافر فسفات به وسیله‌ی سرنگ انسولین و مقدار ۰/۱ml محلول بافر فسفات به عنوان شاهد به ترتیب به چین پوستی بال راست و بال چپ به صورت داخل پوستی تزریق گردید. دو روز قبل از تزریق و روز تزریق *PHA-P* ، یعنی روزهای ۱۴، ۱۵ و ۱۶، سیکلوسپورین به مقدار ۹/۹ mg/kg به صورت محلول به نیمی از جوجه-های هر گروه برای تضعیف سیستم ایمنی خورانده شد. ضخامت پوست به وسیله‌ی میکرومتر ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق PHA-P اندازه‌گیری گردید . شاخص تحریک برابر است با ضخامت محل تزریق PHA-P منهای ضخامت محل تزریق PBS (Schrank et al. 1990, Grasman 2010).

برای ارزیابی پاسخ‌های ایمنی هومورال از تزریق گلبول قرمز گوسفند و انجام آزمایش هماگلوتیناسیون جهت تعیین عیار پادتن IgG و IgM ضد گلبول قرمز گوسفند استفاده شد. در روز ۳۳ دوره‌ی پرورش به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۲۵٪ گلبول قرمز گوسفند به عضله‌ی سینه تمام جوجه‌ها تزریق گردید (روستائی‌علی-مهر و همکاران ۱۳۹۱). به منظور تضعیف سیستم ایمنی جوجه‌ها در روزهای ۳۴، ۳۶، ۳۸ و ۴۰ دوره‌ی پرورش سیکلوسپورین به صورت محلول به مقدار ۹/۹ mg/kg به نیمی از جوجه‌های هر گروه خورانده شد. برای تعیین عیار پادتن IgG و IgM ضد گلبول قرمز در روزهای ۳۷، ۳۹ و ۴۲ از ورید بال ۱۲ قطعه جوجه‌ی گوشتی در هر تیمار خون‌گیری گردید. در آزمایشگاه نمونه‌های خون بعد از لخته شدن به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم به دست آمده تا انجام

آزمایش هماگلوتیناسیون در فریزر ۲۰- درجه‌ی سلسیوس قرار داده شدند. پس از یخ گشایی برای غیرفعال کردن عوامل کمپلمان نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه‌ی سلسیوس قرار گرفتند و سپس نمونه‌ها به دو بخش تقسیم شدند: بخش اول برای تعیین عیار پادتن تام و بخش دوم برای تعیین عیار IgG مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور غیر فعال کردن IgM و تعیین عیار IgG میزان ۱/۴ درصد از محلول ۲- مرکاپتواتانول به بخش دوم اضافه شد و برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس قرار داده شدند و بر اساس روش Schrank و همکاران (۱۹۹۰) آزمایش هماگلوتیناسیون انجام گردید. عیار پادتن IgG از عیار پادتن تام کسر شد تا عیار پادتن IgM به دست آید. عیار پادتن‌های ضد گلبول قرمز بر اساس لگاریتم بر پایه ۲ گزارش شد. به منظور تجزیه لاشه در پایان دوره از هر تکرار یک قطعه جوجه که وزن آن نزدیک به میانگین وزن جوجه‌های همان قفس بود، انتخاب گردید و پس از ۳ ساعت گرسنگی، شماره‌گذاری پا و ثبت وزن زنده، ذبح و بلافاصله پرکنی شدند. ابتدا پاها از ناحیه‌ی مفصل خرگوشی قطع و در نهایت شاخص‌های مورد نظر شامل وزن لاشه، وزن سینه، وزن ران، وزن بال، وزن جگر، وزن سنگدان، وزن بورس، وزن تیموس و وزن چربی بطنی با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد (Koreleski and Swiatkiewicz 2007).

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف عصاره‌ی سرخارگل (صفر، ۱ و ۲/۵ میلی‌لیتر در لیتر آب آشامیدنی) بر عملکرد، صفات لاشه و پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال در شرایط تضعیف سیستم ایمنی جوجه‌ها با استفاده از دو سطح سیکلوسپورین (صفر و ۹/۹ mg/kg) و اثرات متقابل آن‌ها از آزمون فاکتوریل (۲×۳) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشی با استفاده از رویه‌ی GLM برنامه‌ی SAS انجام گردید. مقایسه‌ی میانگین‌ها نیز، با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت و تفاوت‌ها در سطح P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج نشان داد که اثر متقابل عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین بر مصرف خوراک روزانه در دوره‌ی آغازین، رشد، پایانی و کل دوره معنی‌دار نیست (P>۰/۰۵). مصرف خوراک روزانه تحت تأثیر سیکلوسپورین و عصاره‌ی سرخارگل قرار نگرفت (P>۰/۰۵).

جدول ۲: اثر عصاره‌ی گیاه سرخارگل در آب آشامیدنی بر افزایش وزن روزانه (گرم/جوجه/روز)

سطح عصاره‌ی سرخارگل	دوره‌ی پایانی (۴۲-۲۹)	کل دوره (۴۲-۰)
۰	۹۰/۶۲±۱/۰۲[c]	۵۷/۰۵±۰/۶۹[b]
۱	[a]۱۰۲/۱۷±۱/۰۲	۶۲/۱۷±۰/۶۹[a]
۲/۵	[b]۹۸/۷۷±۱/۰۲	۶۰/۳۸±۰/۶۹[a]

[a-c] حروف غیر مشابه در ستون نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جدول ۳: اثر عصاره‌ی گیاه سرخارگل در آب آشامیدنی بر ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی (گرم/جوجه/روز)

سطح عصاره سرخارگل	دوره‌ی پایانی (۴۲-۲۹)	کل دوره (۴۲-۰)
۰	۱/۵۸±۰/۰۳[a]	۱/۵۸±۰/۰۳[a]
۱	۱/۳۹±۰/۰۳[b]	۱/۴۶±۰/۰۳[b]
۲/۵	۱/۴۸±۰/۰۳[ab]	۱/۵۳±۰/۰۳[ab]

[a-b] حروف غیر مشابه در ستون نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

نتایج نشان داد اثر متقابل عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین بر افزایش وزن بدن در تمام دوره‌های پرورش معنی‌دار نیست (P>۰/۰۵). اثر عصاره‌ی سرخارگل بر افزایش وزن روزانه در دوره‌ی پایانی و کل دوره معنی‌دار بود (جدول ۲، P<۰/۰۵). سطح ۱ میلی‌لیتر عصاره‌ی سرخارگل در دوره‌ی پایانی نسبت به سطح صفر و ۲/۵ میلی‌لیتر عصاره افزایش وزن بیش‌تری داشت

(P<۰/۰۵) و در کل دوره نسبت به سطح ۲/۵ میلی‌لیتر تفاوتی نشان نداد (P>۰/۰۵) ولی بیشتر از سطح صفر درصد بود (P<۰/۰۵). در هیچ‌کدام از دوره‌های پرورش سیکلوسپورین روی افزایش وزن اثری نداشت (P>۰/۰۵).

نتایج مربوط به ضریب تبدیل خوراک در جدول ۳ نشان داده شده است. اثر متقابل عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین در تمام دوره‌ی پرورش معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) . اثر سیکلوسپورین روی ضریب تبدیل خوراک در هیچ‌کدام از دوره‌های پرورش معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). عصاره‌ی سرخارگل در دوره‌ی آغازین و رشد اثری بر ضریب تبدیل خوراک نداشت (P>۰/۰۵) و در دوره‌ی پایانی و کل پرورش ضریب تبدیل خوراک در سطح ۱ میلی‌لیتر عصاره‌ی کم‌تر از سطح صفر میلی‌لیتر عصاره بود (P<۰/۰۵) و با سطح ۲/۵ میلی‌لیتر عصاره تفاوتی نشان نداد (P>۰/۰۵). در دوره‌ی پایانی و کل پرورش ضریب تبدیل خوراک در سطوح ۲/۵ میلی‌لیتر و صفر میلی‌لیتر عصاره تفاوتی را نشان ندادند (P>۰/۰۵).

نتایج نشان داد که اثر متقابل سطوح مختلف عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین بر پاسخ‌های ایمنی سلولی در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق *PHA-P*، معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین شاخص تحریک متعلق به تیمار $E_{2.5}C_-$ بود (P<۰/۰۵). کم‌ترین شاخص تحریک متعلق به تیمارهای E_0C_+ بود (P<۰/۰۵) که آن نشان‌دهنده‌ی سرکوب ایمنی توسط سیکلوسپورین است. شاخص تحریک در تیمار $E_{2.5}C_+$ بیش‌تر از تیمار E_0C_- و E_1C_+ و کم‌تر از تیمار E_1C_- بود (جدول ۴، P<۰/۰۵).

جدول ۴: اثر عصاره‌ی گیاه سرخارگل و سیکلوسپورین بر پاسخ‌های ایمنی سلولی به تزریق PHA-P

تیمارها[1]	شاخص تحریک پس از ۲۴ ساعت (mm)	شاخص تحریک پس از ۴۸ ساعت (mm)
E_0C_-	۰/۱۲۲±۰/۰۰۷[d]	۰/۱۷۵±۰/۰۰۶[d]
E_1C_-	۰/۲۰±۰/۰۰۷[b]	۰/۲۸±۰/۰۰۶[b]
$E_{2.5}C_-$	۰/۲۸±۰/۰۰۷[a]	۰/۳۱±۰/۰۰۶[a]
E_0C_+	۰/۰۵±۰/۰۰۷[e]	۰/۰۵۵±۰/۰۰۶[e]
E_1C_+	۰/۱۲۲±۰/۰۰۷[d]	۰/۱۷۷±۰/۰۰۶[d]
$E_{2.5}C_+$	۰/۱۶±۰/۰۰۷[c]	۰/۲۲±۰/۰۰۶[c]

[1] تیمار E_0C_-: صفر درصد عصاره و سیکلوسپورین، تیمار E_1C_-: ۱٪ عصاره و صفر سیکلوسپورین، تیمار $E_{2.5}C_-$: ۲/۵ ٪ عصاره و صفر سیکلوسپورین، تیمار E_0C_+: صفر درصد عصاره و ۰/۱ سیکلوسپورین، تیمار E_1C_+: ۱ ٪ عصاره و ۰/۱ سیکلوسپورین، تیمار $E_{2.5}C_+$: ۲/۵٪ عصاره و ۰/۱ سیکلوسپورین

[a-e] حروف غیر مشابه در ستون نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جدول ۵: عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین بر عیار پادتن تام و IgG ضد SRBC در زمان‌های ۳۷، ۳۹ و ۴۲

تیمارها[1]	۳۷ روزگی		۳۹ روزگی		۴۲ روزگی	
	آنتی‌بادی تام	IgG	آنتی‌بادی تام	IgG	آنتی‌بادی تام	IgG
E_0C_-	۳/۷۴±۰/۱۹۶[c]	۲/۰۸±۰/۱۳۸[c]	۴/۹۱±۰/۱۱۲[d]	۲/۶۵±۰/۱۷۴[d]	۵/۴۹±۰/۱۱۶[d]	۳/۵۸±۰/۱۰۶[d]
E_1C_-	۴/۸۳±۰/۱۹۶[b]	۲/۸۳±۰/۱۳۸[b]	۶/۸۳±۰/۱۱۲[b]	۴/۸۳±۰/۱۷۴[b]	۷/۶۶±۰/۱۱۶[b]	۵/۷۵±۰/۱۰۶[b]
$E_{2.5}C_-$	۵/۷۵±۰/۱۹۶[a]	۳/۷۴ ±۰/۱۳۸[a]	۷/۸۳±۰/۱۱۲[a]	۵/۸۳±۰/۱۷۴[a]	۹/۸۳±۰/۱۱۶[a]	۷/۸۳±۰/۱۰۶[a]
E_0C_+	۳/۰۸±۰/۱۹۶[d]	۰/۶۶±۰/۱۳۸[d]	۲/۹۱±۰/۱۱۲[e]	۱/۰۸±۰/۱۷۴[e]	۲/۱۶±۰/۱۱۶[e]	۰/۵۰۲±۰/۱۰۶[e]
E_1C_+	۳/۸۳±۰/۱۹۶[c]	۱/۸۳±۰/۱۳۸[c]	۴/۹۹±۰/۱۱۲[d]	۲/۶۶±۰/۱۷۴[d]	۵/۵۸±۰/۱۱۶[d]	۳/۵۸±۰/۱۰۶[d]
$E_{2.5}C_+$	۳/۹۱±۰/۱۹۶[c]	۱/۹۱±۰/۱۳۸[c]	۵/۳۵±۰/۱۱۲[c]	۳/۱۶±۰/۱۷۴[c]	۶/۸۳±۰/۱۱۶[c]	۴/۸۳±۰/۱۰۶[c]

[1] تیمار E_0C_-: صفر درصد عصاره و سیکلوسپورین، تیمار E_1C_-: ۱٪ عصاره و صفر سیکلوسپورین، تیمار $E_{2.5}C_-$: ۲/۵ ٪ عصاره و صفر سیکلوسپورین، تیمارE_0C_+: صفر درصد عصاره و ۰/۱ سیکلوسپورین، تیمار E_1C_+: ۱٪ عصاره و ۰/۱ سیکلوسپورین، تیمار $E_{2.5}C_+$: ۲/۵٪ عصاره و ۰/۱ سیکلوسپورین

[a-e] حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

نتایج نشان داد اثر مقادیر مختلف عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین بر عیار پادتن IgM در روزهای ۳۷ و ۳۹ و ۴۲ معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). اثر متقابل مقادیر مختلف عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین بر عیار آنتی‌بادی تام و IgG در تمام زمان‌های مورد بررسی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین و کم‌ترین عیار آنتی‌بادی تام و IgG در زمان‌های ۳۷، ۳۹ و ۴۲ روزگی، به ترتیب متعلق به تیمارهای $E_{2.5}C_-$ و E_0C_+ بود (جدول ۵، P<۰/۰۵). عیار آنتی‌بادی تام و IgG تیمار E_0C_- و تیمار E_1C_+ در روزهای ۳۷، ۳۹ و ۴۲ اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در روزهای ۳۹ و ۴۲ عیار آنتی‌بادی تام و IgG در تیمار $E_{2.5}C_+$ بیش‌تر از تیمارهای E_0C_- و E_1C_+ بود (P<۰/۰۵). در روزهای ۳۷، ۳۹ و ۴۲ عیار آنتی‌بادی تام و IgG تیمار E_1C_- بیش‌تر از E_0C_- و E_1C_+ بود (P<۰/۰۵).

جدول ۶: عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین بر بورس فابریسیوس و تیموس (درصد وزنی)

تیمارها	بورس	تیموس
E_0C_-	۰/۱۵۷±۰/۰۱۱ [d]	۰/۰۲±۰/۵۰ [d]
E_1C_-	۰/۰۱۱±۰/۲۴ [b]	۰/۰۲±۰/۹ [b]
$E_{2.5}C_-$	۰/۰۱۱± ۰/۳۱ [a]	۱/۰۳±۰/۰۲ [a]
E_0C_+	۰/۰۱۱±۰/۱۰۵ [e]	۰/۰۲±۰/۳۷ [e]
E_1C_+	۰/۰۱۱±۰/۱۶ [d]	۰/۰۲±۰/۵ [d]
$E_{2.5}C_+$	۰/۰۱۱±۰/۱۹۵ [c]	۰/۰۲±۰/۸۱ [c]

[۱] تیمار E_0C_-: صفر درصد عصاره و سیکلوسپورین، تیمار E_1C_-: ۱٪ عصاره و صفر سیکلوسپورین، تیمار $E_{2.5}C_-$: ۲/۵ ٪ عصاره و صفر سیکلوسپورین، تیمارE_0C_+: صفر درصد عصاره و ۰/۱ سیکلوسپورین، تیمار E_1C_+: ۱ ٪ عصاره و ۰/۱ سیکلوسپورین، تیمار $E_{2.5}C_+$: ۲/۵٪ عصاره و ۰/۱ سیکلوسپورین

[a-e] حروف غیر مشابه در ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار است (P<۰/۰۵).

نتایج نشان داد که اثر سطوح مختلف عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین روی درصد وزن لاشه، وزن سینه، وزن ران، وزن بال، وزن سنگدان، کبد و چربی محوطه‌ی بطنی، معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). اثر متقابل سطوح مختلف عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین بر درصد وزن بورس و تیموس معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). کم‌ترین و بیش‌ترین درصد وزنی بورس و تیموس، به ترتیب متعلق به تیمار E_0C_+ و $E_{2.5}C_-$ بود (جدول ۶، P<۰/۰۵). درصد وزنی بورس و تیموس تیمار E_1C_+ و E_0C_- تفاوتی را نشان ندادند. درصد وزنی بورس و تیموس در تیمار $E_{2/5}C_+$ بیش‌تر از E_0C_- و کم‌تر از E_1C_- بود (P<۰/۰۵).

بحث

نتایج نشان داد مصرف عصاره‌ی سرخارگل در جوجه‌های گوشتی اثری بر مصرف خوراک نداشته است که با نتایج روستائی‌علی‌مهر و همکاران در سال ۱۳۹۲ و Bohmer و همکاران در سال ۲۰۰۹ مطابقت دارد. هم‌چنین مطالعات در موش (Goel et al. 2001) و خرگوش (Hedia et al. 2008) نشان می‌دهد که عصاره‌ی سرخارگل بر مصرف خوراک اثری ندارد.

نتایج نشان داد سیکلوسپورین اثری بر افزایش وزن روزانه نداشت ولی عصاره‌ی سرخارگل سبب بهبود افزایش وزن در کل دوره‌ی پرورش شد. مطالعات نشان داده است که مقدار ۵۰mg/kg سیکلوسپورین در جوجه‌های گوشتی (Nowak et al. 1982)، ۱۰۰mg/kg در بوقلمون‌های آلوده با کوروناویروس (Loa et al. 2002) و ۵۰mg/kg در جوجه های گوشتی مبتلا به تورم پیش‌معده اثری بر افزایش وزن ندارد (Pantin-Jackwood et al. 2004)؛ به علاوه، افزودن ۲/۵٪ عصاره‌ی سرخارگل در آب آشامیدنی جوجه گوشتی (روستائی‌علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۲، Nasir 2008) و افزودن ۰/۱ ٪ و ۰/۵ ٪ پودر ریشه‌ی گیاه سرخارگل در جیره‌ی جوجه‌های آلوده با کوکسیدیا (Allen 2003) باعث افزایش وزن روزانه شده است. از طرفی، مشخص شده است که مصرف عصاره‌ی سرخارگل در موش‌های مبتلا به آنفولانزا به صورت معنی‌داری سبب کاهش وزن بدن آن‌ها

می‌شود (Fusco et al. 2010). اجزای فنولی موجود در گیاهان می‌تواند با کاهش تعداد میکروب‌های پاتوژن روده، مانع از اتلاف مواد مغذی شده و بدین ترتیب، سبب بهبود عملکرد و افزایش پروتئین در بافت‌های بدن شوند (Recoquillay 2006). بنابراین، اجزای فنولیک موجود در عصاره‌ی سرخارگل، احتمالاً از طریق بهبود در جذب مواد غذایی منجر به بهبود میانگین افزایش رشد در جوجه‌های گوشتی شده است.

در تحقیق حاضر ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر سیکلوسپورین قرار نگرفت ولی عصاره‌ی سرخارگل سبب بهبود آن شد. این نتیجه با نتایج به دست آمده در جوجه‌های گوشتی (روستائی‌علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۲، Maier et al. 2008)، مرغان تخم‌گذار (Maier et al. 2008)، خوک (Massa et al. 2005) و خرگوش (Hedia et al. 2008) مطابقت دارد. ضریب تبدیل خوراک به پارامترهای افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک روزانه بستگی دارد و از آن جایی که عصاره‌ی سرخارگل باعث بهبود افزایش وزن روزانه شده است، در نتیجه بهبود ضریب تبدیل نیز، دور از انتظار نخواهد بود.

نتایج نشان داد عصاره‌ی سرخارگل باعث تحریک پاسخ‌های ایمنی سلولی می‌شود و حتی در زمان مصرف سیکلوسپورین (استرس سرکوب ایمنی) عصاره‌ی سرخارگل اثر تحریکی مناسبی بر پاسخ‌های ایمنی سلولی دارد. افزایش پاسخ ایمنی سلولی در واکنش به تزریق داخل پوستی فیتوهماگلوتینین P در اثرمصرف عصاره‌ی سرخارگل حاوی ۲/۹۹mg/ml اسید کافئیک در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (روستائی‌علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۲). مصرف عصاره‌ی سرخارگل در مرغ تخم‌گذار و خوک سبب افزایش تعداد لنفوسیت‌ها و لکوسیت‌ها شده و هم‌چنین فعالیت فاگوسیتوزی گرانولوسیت‌ها را افزایش می‌دهد (Bohmer et al. 2009). مصرف عصاره‌ی سرخارگل در موش‌ها سبب افزایش میزان اینترلوکین ۲ و اینترفرون گاما در واکنش نسبت به کونکاناوالین A شده است (Bodinet et al. 2002). مطالعات نشان داده است که عصاره‌ی سرخارگل فعالیت تکثیری لنفوسیت‌های B و T انسانی را در واکنش به کونکاناوالین A، فیتوهماگلوتینین P و PWM[1] تحت تأثیر قرار می‌دهد (Chaves et al. 2007). هم‌چنین مصرف عصاره‌ی سرخارگل در موش سبب افزایش آزادسازی سیتوکاین‌ها از ماکروفاژهای موجود در خون، افزایش تولید سلول‌های T کمکی و اینترفرون گاما (Mishima et al. 2004)، افزایش تکثیر لنفوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها (Bany et al. 2003) می‌شود. اسید شیکوریک، آلکامیدها و پلی‌ساکاریدهای گیاه سرخارگل سبب افزایش توانایی ماکروفاژها و نوتوفیل‌ها در انجام فاگوسیتوز تحریک سیستم ایمنی می‌شوند (Bohmer et al. 2009). از طرفی، مطالعات نشان داده است که مصرف سیکلوسپورین به عنوان یک عامل سرکوب ایمنی و استرس در زمان آلودگی طیور به ویروس گامبورو (Poonia and Charan 2001)، *مایکوپلاسما گالی سپتیکوم* (Ganapathy and Bradbury 2003)، ویروس برونشیت (Raj and Jones 1997)، رئوویروس (Hill et al. 1989)، کوکسیدیا (Lillehoj 1987)، کوروناویروس (Loa et al. 2002)، از طریق کاهش پاسخ لنفوسیت‌های T، سبب کاهش پاسخ‌های ایمنی در زمان عفونت می‌شود. سیکلوسپورین سبب مسدود کردن رونویسی از ژن اینترلوکین ۲ (Nowak et al. 1982)، کاهش بیان اینترفرون گاما (Thomson and Webster 1988)، مهار ترشح سایتوکین توسط سلول‌های T و دندریتیک (Lagos et al. 2010)، مهار روند G_0-G_1[2] در لنفوسیت‌ها و تغییر بیان گیرنده‌های غشایی در سلول‌های T کمکی (Miroux et al. 2009, Hudnall 1991)، اختلال در تولید فاکتور نکروز کننده

1- Pokeweed Mitogen

۲- مراحل چرخه تقسیم سلولی میتوز

تومور (Espevik et al. 1987)، کاهش تولید CD_4 (Russell et al. 1997) می‌شود و بدین ترتیب اثر منفی بر عملکرد و تکثیر سلول‌های T خواهد گذاشت (Pantin-Jackwood et al. 2004). بنابراین عصاره‌ی سرخارگل، احتمالاً با تحریک و فعال‌سازی بخش‌های مختلف سیستم ایمنی سلولی قادر است در هر دو شرایط معمول و سرکوب سیستم ایمنی، شدت پاسخ‌های ایمنی سلولی جوجه‌های گوشتی را افزایش دهد.

نتایج نشان داد عصاره‌ی سرخارگل سبب تحریک پاسخ‌های هومورال بر ضد آنتی ژن‌های SRBC شده و آثار ممانعت کننده‌ی سیکلوسپورین روی سیستم ایمنی هومورال را خنثی کرده است. مشخص شده است که عصاره‌ی سرخارگل سبب افزایش معنی‌دار عیار پادتن ضد واکسن نیوکاسل در مرغان تخم‌گذار (Bohmer et al. 2009)، عیار پادتن ضد SRBC در جوجه‌های گوشتی (روستائی‌علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۲، Nasir 2008) و افزایش عیار پادتن ضد واکسن گامبورو در جوجه‌های گوشتی از طریق افزایش تولید اینترلوکین ۲ و فاکتور نکروز کننده تومور می‌شود (Ma et al. 2009). هم‌چنین آن عیار پادتن ضد واکسن آنفلولانزا را در جوجه‌های گوشتی (Najafzadeh et al. 2011) افزایش می‌دهد. افزودن ۰/۱٪ و ۰/۵٪ پودر ریشه‌ی گیاه سرخارگل در جوجه‌های آلوده با کوکسیدیا، باعث توسعه‌ی پاسخ‌های سیستم ایمنی آن‌ها شده است (Allen 2003). مطالعات نشان داده است که سیکلوسپورین، اگرچه اثری بر تولید IgM ندارد، ولی می‌تواند سبب کاهش عیار IgG علیه SRBC، گاماگلوبولین انسانی و بروسلا آبورتوس در جوجه‌های گوشتی (Kai and Franklin 1983, Nowak et al. 1982)، کاهش عیار IgG ضد SRBC در اردک وحشی (Schrank et al. 1990)، کاهش عیار IgG ضد ویروس تورم دهان وزیکولی (Charan et al. 1986) و آنتی‌ژن گاماگلوبولین انسانی در موش (Kai and Franklin 1983)، کاهش عیار IgG ضد آنفلوانزا در میمون (Azimzadeh et al. 2010) و کاهش عیار IgG ضد کنه اکسودس رسینوس در خرگوش (Girardin and Brossard 1989) شود. مشخص شده است که سیکلوسپورین با اثر بر سلول‌های T کمکی، تولید و ترشح اینترلوکین ۲ را مهار کرده و بدین طریق به طور غیرمستقیم در تولید IgG اثر می‌گذارد (Charan et al. 1986, Schrank et al. 1990). بنابراین، عصاره‌ی سرخارگل احتمالاً از طریق تحریک پاسخ‌های ایمنی سلولی می‌توانند به عنوان یک محرک قوی ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی عمل کند و در شرایط استرس سرکوب ایمنی اثر قابل توجهی در تحریک پاسخ‌های ایمنی داشته باشد.

نتایج تجزیه‌ی لاشه نشان داد عصاره‌ی سرخارگل و سیکلوسپورین، به ترتیب سبب افزایش و کاهش درصد وزنی بورس و تیموس شده‌اند. افزودن عصاره‌ی سرخارگل به کشت لمفوسیت‌های B و T در آزمایشگاه سبب تکثیر این سلول‌ها می‌شود (Bany et al. 2003, Najafzadeh et al. 2011). بورس فابریسیوس و تیموس محل تمایز سلول‌های B و T ایمنی در جوجه‌های گوشتی است. مصرف عصاره‌ی سرخارگل باعث افزایش درصد وزنی بورس و تیموس در جوجه‌های گوشتی (روستائی-علی‌مهر و همکاران ۱۳۹۲، Nasir 2008) شده است. از طرفی مشخص شده است که سیکلوسپورین در جوجه-های گوشتی سبب آتروفی بورس (Poonia and Charan 2001) و نکروز سلول‌های تیموس (Kai and Franklin 1983, Ryffel et al. 1981) و کاهش وزن تیموس (Nowak et al. 1982) می‌شود. مصرف سیکلوسپورین در موش صحرایی سبب کاهش ضخامت بخش مرکزی تیموس می‌گردد (Kai and Franklin 1983). هم‌چنین مصرف سایر سرکوب کننده‌های ایمنی مشابه سیکلوسپورین مانند سیکلوفسفامید در اردک‌ها نیز، سبب کاهش قابل توجه وزن ارگان‌های لنفوئیدی شده است (Hashimoto and Sugimura 1976). بنابراین، احتمالاً سیکلوسپورین از طریق مهار سلول‌های ایمنی در بورس فابریسیوس و تیموس سبب سرکوب سیستم ایمنی در

جوجه‌های گوشتی می‌شود. مصرف عصاره‌ی سرخارگل اثر ممانعت کننده‌ی سیکلوسپورین را بر تیموس و بورس فابریسیوس کاهش می‌دهد و حتی در حضور سیکلوسپورین مقدار ۲/۵ ٪ عصاره اثر تحریک کننده بر بافت‌های ایمنی دارد.

نتیجه‌گیری کلی

افزودن مقدار ۱ میلی‌لیتر عصاره‌ی سرخارگل در هر لیتر آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی ضمن بهبود ضریب تبدیل خوراک سبب تحریک پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال می‌شود، ولی در شرایط تضعیف ایمنی مقدار ۲/۵میلی‌لیتر عصاره در هر لیتر آب آشامیدنی قادر است شدت پاسخ‌های ایمنی را افزایش دهد. بنابراین، برای بهبود عملکرد سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط معمول افزودن مقدار ۱ میلی‌لیتر عصاره‌ی سرخارگل در هر لیتر آب آشامیدنی و در شرایط استرس مقدار ۲/۵ میلی-لیتر سرخارگل در هر لیتر آب آشامیدنی توصیه می‌شود.

منابع

روستائی‌علی‌مهر، محمد؛ منصوری، بهاره و حقیقیان-رودسری، محمود (۱۳۹۱). اثر هیدروکلراید لوامیزول آشامیدنی بر پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال در جوجه‌های گوشتی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره‌ی ۶۷، شماره‌ی ۳، صفحات ۲۴۱- ۲۳۵.

روستائی‌علی‌مهر، محمد؛ قهرمانی‌زهرائی، باهره و حقیقیان‌رودسری، محمود (۱۳۹۲). اثر عصاره‌ی گیاه سرخارگل (Echinacea purpurea) بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال جوجه‌های گوشتی. مجله‌ی دامپزشکی ایران، شماره‌ی ۳۸، صفحات ۶۰- ۷۰.

Allen, P.C. (2003). Dietary supplemention with Echinacea and development of immunity to challenge infection with coccidian. Parasitology research, 91: 74 -78.

Azimzadeh, A.; Schroeder, C.; Zhang, T.; Ramirez-Medina, K.; Avon, C.; Pasetti, M. et al. (2010). Modulation of influenza-specific humoral recall responses by CD154 blockade and cyclosporine A. The Journal of immunology, 184: 28.

Bany, J.; Siwicki, A.K.; Zdanowska, D.; Sokolnicka, I.; Skopinska-Rozewska, E. and Kowalczyk, M. (2003). *Echinacea purpurea* stimulates cellular immunity and anti-bacterial defence independently of the strain of mice. Polish Journal of Veterinary Science, 6(3): 3-5.

Bodinet, C.; Lindequist, U.; Teuscher, E. and Freudenstein, J. (2002). Effect of an orally applied herbal immunomodulator on cytokine induction and antibody response in normal and immunosuppressed mice. Phytomedicine, 9(7): 603-613.

Bohmer, B.; Salisch, H.; Paulicks, B.R. and Roth, F.X. (2009). Echinacea purpurea as a potential immuno-stimulatory feed additive in laying hens and fattening pigs by intermittent application. Livestock Science, 122(1): 81-85.

Charan, S.; Huegin, A.W.; Cerny, A.; Hengartner, H. and Zinkernagel, R.M. (1986). Effects of cyclosporin A on humoral immune response and resistance against vesicular stomatitis virus in mice. Journal of Virology, 57(3) :1139-1144.

Chaves, F.; Chacón, M.; Badilla, B. and Arévalo, C. (2007). Effect of *Echinacea purpurea* (Asteraceae) aqueous extract on antibody response to Bothrops asper venom and immune cell response. Revista de Biologia Tropical, 55(1): 113-119.

Espevik, T.; Figari, I.S.; Shalaby, M.F.; Lackides, G.A.; Lewis, G.D.; Shepard, H.M. et al. (1987). Inhibition of cytokine production by cyclosporin A and transforming growth factor beta. The Journal of Experimental Medicine, 166(2): 571-576.

Fusco, D.; Liu, X.; Savage, C.; Taur, Y.; Xiao, W.; Kennelly, E. et al. (2010). *Echinacea purpurea* aerial extract alters course of influenza infection in mice. Vaccine, 28(23):3956-3962.

Ganapathy, K. and Bradbury, J.M. (2003). Effects of cyclosporin A on the immune responses and pathogenesis of a virulent strain of Mycoplasma gallisepticum in chickens. Avian Pathology, 32(5): 495-502.

Girardin, P. and Brossard, M. (1989). Effects of cyclosporin A on humoral immunity to ticks and on cutaneous immediate and delayed hypersensitivity reactions to *Ixodes ricinus* L. salivary-gland antigens in re-infested rabbits. Parasitology Research, 75(8): 657-662.

Girgis, G.N. and Smith, T.K. (2010). Comparative aspects of Fusarium mycotoxicoses in poultry fed diets containing naturally contaminated grains. Worlds Poultry Science Journal, 66(1): 65-86.

Goel, V.; Chang, C.; Slama, J.V.; Barton, R.; Bauer, R.; Gahler, R. et al. (2001). Alkylamides of *Echinacea purpurea* stimulate alveolar macrophages function in normal rats. International Journal of Immunopharmacology, 2(2-3):381-387.

Grasman, K.A. (2010). Immunotoxicity testing methods and protocols. Springer, London, pp: 387-397.

Hashimoto, Y. and Sugimura, M. (1976). Effects of early cyclophosphamide treatment on lymphoid organs and its immune response in ducks. Poultry Science, 55(4): 1441-1449.

Hedia, S.; Kamel, K.L.; Sabeiy, M.E. and Zeitouny, M.H. (2008). Effect of Echinacea extract supplementation on growth performance and hemobiochemical traits of growing rabbits. Egypt Poultry Science, 28(4): 1165-1180.

Hill, J.E.; Rowland, G.N.; Latimer, K.S. and Brown, J. (1989). Effects of cyclosporine A on reovirus-infected broilers. Avian Disease, 33(1):86-92.

Hudnall, S.D. (1991). Cyclosporine A renders target cells resistant to immune cytolysis. Europen Journal of Immunology, 21(1): 221-226.

Kai, O. and Franklin, R.M. (1983). Effects of cyclosporine A on mouse lymphoid tissues. The British Journal of Experimental Pathology, 64(5): 534-541.

Koreleski, J. and Swiatkiewicz, S. (2007). Effect of coneflower, thyme and sage extracts in the diet on changes in chicken white meat quality during storage. Poultry Journal Food Nutrition Science, 57(4B): 303-307.

Lagos, K.P.; Michea, P.; Sauma, D.; Alba, A.; Morales, J.; Bona, M.R. et al. (2010). Cyclosporin A-treated dendritic cells may affect the outcome of organ transplantation by decreasing CD4+CD25+ regulatory T cell proliferation. Biological Research, 43(3): 333-337.

Lillehoj, H.S. (1987). Effects of immunosuppression on avian coccidiosis: cyclosporin A but not hormonal bursectomy abrogates host protective immunity. Infection and Immunity, 55 (7): 1616-1621.

Loa, C.C.; Lin, T.L.; Wu, C.C.; Bryan, T.; Hooper, T. and Schrader, D. (2002). The effect of immnnosuppression on protective immunity of tnrkey poults against infection with turkey coronavirus. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 25: 127-138.

Luo, X.B.; Chen, B.O.; Yao, S.Z. and Zeng, J.G. (2003). Simultaneous analysis of caffeic acid derivatives and alkamides in roots and extracts of *Echinacea purpurea* by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection–electrospray mass spectrometry. Journal of Chromatography A,986(1): 73-81.

Ma, A.; Shi, W.; Niu, X.; Wang, M. and Zhong, X. (2009). Effects of *Echinacea purpurea* extract on the immunological response to infectious bursal disease vaccine in broilers. Frontiers of Agriculture in China, 3(4): 452-6.

Maier, D.A.; Bohmer, B.; Maab, N.; Damme, K. and Paulicks, B.R. (2008). Efficiency of *Echinacea purpurea* on performance of broilers and layers. Archiv for Geflügelkundl, 69(3): 227-236.

Massa, N.; Bauer, J.; Paulicks, B.R.; Bohmer, B.M. and Roth-Maier, D.A. (2005). Efficiency of *Echinacea purpurea* on performance and immune status in pigs. Journal Animal Physiology and Animal Nutrition, 89(7-8): 244-252.

Miroux, C.; Morales, O.; Carpentier, A.; Dharancy, S.; Conti, F.; Boleslowski, E. et al. (2009). Inhibitory effects of cyclosporine on human regulatory T cells in vitro. Transplantation Proceedings, 41(8): 3371-3374.

Mishima, S.; Saito, K.; Maruyama, H.; Inoue, M.; Yamashita, T.; Ishida, T. et al. (2004). Antioxidant and immuno-enhancing effects of Echinacea purpurea. Biology Pharmacology Bulletin, 1004-1009.

Najafzadeh, H.; Ghorbanpour, M.; Mayahi, M. and Gavzan, H. (2011). Effect of *Echinacea purpurea* on antibody production against fowl influenza vaccine. Journal of Applied Animal Research, 39(2): 139-141.

Nasir, Z. (2008). Comparison effects of *Echinacea purpurea* juices and *Nigella sativa* seeds on performance, some blood parameters, carcass and meat quality of broilers. Ph. D. thesis, Institute of Animal Breeding and Husbandry University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.

Nowak, J.S.; Kai, O.; Peck, R. and Franklin, R.M. (1982). The effects of cyclosporin A on the chicken immune system. European Journal of Immunology, 12(10): 867–876.

Pantin-Jackwood, M.J.; Brown, T.P.; Kim, Y. and Huff, G.R. (2004). Proventriculitis in broiler chickens: effects of immunosuppression. Avian Diseases. 48: 300-316.

Poonia, B. and Charan, S. (2001). T-Cell suppression by cyclosporin-A enhances infectious bursal disease virus infection in experimentally infected chickens. Avian Pathology, 30(4): 311–319.

Raj, G.D. and Jones, R.C. (1997). Effect of T-cell suppression by cyclosporin on primary and persistent infections of infectious bronchitis virus in chickens. Avian Pathology, 26(2):257-276.

Recoquillay, F. (2006). Active plant extracts show promise in poultry production. Poultry International, 45(2): 28-31.

Russell, P.H.; Dwivedi, P.N. and Davison, T.F. (1997). The effects of cyclosporin A and cyclophosphamide on the populations of B and T cells and virus in the Harderian gland of chickens vaccinated with the Hitchner B1 strain of Newcastle disease virus. Veterinary Immunology and Immunopathology, 60(1-2): 171-185.

Ryffel, B.; Deyssenroth, H. and Borel, J.F. (1981). Cyclosporin A: effects on the mouse thymus. Agents Actions, 11(4): 373-379.

Schrank, C.S.; CooK, M.E. and Hansen, W.R. (1990). Immune response of mallard ducks treated with immuno-suppressive agents: antibody response to erythrocytes and in vivo response to phytohemagglutinin-P. Journal of Wildlife Diseases, 26(3):307-315.

Shini, S.; Huff, G.R.; Shini, A. and Kaiser, P. (2010). Understanding stress-induced immunosuppression: exploration of cytokine and chemokine gene profiles in chicken peripheral leukocytes. Poultry Science, 89(4) :841–851.

Thomson, A.W. and Webster, L.M. (1988). The influence of cyclosporin A on cell-mediated immunity (Review). Clinical and Experimental Immunology, 71(3): 369-376.

Effect of purple coneflower (*Echinacea purpurea*) extract on the performance and cellular and humoral immune responses of broilers under immunosuppressive condition

Roostaei-Ali Mehr, M.[1]; Mirbazel, M.[2] and Haghighian-Roudsari, M.[3]

Received: 27.10.2012 Accepted: 16.06.2013

Abstract

The experiment was conducted by using of 240 chicks to determine the effect of purple coneflower extract on the performance and immune responses under immunosuppressive condition. The extract of purple coneflower was added in the levels of 0 (E_0), 1 (E_1) and 2.5 ml ($E_{2.5}$) to drinking water from 6 to 42 d. At 14, 15, 16, 34, 36, 38 and 40 d in each level of purple coneflower, half of chicks were treated by 9.9 mg/kg oral cyclosporine (C_+) and other chicks were not treated (C-). The treatments were E_0C_-, E_0C_+, E_1C_-, E_1C_+, $E_{2.5}C_-$, $E_{2.5}C_+$. Cellular immune responses were assayed by injection of 0.1 ml Phytohaemagglutinin-P (PHA-P) (0.2 mg/ml) in the skin fold of wings at 16 d and thickness of skin were measured after 24 and 48h. To investigate humoral immune responses a 25% SRBC suspension (0.1 ml) were injected in the breast muscle at 33 d and titers IgG and IgM anti SRBC was determined by haemagglutination test at 34, 36, 38 and 40 d. Results indicated that the feed conversion ratio was lower for 1 ml (1.49) purple coneflower than control (1.62) purple coneflower ($P<0.05$). Total and IgG titer against SRBC at 39 and 42 d and also cellular immune responses was higher in $E_{2.5}C_+$ than E_0C_+ and E_1C_+ but it was lower than E_1C_- and $E_{2.5}C_-$ ($P<0.05$). Therefore, adding 2.5ml/l purple coneflower extract to drinking water improve cellular and humoral immune responses under immunosuppressive condition.

Kay words: Purple coneflower extract, cyclosporine, Cellular and humoral immune response, Performance, Broiler

1- Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan
2- MSc. Student of Animal Science from Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan
3- Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan
Corresponding Author: Roostaei-Ali Mehr, M., E-mail: roostaei@guilan.ac.ir