14(3) 171-178, Autumn 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The effect of peppermint powder, essential oil and menthol on morphology, microbial population of the intestine and some blood parameters of Japanese quails under stress with aflatoxin B_1

*Ladan Masouri [1], Farzad Bagherzadeh Kasmani [*1], Mehran Mehri [1], Mohammad Rokuee [1], Babak Masouri [2]*

[1] *Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran*
[2] *Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Lorestan, Khorramabad, Iran*

Key Words
Aflatoxin
Intestinal villus
White blood cells
Lactobacillus
Peppermint

Abstract

Introduction: Detoxification of contaminated poultry feed is an important way to reduce aflatoxin contamination in the human food chain. Peppermint has the ability to inhibit the growth of *Aspergillus flavus* as well as control of aflatoxin B_1.

Materials & Methods: In this study 640 seven-day-old Japanese quail were assigned in a completely randomized design as 2×4 factorial arrangement with two levels of aflatoxin (0 and 2.5 mg/kg diet) and four additives (no additive; peppermint powder, 20 g/kg; peppermint essential oil, 800 mg/kg and menthol powder, 400 mg/kg of diet) in 8 treatments with 5 replications and 16 birds each.

Results: Villus height was significantly higher in quails fed with essential oil and peppermint powder and aflatoxin-free treatments ($P<0.05$). Without additive-with aflatoxin treatment showed lower lactic acid bacteria population compared to treatments with aflatoxin along with additives ($P<0.05$). Menthol and essential oil in birds fed with aflatoxin treatments significantly increased red blood cell and white blood cell counts, respectively ($P<0.05$). Quails fed with treatment without additives and containing aflatoxin had the highest amount of cholesterol and LDL ($P<0.05$).

Conclusion: According to the results of this study, peppermint powder at the level of 20 g/kg of feed, as well as its essential oil and menthol can be used to reduce the negative effects of aflatoxin on absorptive capacity and beneficial microbiota of intestine and blood parameters of growing Japanese quail.

* Corresponding Author's email: fbkasmani@uoz.ac.ir
Received: 26 June 2021; Reviewed: 30 July 2021; Revised: 2 October 2021; Accepted: 2 November 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.301783.2621

مقاله پژوهشی

تاثیر پودر، اسانس و منتول گیاه نعناع بر مورفولوژی، جمعیت میکروبی روده و برخی فراسنجه‌های خونی بلدرچین‌های ژاپنی تحت تنش با آفلاتوکسین B_1

لادن ماسوری[۱]، فرزاد باقرزاده کاسمانی*[۱]، مهران مهری[۱]، محمد رکوعی[۱]، بابک ماسوری[۲]

[۱] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[۲] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

کلمات کلیدی

آفلاتوکسین
پرز روده
گلبول سفید
لاکتوباسیلوس
نعناع

چکیده

مقدمه: سم‌زدایی خوراک‌های آلوده طیور یک‌روش مهم در کاهش آلودگی به آفلاتوکسین‌ها در زنجیره‌غذایی انسان است. نعناع قابلیت مهار رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس و هم‌چنین کنترل آفلاتوکسین B_1 را دارد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ٦٤۰ قطعه بلدرچین ژاپنی هفت روزه در یک طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ٤×۲ با دو سطح آفلاتوکسین (صفر و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک) و چهار سطح افزودنی (بدون افزودنی، اسانس نعناع ۸۰۰ میلی گرم، پودر نعناع ۲۰ گرم و منتول ٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک) در ۸ تیمار، ٤ تکرار و ۲۰ پرنده در هر تکرار اختصاص داده شد.

نتایج: ارتفاع پرز در بلدرچین‌هایی که با تیمارهای حاوی اسانس و پودر نعناع و بدون آفلاتوکسین تغذیه شده بودند به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). تیمار بدون افزودنی و دارای آفلاتوکسین در مقایسه با تیمارهای دریافت‌کننده آفلاتوکسین به‌همراه افزودنی، جمعیت لاکتوباسیلی کم‌تری در ایلئوم داشتند ($P<۰/۰۵$). منتول و اسانس نعناع در پرندگان تغذیه شده با تیمارهای حاوی آفلاتوکسین به‌ترتیب مقدار گلبول قرمز و گلبول سفید را به‌طورمعنی‌داری افزایش دادند ($P<۰/۰۵$). بلدرچین‌های تغذیه شده با تیمار بدون افزودنی و حاوی آفلاتوکسین بالاترین مقدار کلسترول و LDL را داشتند ($P<۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، می‌توان از پودر نعناع در سطح ۲۰ گرم بر کیلوگرم خوراک، هم‌چنین اسانس و منتول آن در جهت کاهش اثرات منفی آفلاتوکسین بر سطح جذبی و جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید روده هم‌چنین فراسنجه‌های خونی بلدرچین‌های ژاپنی در حال رشد استفاده نمود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: fbkasmani@uoz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۵ تیر ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۸ مرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۱۰ مهر ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۱ آبان ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.301783.2621

مقدمه

آفلاتوکسین عمدتاً توسط قارچ‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* تولید می‌شود. قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* روی سطح وسیعی از محصولات کشاورزی و مواد غذایی رشد کرده و با تولید سم آفلاتوکسین موجب آلودگی و سمی شدن آن‌ها می‌شود (۱). اثرات منفی آفلاتوکسین بر دستگاه گوارش و فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی بلدرچین ژاپنی گزارش شده است (۲، ۳). آلودگی خوراک به آفلاتوکسین باعث اثرات مضر بر عملکرد رشد و فراسنجه‌های خونی در بلدرچین‌های ژاپنی می‌گردد (۴). به‌دلیل اجتناب‌ناپذیری آلودگی غذاها و مواد خوراکی با سموم مایکوتوکسینی، استراتژی‌های مختلفی نظیر روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی جهت سم‌زدایی و پیشگیری از مسمومیت با آن‌ها ارائه شده است (۵). آفلاتوکسین B_1 به‌دلیل داشتن خواص سرطان‌زایی در انسان و گستردگی حضور آن در مواد غذایی، یکی از مهم‌ترین مایکوتوکسین‌های مورد مطالعه در سراسر جهان می‌باشد (۶). با توجه به محدودیت‌های روش‌های سم‌زدایی فیزیکی و شیمیایی نظیر کاهش کیفیت و خواص تغذیه‌ای محصول، اثرات نامطلوب روی سلامت انسان و محیط زیست و گرانی تجهیزات مورد نیاز، توجه محققین به سمت روش‌های بیولوژیکی سوق داده شده است (۷). به‌تازگی توجه زیادی به استفاده از ترکیبات بیولوژیکی فعال طبیعی مشتق شده از گیاهان دارویی جهت کنترل آفلاتوکسین شده است (۸). در حال حاضر در صنعت طیور استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک و عوامل تقویت‌کننده رشد مورد توجه قرار گرفته است و در میان طیف وسیعی از گیاهان دارویی، خانواده لامیاسه که حاوی روغن‌های ضروری با اثرات فیزیولوژیکی متنوع می‌باشند، مورد توجه خاصی قرار گرفته است (۹). نعناع جز خانواده لامیاسه می‌باشد که متابولیت‌های ثانویه موجود در آن اثرات مثبتی در سلامت و بهره‌وری دام دارند (۹). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که برگ‌های نعناع، اسانس و منتول موجود در آن اثرات ضد باکتریایی بر روی باکتری‌های بیماری‌زا، خواص ضدویروسی و فعالیت‌های ضدقارچی دارند (۱۰). نعناع اگرچه به‌عنوان طعم‌دهنده در غذاها استفاده می‌شود، اما بیش‌تر به‌دلیل دارا بودن ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی در دنیا شناخته شده است (۱۱). تاکنون مطالعه‌ای که نشان‌دهنده اثر نعناع به‌عنوان یک گیاه دارویی بر میکروب‌ها و مرفولوژی روده و فراسنجه‌های خونی بلدرچین‌های ژاپنی تحت آفلاتوکسیکوزیس باشد، وجود ندارد. بر این اساس، مطالعه حاضر در جهت بررسی اثر پودر، اسانس و منتول گیاه نعناع بر جمعیت میکروبی، مرفولوژی روده و برخی فراسنجه‌های خونی بلدرچین‌های ژاپنی تحت آفلاتوکسیکوزیس انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرندگان و طرح آزمایشی: در مجموع ۶۴۰ بلدرچین هفت روزه ژاپنی در یک طرح کاملاً تصادفی به‌صورت آرایش فاکتوریل ۴×۲ با دو سطح آفلاتوکسین B_1 (۰ و ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره) و چهار سطح افزودنی (بدون افزودنی، ۲۰ گرم بر کیلوگرم پودر نعناع، ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس نعناع و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پودر منتول) قرار گرفتند. سطح اسانس و منتول براساس مقدار آن در ۲۰ گرم نعناع تعیین شد. جیره غذایی پایه با استفاده از موادی مانند ذرت، کنجاله سویا، کنجاله گلوتن ذرت، برنج و سایر ترکیبات خوراکی برای تامین نیازهای غذایی بلدرچین‌های ژاپنی با توجه به توصیه‌های انجمن ملی تحقیقات تهیه شد (۱۲) (جدول ۱).

مراحل آماده‌سازی برگ نعناع، اسانس نعناع و منتول: برگ‌های تازه نعناع از مزرعه گیاهان دارویی در شهرستان ازنا در استان لرستان به‌دست آمد. برگ‌های تازه نعناع در دمای محیط (۲۸ درجه سانتی‌گراد) در یک اتاق تاریک با رطوبت ۴۰٪ خشک شدند. میزان رطوبت نمونه‌های خشک شده (در ۴ تکرار) با استفاده از آون آزمایشگاهی در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد و میزان رطوبت نهایی ۱۰٪ بود (۱۳). اسانس نعناع با استفاده از دستگاه کلونجر (مدل ۸۵۰۰۰-۱۰) استخراج شد. پودر ۱۰۰ گرم از گیاه نعناع به‌داخل بالن انتقال داده شد. سپس تا نصف بالن آب مقطر اضافه و دستگاه کلونجر روی بالن نصب و با گیره ثابت شد. لوله لاستیکی سردکن (مبرد) دستگاه را به آب وصل نموده و اجاق گاز شد. پس از مدتی آب به‌جوش آمد و بخار آب به سمت سردکن حرکت کرد. اسانس در سردکن به‌صورت مایع درآمد و در لوله عمودی دستگاه جمع شد. بلورهای منتول از شرکت گرین هلث (Green Health) آمریکا تهیه شد.

تولید آفلاتوکسین: آفلاتوکسین از کشت *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* (PTCC-5286) تهیه شده از سازمان پژوهش‌های صنعتی ایران از طریق تخمیر دانه‌های برنج به‌روش Shotwell و همکاران تولید شد (۱۴). پس از اندازه‌گیری میزان سم به‌روش HPLC (کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا)، پودر برنج آلوده برای تامین ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 در رژیم غذایی پایه گنجانده شد.

ریخت‌شناسی روده باریک: در روز ۳۵ آزمایش، یک پرنده با وزن نزدیک به میانگین هر پن انتخاب و کشتار شد. به‌منظور بررسی مورفولوژی روده کوچک ۳ سانتی‌متر از ناحیه ایلیوم جدا نموده و با تزریق سرم فیزیولوژیکی کلرید سدیم دو بار شستشو و با پارافین تثبیت شد. نمونه‌ها به‌روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شده و اسلایدها در زیر میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتال (Olympus DP79, Japan) بررسی و عکس‌های به‌دست آمده توسط نرم‌افزار (Image

J analysis software v 1.47j Bethesda, MD, USA) به‌منظور تعیین ارتفاع پرز، عرض پرز و عمق کریپت تجزیه و تحلیل شدند (۱۵).

جدول ۱: مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره پایه

مواد خوراکی	مقدار در جیره (درصد)
ذرت	۴۹/۴۷
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین)	۲۹/۳۴
گلوتن	۱۰/۰۰
برنج[1]	۶/۲۵
روغن گیاهی	۰/۶۰
دی‌کلسیم‌فسفات	۰/۹۹
پودر صدف	۱/۴۲
ال- لیزین هیدروکلراید	۰/۳۵
بی‌کربنات سدیم	۰/۶۲
مکمل ویتامینه[2]	۰/۲۵
مکمل معدنی[3]	۰/۲۵
نمک	۰/۰۸
دی‌ال- متیونین	۰/۲۸
ال- ترئونین	۰/۱۰
آنالیز ترکیب شیمیایی	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۵۰
پروتئین خام (درصد)	۲۵/۴۹
لیزین (درصد)	۱/۳۶
متیونین+ سیستین (درصد)	۱/۱۰
کلسیم (درصد)	۰/۸۵
فسفر غیرفیتاته (درصد)	۰/۳۵
ترئونین (درصد)	۱/۰۱
سدیم (درصد)	۰/۲۳
پتاسیم (درصد)	۰/۷۷
کلر (درصد)	۰/۱۶
تعادل کاتیون-آنیون (میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم)	۲۵۰

[1] در تیمارهای دارای آفلاتوکسین، از برنج آلوده شده به آفلاتوکسین B_1 استفاده شد. [2] مکمل ویتامینه این موارد در هرکیلوگرم جیره تأمین نمود: ویتامین A (از vitamin A acetate)، ۱۱۵۰۰ IU؛ کوله کلسیفرول، ۲۱۰۰ IU؛ ویتامین E (از DL-α-alpha- tocopheryl acetate)، ۲۲ IU؛ ویتامین B_{12}، ۰/۶۰ mg؛ ریبوفلاوین، ۴/۴ mg؛ نیکوتین‌آمید، ۴۰ mg؛ کلسیم پنتوتنات، ۳۵ mg؛ منادیون (منادیون دی‌متیل پیریمیدینول)، ۱/۵۰ mg؛ فولیک اسید، ۰/۸۰ mg؛ تیامین، ۳ mg؛ پیریدوکسین، ۱۰ mg؛ بیوتین، ۱ mg؛ کولین کلراید، ۵۶۰ mg؛ اتوکسی‌کوئین، ۱۲۵ mg. [3] مکمل معدنی این موارد را در هر کیلوگرم جیره تأمین نمود: منگنز (از $MnSo_4.H_2O$)، ۶۵ mg؛ روی (از ZnO)، ۵۵ mg؛ آهن (از $FeSo_4.7H_2O$)، ۵۰ mg؛ مس (از $CuSO_4.5H_2O$)، ۸ mg؛ ید [از $Ca(IO_3)_2.H_2O$]، ۱/۸ mg؛ سلنیم، ۰/۳۰ mg؛ کبالت (Co_2O_3)، ۰/۲۰ mg؛ مولیبدن، ۰/۱۶ mg.

جمعیت میکروبی روده: محتویات موجود در ایلئوم دو پرنده در هر تکرار به‌طور جداگانه در لوله‌های استریل برای رقت‌های متفاوت جمع‌آوری شد. براساس روش Ghazaghi و همکاران (۱۶) یک گرم از نمونه ایلئوم به لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات استریل شده اضافه و محلول بافر شده به آزمایشگاه میکروبی منتقل گردید. محیط‌های کشت مک‌کانکی آگار (لیوفیلکم، ایتالیا)، ام‌آرس آگار (لیوفیلکم، ایتالیا) و پلیت‌کانت‌آگار (لیوفیلکم، ایتالیا) به‌ترتیب برای شمارش باکتری‌های کلی‌فرم، اسیدلاکتیک و کل جمعیت باکتریایی، طبق دستورالعمل کارخانه سازنده آماده شدند. پس از آماده‌سازی لوله‌های سری رقت، ۲۰ میکرولیتر نمونه از لوله‌های با رقت 10^{-4} و 10^{-6} به پتری‌دیش‌های مربوطه منتقل سپس پتری‌دیش‌ها به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری و پس از آن کلنی‌های رشدیافته شمارش شدند.

فراسنجه‌های خونی: جهت ارزیابی الگوی فراسنجه‌های خون، در روز ۳۵ آزمایش از هر تکرار دو پرنده انتخاب و عمل خونگیری از ورید بال انجام و نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی هپارین جمع‌آوری و جداسازی سرم انجام شد (۱۰ دقیقه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰). خون حاصله از لحاظ مقدار LDL، HDL و کلسترول به‌کمک کیت‌های تجاری پارس آزمون مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری تعداد گلبول‌های قرمز، خون حاوی هپارین توسط ملانژور با محلول سیترات فرمل استاندارد رقیق و سپس یک قطره از محلول در مرکز لام هماسیتومتر شمارش ریخته و عمل شمارش انجام شد. برای اندازه‌گیری گلبول سفید، خون حاوی هپارین توسط ملانژور با محلول ناتان هریگ رقیق و سپس یک قطره از محلول در مرکز لام هماسیتومتر ریخته و عمل شمارش انجام شد. هموگلوبین به‌روش رنگ‌سنجی و هماتوکریت به‌روش میکروهماتوکریت با دستگاه میکرو هماتوکریت هتیچ ساخت انگلستان اندازه‌گیری شدند.

آنالیز آماری: داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۲۰۰۲ تجزیه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح معنی‌داری $P<0/05$ انجام شد.

نتایج

اثرات اصلی تاثیر آفلاتوکسین و افزودنی‌های مختلف بر مورفولوژی ایلئوم روده کوچک بلدرچین‌های ژاپنی در حال رشد در جدول ۲ نشان داده شده است. ارتفاع و عرض پرز، عمق کریپت و نسبت ارتفاع به عرض و ارتفاع به عمق در اثر مصرف آفلاتوکسین کاهش یافت ($P<0/05$). بلدرچین‌های دریافت‌کننده پودر و اسانس نعناع ارتفاع و عرض پرز بیش‌تری نسبت به پرندگان دریافت کننده جیره فاقد افزودنی داشتند ($P<0/05$). تیمار حاوی منتول نسبت ارتفاع به عرض و ارتفاع به عمق بالاتری را موجب شد ($P<0/05$). همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، بلدرچین‌های تغذیه شده با تیمارهای حاوی پودر نعناع، اسانس نعناع و فاقد آفلاتوکسین ارتفاع پرز بیش‌تری نسبت به تیمارهای دارای آفلاتوکسین داشتند ($P<0/05$). عرض پرز در بلدرچین‌های تغذیه شده با تیمارهای بدون افزودنی و دارای آفلاتوکسین کم‌تر از تیمارهای دیگر بود ($P<0/05$). عمق کریپت در بلدرچین‌های تغذیه شده با تیمار حاوی اسانس نعناع و بدون آفلاتوکسین بیش‌تر از تیمارهای دیگر بود ($P<0/05$). اثر هورمسیس

(به‌حالتی اطلاق می‌شود که دز بسیار پایین سم، بر خلاف دز بالای آن که اثر مهاری دارد، اثر تحریک‌کنندگی دارد و این اثر در موارد استفاده از ترکیبات سم‌زدا در خوراک حیوانات مشاهده می‌شود). در بلدرچین‌های تغذیه شده با تیمار حاوی منتول و آفلاتوکسین موجب افزایش ارتفاع به عرض پرز و ارتفاع پرز به عمق کریپت نسبت به تیمارهای فاقد آفلاتوکسین شد. اثرات اصلی تاثیر آفلاتوکسین و افزودنی‌های مختلف بر جمعیت میکروبی ایلئوم بلدرچین‌های ژاپنی در حال رشد در جدول ۳ نشان داده شده است. آفلاتوکسین تاثیری بر جمعیت میکروبی نداشت و اسانس نعناع جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک را افزایش داد (P<۰/۰۵). همان‌طورکه نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد، جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک در بلدرچین‌های تغذیه شده با تیمار بدون افزودنی و دارای آفلاتوکسین کاهش یافت اما نعناع و مشتقات آن به‌طور موثری اثر آفلاتوکسین بر جمعیت این باکتری‌ها را بی‌اثر کردند (P<۰/۰۵). تیمارهای آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم و کل باکتری‌های هوازی نداشتند. اثرات اصلی تاثیر آفلاتوکسین و افزودنی‌های مختلف بر برخی فراسنجه‌های خونی بلدرچین‌های ژاپنی در جدول ۴ نشان داده شده است. بلدرچین‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین غلظت گلبول قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و HDL کم‌تری در خون داشتند (P<۰/۰۵). اما، مصرف آفلاتوکسین غلظت LDL و کلسترول خون را افزایش داد (P<۰/۰۵). بلدرچین‌های تغذیه شده با افزودنی‌ها گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت و HDL بیش‌تر و LDL و کلسترول کم‌تری نسبت به پرندگان تغذیه شده با جیره فاقد افزودنی داشتند (P<۰/۰۵). تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی در جدول ۴ نشان داده شده است. در تیمارهای بدون آفلاتوکسین، در اثر مصرف نعناع و مشتقات آن تعداد گلبول‌های قرمز به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند (P<۰/۰۵). بلدرچین‌های تغذیه شده با تیمار حاوی اسانس نعناع و آفلاتوکسین تعداد گلبول سفید بیش‌تری نسبت به بلدرچین‌های تغذیه شده با تیمار بدون افزودنی و دارای آفلاتوکسین داشت (P<۰/۰۵). مقدار هموگلوبین خون پرندگان دریافت‌کننده آفلاتوکسین و منتول در مقایسه با پرندگان دریافت‌کننده آفلاتوکسین و بدون افزودنی بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). LDL و کلسترول خون در پرندگان دریافت‌کننده تیمار حاوی افزودنی و دارای آفلاتوکسین بالاتر از پرندگان دریافت کننده تیمارهای دیگر بود (P<۰/۰۵). در تیمارهای دارای آفلاتوکسین، مقدار HDL در تیمار بدون افزودنی کم‌ترین و در تیمار منتول بیش‌ترین مقدار بود (P<۰/۰۵).

جدول ۲: تاثیر تیمارهای آزمایشی بر مورفولوژی ایلئوم روده کوچک بلدرچین‌های ژاپنی در حال رشد

اثرات اصلی		مورفولوژی ایلئوم				
		ارتفاع پرز (میکرومتر)	عرض پرز (میکرومتر)	عمق کریپت (میکرومتر)	ارتفاع/عرض	ارتفاع/عمق
آفلاتوکسین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)						
صفر		۵۷۱/۵۰^{a}	۱۰۳/۳۸^{a}	۹۸/۷۳^{a}	۵/۵۶^{b}	۵/۸۶^{b}
۲/۵		۵۴۰/۵۶^{b}	۹۰/۱۵^{b}	۸۴/۰۳^{b}	۶/۰۶^{a}	۶/۴۹^{a}
افزودنی						
بدون افزودنی		۵۲۷/۱۲^{b}	۹۴/۲۰^{c}	۸۹/۰۵^{b}	۵/۷۱^{b}	۶/۰۳^{b}
پودر نعناع (۲۰ گرم بر کیلوگرم)		۵۶۴/۸۷^{a}	۹۹/۴۵^{ab}	۹۲/۴۸^{b}	۵/۶۸^{b}	۶/۱۱^{b}
اسانس نعناع (۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)		۵۶۹/۳۷^{a}	۱۰۶/۹۰^{a}	۱۰۴/۱۸^{a}	۵/۳۳^{b}	۵/۵۰^{c}
منتول (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)		۵۶۲/۷۵^{a}	۸۶/۵۳^{c}	۷۹/۸۱^{c}	۶/۵۳^{a}	۷/۰۷^{a}
اثرات متقابل						
افزودنی	**آفلاتوکسین**					
بدون افزودنی	صفر	۵۵۸/۷۵^{bc}	۱۰۹/۹۵^{a}	۱۰۳/۶۰^{b}	۵/۰۹^{d}	۵/۳۹^{cd}
پودر نعناع (۲۰ گرم بر کیلوگرم)	صفر	۵۹۱/۷۵^{ab}	۱۰۵/۱۷^{ab}	۹۶/۶۵^{bc}	۵/۶۲^{bcd}	۶/۱۲^{bc}
اسانس نعناع (۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	صفر	۵۹۶/۷۴^{a}	۱۱۰/۸۲^{a}	۱۱۴/۷۵^{a}	۵/۳۹^{cd}	۵/۲۰^{d}
منتول(۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	صفر	۵۳۸/۷۳^{c}	۸۷/۶۰^{c}	۷۹/۹۵^{de}	۶/۱۶^{abc}	۶/۷۴^{ab}
بدون افزودنی	۲/۵	۴۹۵/۵۰^{d}	۷۸/۴۵^{d}	۷۴/۵۰^{e}	۶/۳۴^{ab}	۶/۶۷^{ab}
پودر نعناع (۲۰ گرم بر کیلوگرم)	۲/۵	۵۳۸/۰۰^{c}	۹۳/۷۲^{bc}	۸۸/۳۲^{cd}	۵/۷۴^{bcd}	۶/۱۰^{bc}
اسانس نعناع (۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲/۵	۵۴۰/۰۰^{c}	۱۰۲/۹۷^{ab}	۹۳/۶۲^{bc}	۵/۲۷^{d}	۵/۸۰^{cd}
منتول(۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲/۵	۵۸۶/۷۲^{ab}	۸۵/۴۷^{cd}	۷۹/۶۷^{de}	۶/۹۰^{a}	۷/۴۰^{a}
SEM		۷/۵۷	۳/۱۰	۲/۳۷	۰/۱۸	۰/۱۷
[1]P-value						
آفلاتوکسین		<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۵	<۰/۰۰۰۱
افزودنی		<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰.۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
آفلاتوکسین× افزودنی		<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۵	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۸	۰/۰۰۸۱

[1] a-e: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جدول ۳: تاثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی ایلئوم بلدرچین‌های ژاپنی در حال رشد (لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی در گرم)

اثرات اصلی		کلی فرم‌ها	باکتری‌های اسید لاکتیک	کل جمعیت هوازی
آفلاتوکسین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)				
صفر		۸/۱۲	۸/۱۰	۷/۷۸
۲/۵		۸/۰۵	۸/۱۲	۷/۶۶
افزودنی				
بدون افزودنی		۸/۲۱	۷/۹۷^{b}	۷/۶۴
پودر نعناع (۲۰ گرم بر کیلوگرم)		۸/۱۹	۸/۱۴^{ab}	۷/۸۵
اسانس نعناع (۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)		۸/۰۰	۸/۲۱^{a}	۷/۶۵
منتول (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)		۷/۹۵	۸/۱۱^{ab}	۷/۷۵
اثرات متقابل				
افزودنی	**آفلاتوکسین**			
بدون افزودنی	صفر	۸/۳۲	۸/۰۶^{ab}	۷/۷۲
پودر نعناع (۲۰ گرم بر کیلوگرم)	صفر	۸/۱۹	۸/۰۷^{ab}	۷/۸۷
اسانس نعناع (۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	صفر	۷/۹۹	۸/۲۳^{a}	۷/۷۸
منتول(۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	صفر	۷/۹۸	۸/۰۴^{ab}	۷/۷۷
بدون افزودنی	۲/۵	۸/۱۰	۷/۸۹^{b}	۷/۵۶
پودر نعناع (۲۰ گرم بر کیلوگرم)	۲/۵	۸/۲۰	۸/۲۲^{a}	۷/۸۳
اسانس نعناع (۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	۲/۵	۸/۰۱	۸/۱۹^{a}	۷/۵۱
منتول (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)	۲/۵	۷/۹۱	۸/۱۸^{a}	۷/۷۴
SEM		۰/۱۱	۰/۰۶	۰/۱۳
[1]P-value				
آفلاتوکسین		۰/۴۱۴۶	۰/۶۰۱۳	۰/۱۷۹۳
افزودنی		۰/۰۶۲۵	۰/۰۰۷۶	۰/۳۳۰۴
آفلاتوکسین× افزودنی		۰/۷۰۸۸	۰/۰۴۲۴	۰/۷۶۷۵

[1] a-e: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جدول ۴: تاثیر تیمارهای آزمایشی بر برخی فراسنجه‌های خونی بلدرچین‌های ژاپنی در حال رشد

اثرات اصلی		گلبول قرمز (میلیون در لیتر)	گلبول سفید (میلیون در لیتر)	هموگلوبین (درصد)	هماتوکریت (درصد)	LDL (میلی مول/لیتر)	HDL (میلی مول/لیتر)	کلسترول (میلی مول/لیتر)
آفلاتوکسین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)								
صفر		۳/۶۵^{a}	۳۵/۵۲	۱۱/۸۶^{a}	۴۵/۷۹^{a}	۰/۵۵^{b}	۲/۳۶^{a}	۳/۲۹^{b}
۲/۵		۳/۳۵^{b}	۳۵/۸۹	۱۱/۳۵^{b}	۴۲/۰۷^{b}	۰/۶۰^{a}	۲/۱۴^{b}	۳/۵۹^{a}
افزودنی								
بدون افزودنی		۳/۱۵^{c}	۳۴/۷۰^{ab}	۱۰/۳۵^{d}	۴۰/۲۹^{d}	۰/۸۱^{a}	۱/۶۳^{d}	۳/۹۰^{a}
پودر نعناع (۲۰ گرم بر کیلوگرم)		۳/۴۹^{b}	۳۳/۰۴^{b}	۱۱/۲۱^{c}	۴۲/۷۸^{c}	۰/۵۳^{b}	۲/۱۹^{c}	۳/۳۴^{b}
اسانس نعناع (۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)		۳/۵۷^{ab}	۳۷/۴۵^{a}	۱۲/۰۳^{b}	۴۵/۲۲^{b}	۰/۴۵^{c}	۲/۴۴^{b}	۳/۱۸^{c}
منتول (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)		۳/۷۸^{a}	۳۷/۶۲^{a}	۱۲/۸۳^{a}	۴۳/۴۷^{a}	۰/۵۲^{b}	۲/۷۴^{a}	۳/۳۴^{b}
اثرات متقابل								
آفلاتوکسین	**افزودنی**							
بدون افزودنی	صفر	۳/۱۹^{c}	۳۳/۱۰^{bc}	۱۰/۶۲^{ef}	۴۱/۳۰^{de}	۰/۷۶۵^{b}	۱/۷۳^{c}	۳/۷۶^{b}
پودرنعناع(۲۰گرم بر کیلوگرم)	صفر	۳/۶۹^{a}	۳۴/۲۵^{abc}	۱۱/۴۴^{cde}	۴۴/۹۸^{bc}	۰/۴۸۷^{cd}	۲/۲۳^{b}	۳/۲۴^{cde}
اسانس‌نعناع (۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	صفر	۳/۸۲^{a}	۳۵/۸۴^{abc}	۱۲/۲۹^{abc}	۴۷/۸۸^{ab}	۰/۴۵۲^{d}	۲/۶۴^{a}	۳/۰۳^{e}
منتول(۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	صفر	۳/۸۹^{a}	۳۸/۸۸^{ab}	۱۳/۱۰^{a}	۴۹/۰۲^{a}	۰/۵۱۲^{cd}	۲/۸۴^{a}	۳/۱۳^{de}
بدون افزودنی	۲/۵	۳/۱۱^{c}	۳۱/۸۴^{c}	۱۰/۰۷^{f}	۳۹/۲۹^{e}	۰/۸۷۰^{a}	۱/۵۳^{c}	۴/۰۴^{a}
پودرنعناع(۲۰گرم بر کیلوگرم)	۲/۵	۳/۳۰^{c}	۳۶/۳۰^{abc}	۱۰/۹۹^{def}	۴۰/۵۸^{de}	۰/۵۷۵^{c}	۲/۱۶^{b}	۳/۴۴^{cd}
اسانس‌نعناع(۸۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲/۵	۳/۳۲^{bc}	۳۹/۰۷^{a}	۱۱/۷۷^{bcd}	۴۲/۵۵^{cd}	۰/۴۶۰^{d}	۲/۲۵^{b}	۳/۳۲^{cde}
منتول(۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲/۵	۳/۶۷^{ab}	۳۶/۳۶^{abc}	۱۲/۵۷^{ab}	۴۵/۸۴^{b}	۰/۵۳۲^{cd}	۲/۶۴^{a}	۳/۵۵^{bc}
SEM		۰/۰۸	۱/۲۵	۰/۲۳	۰/۶۲	۰/۰۲	۰/۰۷	۰/۰۷
[1]P-value								
آفلاتوکسین		<۰/۰۰۰۱	۰/۶۷۵۹	۰/۰۰۵۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱
افزودنی		<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۷	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
افزودنی× آفلاتوکسین		۰/۰۵۳۰	۰/۰۳۳۳	۰/۹۹۶۸	۰/۰۶۹۶	۰/۰۷۷۳	۰/۱۶۷۷	۰/۴۴۹۲

[1] a-e: تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

بحث

سم‌زدایی آفلاتوکسین توسط محصولات گیاهی پیش‌تر گزارش شده است (۱۷). هم‌چنین گزارش شده است که عصاره نعناع با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای خاصیت بازدارندگی در تولید آفلاتوکسین در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد (۱۸). ارتفاع پرز روده، عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت برای ارزیابی توانایی روده در جذب مواد مغذی اندازه‌گیری می‌شوند (۱۹). هم‌چنین، Caspary گزارش کرد که افزایش ارتفاع پرزهای روده موجب فراهم آوردن سطح وسیع‌تر برای جذب مواد غذایی در دسترس می‌شوند (۲۰). افزایش شاخص‌های جذبی روده در اثر نعناع و مشتقات آن توسط Mehri و همکاران نیز گزارش شد (۲۱) که در توافق با مطالعه حاضر می‌باشد و با افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید روده نظیر لاکتوباسیلوس‌ها مرتبط است (۲۲، ۲۳). در توافق با مطالعه حاضر، Manafi و همکاران، گزارش نمودند که ارتفاع پرز، عمق کریپت و نسبت ارتفاع به عمق کریپت در بلدرچین تخم‌گذار با جیره غذایی آلوده به ۱۵۰۰ میکروگرم آفلاتوکسین B_1 در کیلوگرم جیره کاهش یافت (۲۴). Hussein گزارش نمود که نعناع موجب افزایش پرز، نسبت ارتفاع به عمق کریپت و کاهش اندازه عمق کریپت می‌گردد (۲۵). در مطالعه حاضر، در اثر پدیده هورمسیس نسبت ارتفاع به عرض پرز و ارتفاع پرز به عمق کریپت در تیمار منتول- دارای آفلاتوکسین در مقایسه با تیمارهای فاقد آفلاتوکسین افزایش یافت. در سم‌شناسی پدیده هورمسیس به حالتی اطلاق می‌شود که دز بسیار پایین سم، برخلاف دز بالای آن که اثر مهاری دارد، اثر تحریک کنندگی دارد (۲۶) که بروز این پدیده در تیمار منتول-دارای آفلاتوکسین نشان دهنده سم‌زدایی موثر منتول و کاهش غلظت آن تا دزهای بسیار ناچیز است. آفلاتوکسین در روده کوچک جوجه‌های گوشتی موجب ضایعات و کاهش تعداد سلول‌های گابلت تولیدکننده موسین گردید، که می‌تواند جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید را کاهش و بر ایمنی تأثیر منفی بگذارد (۲۷). در مطالعه‌ای بر روی بلدرچین تخم‌گذار، تغذیه با خوراک حاوی ۱۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین B_1 تولید شده توسط *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* به‌مدت پنج هفته، باعث افزایش تعداد کلی‌فرم‌ها، سالمونلا و اشرشیاکولی در سکوم شد (۲۴). مشاهدات کافی وجود دارند که نقش گیاهان، اسانس‌ها و مواد اصلی تشکیل‌دهنده آن‌ها را در مبارزه با جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا در طیور را نشان می‌دهند (۲۸). Sharifi و همکاران، گزارش نمودند که برگ و اسانس گیاه نعناع باعث کاهش جمعیت کلی‌فرم‌ها و افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها می‌گردند (۲۹). خواص ضدباکتریایی گیاه نعناع به‌دلیل سطوح مختلف مونوترپن‌ها، تیمول و منتول موجود در آن می‌باشد که نقش منتول بر میکروفلور موجود در دستگاه گوارش قابل توجه‌تر است (۳۰). در بررسی حاضر نیز بلدرچین‌های دریافت کننده جیره حاوی منتول و آفلاتوکسین نسبت به پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی آفلاتوکسین و بدون منتول، جمعیت لاکتوباسیلی بیش‌تری داشتند. Trombetta و همکاران، تایید کردند که منتول، تیمول و اکثر اشکال ترپن‌ها با عبور از غشای سلول و نفوذ به داخل سلول بر روی باکتری‌های بیماری‌زا اثر مهاری دارند (۳۱). هرچند تیمارهای نعناع در این مطالعه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را با از نظر جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم نشان ندادند، اما تعداد بیش‌تر لاکتوباسیلوس‌ها را ایلئوم پرندگان تغذیه شده با آفلاتوکسین موجب شدند که نشان‌دهنده بهبود محیط میکروبی روده است. در توافق با مطالعه حاضر، کاهش گلبول‌های قرمز و سفید، هماتوکریت و هموگلوبین در بلدرچین‌های تغذیه شده با آفلاتوکسین B_1 توسط Bagherzadeh Kasmani و همکاران، گزارش شده است (۳). کاهش فراسنجه‌های هماتولوژیکی خون در اثر مصرف آفلاتوکسین احتمالاً ناشی از کاهش سنتز پروتئین و افزایش همولیز در پرندگان تحت تاثیر است (۳۲، ۳۳). بهبود فراسنجه‌های خونی در اثر مصرف نعناع و مشتقات آن می‌تواند ناشی از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی در حفاظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو (۳۴) هم‌چنین افزایش ظرفیت جذب مواد مغذی نظیر اسیدهای آمینه در روده باشد. توانایی نعناع در کاهش سطح کلسترول و LDL خون به‌دلیل داشتن فلاونوئیدها است که نقش مهمی در سرکوب رادیکال‌های آزاد و حذف و کاهش اسیدهای چرب در پلاسمای خون (از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپید و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) دارند (۳۵). فلاونوئیدها نقش مهمی در کاهش استرهای کلسترول و جلوگیری از تجزیه اکسیداتیو چربی دارند (۳۵). هم‌چنین، Choudhury و همکاران، نشان دادند اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها و ترپن‌ها که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی را بر عهده دارند (۳۶)، در کاهش سطح لیپیدهای سرم نقش موثری دارند. Tahami و Hosseini، گزارش نمودند که عصاره گیاهان دارچین، نعناع و فلفل موجب کاهش کلسترول و LDL و افزایش HDL خون جوجه‌های گوشتی می‌گردد (۳۷). Abdolmohamadi و همکاران، به‌دنبال تزریق گیاهان دارویی تاثیری بر سطح کلسترول خون جوجه‌های گوشتی مشاهده نکردند (۳۸). کاهش کلسترول و LDL خون در پی مصرف نعناع در بلدرچین ژاپنی پیش‌تر گزارش شده است (۱۶، ۳۹) که کاهش این فراسنجه‌ها را ناشی از افزایش جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک و در نتیجه کاهش جذب لیپیدها در اثر ایجاد شرایط اسیدی در روده و هم‌چنین کاهش بازچرخش نمک‌های صفراوی در اثر فعالیت این باکتری‌ها اعلام نمودند (۳۹). نعناع هم‌چنین با افزایش گیرنده‌های LDL کبد، کاتابولیسم LDL را

تسریع می‌کند. علاوه بر این نعناع فعالیت آنزیم اسید چرب سنتاز (FAS) را مهار می‌کند و اکسیداسیون بتا اسیدهای چرب را افزایش می‌دهد، بنابراین ذخیره چربی را به‌طور موثری کاهش می‌دهد (۴۰). نتایج این پژوهش نشان داد که آفلاتوکسین B1 ظرفیت جذبی روده، جمعیت میکروب‌های مفید را کاهش و تاثیر مخربی بر فراسنجه‌های خونی بلدرچین ژاپنی دارد و استفاده از نعناع و مشتقات آن نظیر پودر، اسانس و منتول (ماده موثره نعناع) به‌طور موثری ظرفیت مهار اثرات این سم را بر روی پارامترهای فوق دارند.

منابع

1. **Codex, AC., 2013.** Codex general standard for contaminants and toxins in food and feed. Codex Standard. 193-1995.
2. **Bagherzadeh Kasmani, F.B., Torshizi, M.K., Allameh, A. and Shariatmadari, F., 2012.** A novel aflatoxin binding *Bacillus* probiotic: Performance, serum biochemistry, and immunological parameters in Japanese quail. Poultry Science. 91(8): 1846-1853.
3. **Bagherzadeh Kasmani, F., Torshizi, K. and Mehri, M., 2018.** Effect of *Brevibacillus laterosporus* probiotic on hematology, internal organs, meat peroxidation and ileal microflora in Japanese quails fed aflatoxin B_1. Journal of Agricultural Science and Technology. 20(3): 459-468.
4. **Mahrose, K.M., Michalak, I., Farghly, M., Elokil, A., Zhang, R., Ayaşan, T. and Fazlani, S., 2021.** Role of clay in detoxification of aflatoxin B1 in growing Japanese quail with reference to gender. Veterinary Research Communications. 1-9.
5. **Radwan, N., Hassan, R.A., Qota, E.M. and Fayek, H.M., 2008.** Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and reproductive performance of laying hens. International Journal Poultry Science. 7: 134 150.
6. **Mahato, D.K., Lee, K.E., Kamle, M., Devi, S., Dewangan, K.N., Kumar, P. and Kang, S.G., 2019.** Aflatoxins in Food andFeed: An Overview on Prevalence, Detection and Control Strategies. Front. Microbiol. 10: 1-10.
7. **Rahimi, S., Teymouri Zadeh, Z., Karimi Torshizi, M.A., Omidbagi, R. and Rokni, H., 2011.** Effect of 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.
8. **Ponzilacqua, B., Rottinghaus, G.E., Landers, B.R. and Oliveira, C.A.F., 2019.** Effects of medicinal herb and Brazilian traditional plant extracts on *in vitro* mycotoxin decontamination. Food control. 100: 24-27.
9. **Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C. and Kroismayr, A., 2008.** Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. Journal of Animal Science. 86: 140-148.
10. **Bupesh, G., Amutha, C., Nandagopal, S., Ganeshkumar, A., Sureshkumar, P. and Murali, K., 2007.** Antibacterial activity of *Mentha piperita* L. (peppermint) from leaf extracts-a medicinal plant. Acta Agriculturae Slovenica. 89(1): 73.
11. **Nayak, P., Kumar, T., Gupta, A.K. and Joshi, N.U., 2020.** Peppermint a medicinal herb and treasure of health. A review. J Pharmacognosy Phytochem. 9: 1519-1528.
12. **National Research Council (NRC). 1994.** Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition. Washington, DC. The National Academies Press. https://doi.org/10.17226/2114. 176 p.
13. **Díaz-Maroto, M.C., Pérez-Coello, M.S., Gonzalez Vinas M. and Cabezudo, M.D., 2003.** Influence of drying on the flavor quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 1265-1269.
14. **Shotwell, O.L., Hesseltine, C.W., Stubblefield, R.D. and Sorenson, W.G., 1966.** Production of aflatoxin on rice. Applied Microbiology. 14(3): 425-428.
15. **Abramoff, M.D., Magelhaes, P.J. and Ram, S.J., 2004.** Image processing with Image. Journal of Biophotonic. 11: 36-42.
16. **Ghazaghi, M., Mehri, M. and Bagherzadeh-Kasmani, F., 2014.** Effects of dietary *Mentha picata* on performance, blood metabolites, meat quality and microbial ecosystem of small intestine in growing Japanese quail. Animal Feed Sience and Technology. 194: 89-98.
17. **Sandosskumar, R., Karthikeyan, M., Mathiyazhagan, S., Mohankumar, M., Chandrasekar, G. and Velazhahan, R., 2007.** Inhibition of *Aspergillus flavus* growth and detoxification of aflatoxin B_1 by the medicinal plant zimmu (*Allium sativum* L.× *Allium cepa* L.). World Journal of Microbiology and Biotechnology. 23: 1007-1014.
18. **Deabes, M., El-Soud, N. and El-Kassem, L., 2011.** *In vitro* inhibition of growth and aflatoxin B_1 production of *Aspergillus flavus* strain (ATCC 16872) by various medicinal plant essential oils. Macedonian Journal of Medical Sciences. 4: 345-350.
19. **Yamauchi, K.E., 2002.** Review on chicken intestinal villus histological alterations related with intestinal function. The Journal of Poultry Science. 39: 229-242.
20. **Caspary, W.F., 1992.** Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. The American Journal of Clinical Nutrition. 55(1): 299-308.
21. **Mehri, M., Sabaghi, V. and Bagherzadeh-Kasmani, F., 2015.** *Mentha piperita* (peppermint) in growing Japanese quails diet: Performance, carcass attributes, morphology and microbial populations of intestine. Animal Feed Science and Technology. 207: 104-111.
22. **Baurhoo, B., Phillip, L. and Ruiz-Feria, C.A., 2007.** Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens. Poultry science. 86(6): 1070-1078.
23. **Matur, E. and Eraslan, E., 2012.** The impact of probiotics on the gastrointestinal physiology. New Advances in the Basic and Clinical Gastroenterology. 1: 51-74.
24. **Manafi, M., 2018.** Toxicity of aflatoxin B_1 on laying Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). Journal of Applied Animal Research. 46: 953-959.
25. **Hussein, S.M., 2021.** effect of peppermint (*Mentha piperita*) powder on performance, gut morphology and immune organs respons of coccidiosis infected broilers. iraqi journal of agricultural sciences. 52(2): 276-290.
26. **Diaz, G.J., Calabrese, E. and Blain, R., 2008.** Aflatoxicosis in chickens (*Gallus gallus*): An example of hormesis? Poultry Science. 87(4): 727-732.
27. **Wang, F., Zuo, Z., Chen, K., Gao, C., Yang, Z., Zhao, S., Li, J., Song, H., Peng, X. and Fang, J., 2018.** Histopathological injuries, ultrastructural changes, and depressed TLR expression in the small intestine of broiler chickens with aflatoxin B_1. Toxins. 10: 131.

28. **Griggs, J.P. and Jacob, J.P., 2005.** Alternatives to antibiotics for organic poultry production. Journal of Applied Poultry Research. 14(4): 750-756.
29. **Sharifi, S.D., Khorsandi, S.H., Khadem, A.A., Salehi A. and Moslehi, H., 2013.** The effect of four medicinal plants on the performance, blood biochemical traits and ileal microflora of broiler chicks. Veterinarski arhiv. 83(1): 69-80.
30. **Cross, D.E., McDevitt, R.M., Hillman, K. and Acamovic, T., 2007.** The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. British Poultry Science. 48: 496-506.
31. **Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M.G., Venuti, V. and Cristani, M., 2005.** Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 49: 2474-2478.
32. **Kececi, O., Oguz, H., Kurtoglu, V. and Demet, O., 1998.** Effect of polyvinylpolypyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. British Poultry Science. 39: 452-458.
33. **Oğuz, H. and Kurtoğlu, V., 2000.** Effect of clinoptilolite on fattening performance of broiler chickens during experimental aflatoxicosis. British Poultry Science. 41: 512-517.
34. **Khan, R.U., Nikousefat, Z., Tufarelli, V., Naz, S., Javdani, M. and Laudadio, V., 2012.** Garlic (*Allium sativum*) supplementation in poultry diets: Effect on production and physiology. World's Poultry Science Journal. 68(3): 417-424.
35. **Ka, M.H., Choi, E.H., Chun, H.S. and Lee, K.G., 2005.** Antioxidative activity of volatile extracts isolated from *Angelica tenuissimae* roots, peppermint leaves, pine needles, and sweet flag leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(10): 4124-4129.
36. **Choudhury, R.P., Kumar, A. and Garg, A.N., 2006.** Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 41(3): 825-832.
37. **Tahami, Z. and Hosseini, S.M., 2021.** Effect of *Cinnamomun cassia*, *Origanum vulgare* and *Capsicum annuum* extracts in first period on performance, carcass characteristics and blood parameters of Broiler chickens. Journal of Animal Environment. 13(1): 173-182. (In Persian)
38. **Abdolmohamadi, M., Khodaei Motlagh, M. and Karimi, K., 2015.** Effect of injection of Garlic (*Allium sativum*) extract and Lovastatin on serum cholesterol in hypercholesterolemic broiler chicks. Journal of Animal Environment. 7(3): 95-102. (In Persian)
39. **Mehri, M., Sabaghi, V. and Bagherzadeh-Kasmani, F., 2015.** *Mentha piperita* (peppermint) in growing Japanese quails' diet: Serum biochemistry, meat quality, humoral immunity. Animal Feed Science and Technology. 206: 57-66.
40. **Mirzadeh, K., Kazemizadeh, A. and Ansari Pirsaraei, Z., 2022.** The effect of kefir and peppermint extract (*Mentha pipperita*) extract in drinking water on performance, lipid profiles, thyroid hormones and testosterone hormone of Japanese quail. Iranian Journal of Animal Science Research. 14(1): 83-95. (In Persian)