

## بررسی امکان جایگزینی اسانس میخک به جای آنتی‌بیوتیک محرک رشد آویلامایسین در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی

سیدموسی سعادت‌میرقدیم<sup>۱</sup>، میرداریوش شکوری<sup>۲\*</sup> و فرزاد میرزائی آقچه قشلاق<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۴

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی

\* مسئول مکاتبه: Email: mdshakouri@uma.ac.ir

### چکیده

زمینه مطالعاتی: گیاهان دارویی به عنوان یکی از جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد مطرح هستند. هدف: این آزمایش به منظور بررسی امکان جایگزینی اسانس میخک به جای آویلامایسین و اثر سطوح مختلف آن بر عملکرد رشد، قابلیت هضم ایلتومی مواد مغذی، ریخت‌سنجی مخاط ژژنوم و برخی فراسنجه‌های خونی انجام شد. روش-کار: از تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه گوشتی راس ۳۰۸ (مخلوط دوجنس) در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. چهار تیمار آزمایشی شامل ۱۰ قسمت در میلیون آویلامایسین (شاهد) و سه سطح ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ قسمت در میلیون اسانس میخک، در چهار تکرار به ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار به مدت ۴۲ روز تغذیه شدند. نتایج: مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه جوجه‌ها در اثر مصرف اسانس میخک کاهش و ضریب تبدیل خوراک آنها در اثر سطوح ۱۵۰ و ۳۰۰ قسمت در میلیون افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). استفاده از اسانس میخک باعث کاهش قابلیت هضم ایلتومی ماده خشک و ماده آلی جیره مصرفی شد ( $P < 0/05$ ). pH محتویات سنگدان و سکوم و نیز فراسنجه‌های ریخت‌سنجی مخاط ژژنوم تحت تأثیر معنی‌دار تیمارها قرار نگرفتند. با افزودن سطوح مختلف اسانس میخک به جیره، غلظت کلسترول کل سرم خون جوجه‌ها کاهش یافت ( $P < 0/05$ ) ولی افزایش غلظت HDL کلسترول و کاهش غلظت LDL کلسترول در اثر سطوح ۱۵۰ و ۴۵۰ قسمت در میلیون معنی‌دار شد ( $P < 0/05$ ). نتیجه‌گیری کلی: به‌طور کلی اسانس میخک نمی‌تواند به جای آنتی‌بیوتیک محرک رشد آویلامایسین در جیره جوجه‌های گوشتی جایگزین شود و فقط می‌تواند برخی اثرات مفید را در کاهش کلسترول سرم خون نشان دهد.

واژگان کلیدی: اسانس میخک، آویلامایسین، ریخت‌سنجی ژژنوم، قابلیت هضم ایلتومی، جوجه گوشتی

### مقدمه

خطر و سالم بوده و اثرات مثبتی بر حفظ سلامت و بازدهی تولید طیور و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش آنها دارند (هاشمی و داودی ۲۰۱۱). با توجه به اثرات ضد میکروبی و تحریک رشدی توسط فیتوجنیک‌ها، مطالعات گسترده‌ای راجع به استفاده از آنها به جای

طی سال‌های اخیر، فیتوجنیک‌ها یا ترکیبات با منشأ گیاهی به عنوان گروه جدیدی از مواد افزودنی خوراکی در تغذیه طیور مطرح شده و توجه زیادی را به خود معطوف کرده است. این افزودنی‌های طبیعی اغلب بی-

محرك رشد آویلامایسین با ماهیت الیگوساکاریدی به گروه آنتی‌بیوتیک‌های اُرتوسومایسین<sup>۱</sup> تعلق داشته و فعالیت باکتری‌کشی علیه باکتری‌های گرم مثبت دارد (وایت ۲۰۰۰). در آزمایش‌هایی که در آنها از آویلامایسین استفاده شده، بهبود عملکرد رشد (مونتوریس و همکاران ۲۰۰۷ و کیم و همکاران ۲۰۱۱) و قابلیت هضم مواد مغذی (گارسیا و همکاران ۲۰۰۷ و صالح ۲۰۱۴) در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است. در مطالعات معدودی که در آنها از عصاره (دالکیچ و گولر ۲۰۰۹) و یا اسانس (آزادگان مهر و همکاران ۲۰۱۴b) میخک استفاده شده، عملکرد رشد مشابهی با آویلامایسین گزارش شده است. در این آزمایش نیز کوشش می‌شود تا ضمن بررسی امکان جایگزینی اسانس میخک با آنتی‌بیوتیک محرك رشد آویلامایسین، اثر سطوح مختلف آن بر عملکرد رشد، قابلیت هضم ایلتومی مواد مغذی، ریخت‌سنجی مخاط روده و برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

#### مواد و روش‌ها

کارهای مزرعه‌ای این آزمایش با اختصاص ۳۲۰ قطعه جوجه گوشتی سویه تجارتي راس ۳۰۸ (به صورت مخلوط دو جنس) با میانگین وزن اولیه  $27 \pm 1/28$  گرم به ۴ تیمار در ۴ تکرار و تعداد ۲۰ قطعه پرنده در هر تکرار، در قالب طرح کاملاً تصادفی در واحد مرغداری تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره حاوی ۱۰ قسمت در میلیون آویلامایسین (شاهد) و جیره‌های حاوی سه سطح ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ قسمت در میلیون اسانس میخک بودند. اسانس میخک مورد استفاده از شرکت گلجوش سراب (لاریس) واقع در شهرستان سراب استان آذربایجان شرقی تهیه شد. اعمال تیمارهای آزمایشی از همان روز

آنتی‌بیوتیک‌های محرك رشد صورت گرفته است. آنتی‌بیوتیک‌هایی که بکار بردن آنها در تغذیه دام و طیور با ظهور سویه‌های مقاوم باکتریایی و ابقاء در فرآورده‌های دامی تولیدی با ممنوعیت و چالش‌های جدی مواجه شده است (کاستانون ۲۰۰۷).

جوانه گل‌های خشک شده درخت میخک (*Syzygium aromaticum*) به علت خواص آروماتیکی و معطری خود بیشتر به عنوان ادویه یا چاشنی در صنایع غذایی کاربرد دارد. مهمترین ترکیب اسانس میخک اوژنول بوده و ۷۲ تا ۹۰ درصد اسانس آن را تشکیل می‌دهد (لی و شیباموتو ۲۰۰۱). این ترکیب ماهیت فنلی داشته، دارای ویژگی‌های متعددی از جمله آنتی‌اکسیدانی (لی و شیباموتو ۲۰۰۱)، ضد میکروبی (دوی و همکاران ۲۰۱۰، کولانور جوهنی و همکاران ۲۰۱۰) و تسکین دهنده درد دندان می‌باشد. مطالعات انجام شده روی میخک و یا ترکیبات آن در تغذیه طیور نشان می‌دهد که استفاده از پودر (آگوستینی و همکاران ۲۰۱۲)، اسانس (محمدی و همکاران ۲۰۱۴a و آزادگان مهر و همکاران ۲۰۱۴b) و یا عصاره (دالکیچ و گولر ۲۰۰۹) این گیاه دارویی در جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند موجب بهبود عملکرد رشد این پرندگان شود. هرچند که در کنار این گزارش‌ها، عدم تأثیر مشتقات میخک بر شاخص‌های عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی هم مشاهده شده است (نجفی و ترکی ۲۰۱۰ و مختار ۲۰۱۱). افزایش جمعیت باکتری‌های مفید دستگاه گوارش (آگوستینی و همکاران ۲۰۱۲)، بهبود قابلیت هضم مواد مغذی (دالکیچ و گولر ۲۰۰۹) و عدم تأثیر بر فراسنجه‌های لیپیدی سرم خون (نجفی و ترکی ۲۰۱۰ و آزادگان مهر و همکاران ۲۰۱۴b) جوجه‌های گوشتی نیز در اثر افزودن ترکیبات میخک گزارش شده است. با توجه به اثرات مثبت میخک بر پاسخ رشد جوجه‌های گوشتی به نظرمی‌رسد این گیاه بتواند به عنوان گزینه‌ای برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌های محرك رشد مطرح شود.

<sup>1</sup> Orthosomycin

پیشنهادی فنتون و فنتون (۱۹۷۹)، درصد قابلیت هضم مواد مغذی با استفاده از فرمول زیر تعیین شد.

$$\left( \frac{\text{ماده مغذی نمونه ایلئومی (\%)}}{\text{ماده مغذی جیره (\%)}} \times \frac{\text{اکسید کروم جیره (\%)}}{\text{اکسید کروم نمونه ایلئومی (\%)}} \right) \times 100 = \text{قابلیت هضم (\%)}$$

در روز کشتار، به منظور تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شرایط فیزیکی شیمیایی شیرابه گوارشی، محتویات سنگدان و سکوم جوجه‌های مربوط به هر تکرار نیز جمع‌آوری و جهت اندازه‌گیری pH در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از یخ‌کشایی نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه، سوسپانسیون به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر تهیه و pH آنها با دستگاه pH متر دیجیتالی (کریزن<sup>۲</sup> مدل ۲۰<sup>+</sup> بیسیک، ساخت اتحادیه اروپا) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری برخی فراسنجه‌های ریخت‌سنجی، در روز ۲۸ دوره و بعد از کشتار، حدود ۲ سانتی‌متر از بخش ابتدایی ژنوم جوجه‌های نر نمونه بافتی تهیه شد. سپس، بعد از شستشو با سرم فیزیولوژیک تا انجام مراحل بعدی داخل محلول فرمالین (۱۰٪) قرار داده شد. مراحل آماده‌سازی نمونه‌های بافتی توسط دستگاه خودکار آماده‌کننده بافت (مدل ۱۱۰ KP، ساخت ایران) انجام شد. این فرآیند طی سه مرحله آب‌گیری، شفاف‌سازی و پارافینه شدن صورت گرفت. پس از تهیه برش‌های ۵ میکرومتری کار رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین صورت گرفت. سپس از روی عکس‌های تهیه شده میکروسکوپی فراسنجه‌های ریخت‌سنجی روی ۹ پرز سالم و مستقیم مربوط به هر تکرار اندازه‌گیری شد. این فراسنجه‌ها شامل ارتفاع پرز، پهنای قسمت وسط پرز، عمق کریپت و ضخامت لایه ماهیچه‌ای بودند (ایچی و همکاران ۲۰۰۱).

اول شروع و به مدت ۴۲ روز ادامه یافت. جوجه‌ها روی بستر پوشال پرورش یافتند. جیره‌های پایه با هدف تأمین نیازمندی مواد مغذی و انرژی جوجه‌ها طبق توصیه انجمن ملی تحقیقات (NRC ۱۹۹۴) و برای دوره‌های آغازین (۰ تا ۲۱ روزگی) و پایانی (۲۲ تا ۴۲ روزگی) بر پایه ذرت-سویا تنظیم شدند. طی دوره پرورش از هیچ گونه داروی ضد کوکسیدیوزی یا آنتی‌بیوتیکی به جزء در جیره حاوی آنتی‌بیوتیک محرک رشد استفاده نشد. اقلام مصرفی و ترکیب شیمیایی جیره‌های پایه در جدول ۱ ارائه شده است.

طی مدت آزمایش، جوجه‌ها به آب سالم و دان دسترسی آزاد داشتند. مصرف خوراک و افزایش وزن به‌صورت دوره‌ای اندازه‌گیری و براساس داده‌های به دست آمده ضریب تبدیل خوراک محاسبه گردید. برای تعیین قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی، از روز بیست و پنجم دوره پرورش جیره‌های حاوی ۰/۳ درصد اکسید کروم در اختیار جوجه‌ها قرارگرفت و در روز بیست و هشتم دوره از هر تکرار ۲ قطعه پرنده (یک نر و یک ماده) در اثر خفگی با گاز دی‌اکسید کربن کشتار و پس از بازکردن محوطه شکمی، محتویات ایلئومی آن‌ها جمع‌آوری و با هم مخلوط شد. این محتویات تا انجام آزمایش‌های بعدی در فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. محتویات ایلئومی پس از خشک شدن در آون (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت)، جهت هم رطوبت شدن با محیط به مدت حداقل ۲۴ ساعت در معرض هوای آزاد قرار گرفت. پس از آسیاب کردن نمونه‌های جیره و محتویات ایلئومی، اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی آنها شامل رطوبت، ماده آلی، چربی خام و پروتئین خام طبق روش‌های استاندارد صورت گرفت (AOAC ۲۰۰۰). اندازه‌گیری مقدار انرژی خام نمونه‌ها با دستگاه بمب کالریمتر (پار<sup>۱</sup> ۱۳۴۱، ساخت آمریکا) انجام شد. با اندازه‌گیری محتوی اکسید کروم نمونه‌های جیره و محتویات ایلئومی طبق روش

<sup>2</sup> Crison

<sup>1</sup> Parr

جدول ۱- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره‌های غذایی پایه در دوره‌های آغازین (۰-۲۱ روزگی) و رشد (۲۲-۴۲ روزگی)

Table 1- Ingredient and chemical composition of the basal diets during the starter (0-21 day) and grower (22-42 day) phases

اقلام خوراکی (درصد) Ingredients (percent)	آغازین Starter	رشد Grower
ذرت Corn	56.09	65.00
کنجاله سویا (پروتئین خام ۴۴٪) Soybean meal	37.05	29.65
روغن سویا Soybean oil	2.70	1.70
پودر صدف Oyster shell	1.34	1.43
دی کلسیم فسفات Dicalcium Phosphate	1.55	1.16
نمک Common salt	0.44	0.33
ال لیزین هیدروکلرید L-Lysine HCl	0.10	0.13
دی ال متیونین DL-methionine	0.23	0.10
مکمل ویتامینی Vitamine Permixon <sup>۱</sup>	0.25	0.25
مکمل معدنی Mineral Permixon <sup>۲</sup>	0.25	0.25
کل Total	100	100
مواد مغذی (محاسبه شده) Nutrients composition (calculated)		
انرژی متابولیسمی (kcal/kg) MEn (kcal/kg)	2960	3000
پروتئین خام (%) CP (%)	21.29	18.75
اسید لینولئیک (%) Linoleic acid (%)	2.81	1.46
کلسیم (%) Ca (%)	0.97	0.90
فسفر غیر فیتاته (%) Available P (%)	0.43	0.35
سدیم (%) Na (%)	0.19	0.15
لیزین (%) Lys (%)	1.21	1.07
آرژنین (%) Arg (%)	1.37	1.17
متیونین (%) Met (%)	0.57	0.41
متیونین+سیستین (%) Met+Cys (%)	0.94	0.74

<sup>۱</sup> تأمین شده به ازای هر کیلوگرم جیره: ویتامین A ۱۸۰۰۰ IU، ویتامین D<sub>۳</sub> ۴۰۰۰ IU، ویتامین E ۷۲ میلی‌گرم، ویتامین K<sub>۳</sub> ۴ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>۱</sub> ۳/۵۵ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>۲</sub> ۱۳/۲ میلی‌گرم، پانتوتنات کلسیم ۱۹/۶ میلی‌گرم، نیاسین ۵۹/۴ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>۶</sub> ۵/۸۸ میلی‌گرم، ویتامین B<sub>۱۲</sub> ۰/۰۳ میلی‌گرم و کلریدکولین: ۱ گرم.

<sup>۲</sup> Supplied per kg of diet: vitamin A 18000 IU, vitamin D<sub>3</sub> 4000 IU, vitamin E 72 mg, vitamin K<sub>3</sub> 4 mg, vitamin B<sub>1</sub> 3.55 mg, vitamin B<sub>2</sub> 13.2 mg, calcium pantothenate 19.6 mg, niacin 59.4 mg, vitamin B<sub>6</sub> 5.88 mg, vitamin B<sub>9</sub> 2 mg, vitamin B<sub>12</sub>, 0.03 mg, coline chloride 1 g.

تأمین شده به ازای هر کیلوگرم جیره: Mn ۱۹۸/۴ میلی‌گرم، Zn ۱۶۹/۴ میلی‌گرم، Fe ۱۰۰ میلی‌گرم، Cu ۲۰ میلی‌گرم، I ۱/۹۸۵ میلی‌گرم و Se ۰/۴ میلی‌گرم.

<sup>۲</sup> Supplied per kg of diet: Mn 198.4 mg, Zn 169.4 mg, Fe, 100 mg, Cu 20 mg, I 1.985 mg, Se, 0.4 mg.

مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). در این دوره جوجه‌های تغذیه شده با اسانس میخک ضریب تبدیل خوراک بالاتری نیز نشان دادند ( $P < 0/05$ ). هرچند که اختلاف ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های دریافت کننده ۴۵۰ قسمت در میلیون اسانس میخک با گروه شاهد معنی‌دار نبود. در کل دوره ۴۲ روزه آزمایش، مصرف سطوح مختلف اسانس میخک مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه جوجه‌ها را در مقایسه با آویلامایسین کاهش داد ( $P < 0/05$ ). ضریب تبدیل خوراک نیز در اثر مصرف سطوح ۱۵۰ و ۳۰۰ قسمت در میلیون اسانس میخک به طور معنی‌داری افزایش نشان داد ( $P < 0/05$ ). جوجه‌های دریافت کننده ۴۵۰ قسمت در میلیون اسانس میخک ضریب تبدیل خوراک مشابهی را با گروه شاهد نشان دادند.

طی دوره آغازین، علیرغم کاهش وزن روزانه توسط جوجه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف اسانس میخک در مقایسه با آویلامایسین ضریب تبدیل خوراک مشابه مشاهده شد. این امر بیانگر آن است که دلیل اصلی پایین بودن افزایش وزن روزانه جوجه‌ها در این دوره کاهش مصرف خوراک روزانه توسط آنها در اثر اسانس میخک و نه کاهش قابلیت استفاده از خوراک مصرفی می‌باشد. با افزایش ظرفیت گوارشی جوجه‌ها، چنین توجیهی نمی‌تواند دلیل کاهش عملکرد رشد این پرندگان طی دوره رشد باشد. به طوری‌که در این دوره جوجه‌های دریافت کننده ۱۵۰ قسمت در میلیون اسانس میخک با اینکه مقدار خوراک مشابهی را با گروه شاهد مصرف کردند، اما باز همانند دیگر سطوح این اسانس، افزایش وزن پایین‌تر و ضریب تبدیل خوراک بالاتری داشتند. به عبارتی در این دوره خوراک مصرفی با بازدهی پایین‌تری به افزایش وزن تبدیل شده است. پایین بودن قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی جیره‌های حاوی اسانس مؤدّ این ادعاست (جدول ۳). عدم معنی‌دار شدن ضریب تبدیل غذایی در کل دوره آزمایشی در اثر بالاترین سطح مصرفی اسانس با گروه شاهد احتمالاً می‌تواند بیانگر این نکته باشد که پاسخ

برای تعیین غلظت برخی از فراسنجه‌های خونی، در روز ۳۵ دوره پرورش از هر تکرار دو قطعه پرنده (یک نر و یک ماده) انتخاب و از سیاهرگ بال آنها خونگیری صورت گرفت. سرم نمونه‌های خونی به کمک دستگاه میکروسانتریفیوژ (ویژن<sup>۱</sup> مدل CFN II ۱۵۰۰۰-VS، ساخت کره جنوبی) در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه تفکیک گردید و برای تعیین غلظت کلسترول کل، کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL)، تری گلیسرید و گلوکز مورد استفاده قرار گرفت. فراسنجه‌های یادشده با استفاده از کیت‌های تجاری تولید داخل (ساخت شرکت زیست شیمی) و به روش رنگ‌سنجی به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (یونیکو<sup>۲</sup> ۲۱۰۰، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شدند. غلظت کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) نیز با استفاده از رابطه پیشنهادی فریدوالد و همکاران (۱۹۷۲) محاسبه گردید.

آنالیز نهایی داده‌ها با استفاده از رویه مدل عمومی خطی نرم افزار آماری SAS (ویرایش ۹/۱) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها هم با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

## نتایج و بحث

براساس اطلاعات ارائه شده در جدول ۲، در دوره آغازین مصرف خوراک روزانه جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسانس میخک در مقایسه با جوجه‌های مصرف کننده آویلامایسین کاهش و به دنبال آن افزایش وزن روزانه آنها نیز افت نشان داد ( $P < 0/05$ ). ضریب تبدیل خوراک طی این دوره تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. کاهش معنی‌دار مصرف خوراک روزانه جوجه‌ها در اثر سطوح ۳۰۰ و ۴۵۰ قسمت در میلیون و کاهش وزن روزانه آنها در اثر مصرف همه سطوح اسانس میخک طی دوره رشد نیز

<sup>1</sup> Vision

<sup>2</sup> Unico

رشد بهتر با سطوح بالای این اسانس قابل مشاهده است. چنین نتایج مثبتی با مصرف سطوح بالای این اسانس در مقایسه با سطوح پایین آن روی افزایش وزن (آزادگان مهر و همکاران ۲۰۱۴b) و ضریب تبدیل خوراک (دالکیچ و گولر ۲۰۰۹) جوجه‌ها هم گزارش شده است. عدم مشاهده عملکرد رشد مشابه جوجه‌ها در اثر اسانس میخک با آنتی‌بیوتیک محرک رشد در این مطالعه، با نتایج مطالعات صورت گرفته با آویلامایسین

رشد بهتر با سطوح بالای این اسانس قابل مشاهده است. چنین نتایج مثبتی با مصرف سطوح بالای این اسانس در مقایسه با سطوح پایین آن روی افزایش وزن (آزادگان مهر و همکاران ۲۰۱۴b) و ضریب تبدیل خوراک (دالکیچ و گولر ۲۰۰۹) جوجه‌ها هم گزارش شده است. عدم مشاهده عملکرد رشد مشابه جوجه‌ها در اثر اسانس میخک با آنتی‌بیوتیک محرک رشد در این مطالعه، با نتایج مطالعات صورت گرفته با آویلامایسین

جدول ۲- تأثیر آویلامایسین و سطوح مختلف اسانس میخک بر مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک روزانه جوجه‌های گوشتی طی دوره‌های مختلف آزمایشی

Table 2- The effect of avilamycin and different levels of clove essence on daily feed intake, weight gain and feed conversion ratio of broiler chickens during different experimental periods

Dietary treatment	دوره آغازین (۰-۲۱ روزگی) Starter period (0-21 days)			دوره رشد (۲۲-۴۲ روزگی) Grower period (22-42 days)			کل دوره (۰-۴۲ روزگی) Entire period (0-42 days)		
	مصرف خوراک FI (g)	افزایش وزن WG (g)	ضریب تبدیل خوراک FCR	مصرف خوراک FI (g)	افزایش وزن WG (g)	ضریب تبدیل خوراک FCR	مصرف خوراک FI (g)	افزایش وزن WG (g)	ضریب تبدیل خوراک FCR
آویلامایسین* Avilamycin*	40.13 <sup>a</sup>	24.83 <sup>a</sup>	1.62	146.98 <sup>a</sup>	84.85 <sup>a</sup>	1.72 <sup>c</sup>	93.56 <sup>a</sup>	54.84 <sup>a</sup>	1.70 <sup>b</sup>
۱۵۰ قسمت در میلیون 150 ppm	34.97 <sup>b</sup>	21.89 <sup>b</sup>	1.60	143.36 <sup>ab</sup>	76.75 <sup>b</sup>	1.90 <sup>a</sup>	90.65 <sup>b</sup>	49.32 <sup>b</sup>	1.87 <sup>a</sup>
۳۰۰ قسمت در میلیون 300 ppm	33.28 <sup>b</sup>	19.95 <sup>b</sup>	1.68	136.04 <sup>c</sup>	73.46 <sup>b</sup>	1.85 <sup>ab</sup>	86.16 <sup>c</sup>	46.70 <sup>b</sup>	1.85 <sup>a</sup>
۴۵۰ قسمت در میلیون 450 ppm	34.35 <sup>b</sup>	20.43 <sup>b</sup>	1.69	138.87 <sup>bc</sup>	76.87 <sup>b</sup>	1.80 <sup>bc</sup>	87.68 <sup>bc</sup>	48.65 <sup>b</sup>	1.81 <sup>ab</sup>
SEM	0.60	0.81	0.06	1.84	1.56	0.02	1.04	1.10	0.02
P-value	0.0001	0.0042	0.6694	0.0066	0.0013	0.0041	0.0043	0.0003	0.0278

SEM: خطای معیار میانگین‌ها

a, b, c: در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ).

a, b, c mean value in a column not sharing a superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

\* از آویلامایسین به میزان ۱۰ قسمت در میلیون جیره استفاده شد.

\* 10 ppm avilamycin was used in the diet

محتویات سنگدان و سکوم جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری را نشان دادند. گزارش‌های کمی راجع به تأثیر اسانس میخک بر قابلیت هضم مواد مغذی در دسترس است. در مطالعه‌ای دالکیچ و گولر (۲۰۰۹) نشان دادند که اثر عصاره میخک بر قابلیت هضم مواد مغذی به مقدار مصرف آنها در جیره بستگی دارد. به طوری‌که همانند نتایج این

مصرف سطوح مختلف اسانس میخک در مقایسه با آویلامایسین موجب کاهش قابلیت هضم ایلئومی ماده خشک و ماده آلی جیره شد ( $P < 0.05$ ). قابلیت هضم ایلئومی انرژی، چربی خام و پروتئین خام جیره مصرفی تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۳). تیمارهای آزمایشی همچنین بر pH

و حذف رقابت برای بدست آوردن مواد مغذی با میزبان (بوزکورت و همکاران ۲۰۰۸) و حفظ سلامت روده با کاهش تنش ناشی از دفاع توسط سیستم ایمنی (باولز و میلر ۱۹۹۳) اشاره کرد.

پایین بودن قابلیت هضم ایلئومی ماده آلی در اثر اسانس میخک به معنی گسیل شدن بیشتر این مواد به سکوم و فراهمی سوپسترای بیشتر برای تخمیر میکروبی است. از این رو می‌توان انتظار داشت که pH محتویات سکوم در اثر تولید بیشتر اسیدهای چرب فرار ناشی از تخمیر کاهش یابد (جین و همکاران ۱۹۹۸). اما چنین نتیجه‌ای دیده نشد. شاید مقدار سوپسترای ورودی با توجه به مقدار خوراک مصرفی پایین برای تغییر معنی‌دار pH کافی نبوده است. البته عدم تغییر pH محتویات سکوم جوجه‌های گوشتی در اثر آویلامایسین (مونتزوریس و همکاران ۲۰۰۷) و ماده موثره اصلی میخک یعنی اوژنول (کولانور جوهنی و همکاران ۲۰۱۰) نیز گزارش شده است.

آزمایش پایین بودن قابلیت هضم ماده خشک را در اثر سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون در مقایسه با آویلامایسین مشاهده کردند. اما قابلیت هضم یکسان ماده خشک، پروتئین خام و عصاره اتری را با استفاده از ۴۰۰ قسمت در میلیون عصاره میخک با آویلامایسین نشان دادند. از این رو، شاید در مطالعه حاضر مواد موثره موجود در سطوح مورد استفاده برای ایجاد قابلیت هضم یکسان با آویلامایسین پایین بوده است. افزایش خطی قابلیت هضم ایلئومی ماده خشک، ماده آلی، انرژی و پروتئین خام در اثر سطوح افزایشی اسانس میخک می‌تواند دلیلی بر این ادعا باشد (جدول ۳).

آنتی‌بیوتیک‌ها با ساز و کارهای مختلفی موجب افزایش هضم و به دنبال آن جذب مواد مغذی می‌شوند که می‌توان به کاهش سموم تولیدی میکروب‌های بیماری‌زا و ممانعت از اثر آنها بر ساختار پرزهای روده و هضم (کاستانون ۲۰۰۷)، جلوگیری از تکثیر باکتری‌های روده

جدول ۳- تأثیر آویلامایسین و سطوح مختلف اسانس میخک بر قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی (برحسب درصد) و pH

محتویات سنگدان و سکوم جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸ روزگی

Table 3- The effect of avilamycin and different levels of clove essence on nutrients digestibility (as percent) and pH value of gizzard and cecal contents of broiler chickens at 28 days of age

تیمار غذایی Dietary treatment	ماده خشک Dry Matter	ماده آلی Organic Matter	انرژی Energy	چربی خام Crude Fat	پروتئین خام Crude Protein	pH سنگدان Gizzard pH	pH سکوم Cecal pH
آویلامایسین* Avilamycin*	77.83 <sup>a</sup>	78.83 <sup>a</sup>	80.86	80.19	71.19	3.71	6.45
۱۵۰ قسمت در میلیون 150 ppm	72.49 <sup>b</sup>	74.35 <sup>b</sup>	75.69	76.64	70.16	3.72	6.36
۳۰۰ قسمت در میلیون 300 ppm	73.54 <sup>b</sup>	74.52 <sup>b</sup>	78.08	77.72	70.16	3.56	6.85
۴۵۰ قسمت در میلیون 450 ppm	74.00 <sup>b</sup>	75.73 <sup>b</sup>	78.38	78.08	69.64	3.93	6.97
SEM	1.167	0.968	1.049	2.005	1.300	0.12	0.20
P-value	0.0348	0.0230	0.2216	0.1634	0.8395	0.2695	0.1568

SEM: خطای معیار میانگین‌ها

a, b, c: در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند (P<0.05).

a, b, c mean value in a column not sharing a superscript are significantly different (P<0.05).

\* از آویلامایسین به میزان ۱۰ قسمت در میلیون جیره استفاده شد.

\* 10 ppm avilamycin was used in the diet.

اختلاف معنی‌داری بین فراسنجه‌های ریخت‌سنجی مخاط ژژنوم جوجه‌ها شامل ارتفاع پرز، پهنای پرز، عمق کریپت، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و ضخامت لایه ماهیچه‌ای در اثر سطوح مختلف اسانس میخک با آویلامایسین مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ، جدول ۴). چنین مشاهده‌ای مبنی بر تأثیر مشابه سطوح مختلف اسانس میخک و آنتی‌بیوتیک محرک رشد فلاومایسین بر ارتفاع پرز، عمق کریپت و نسبت این دو توسط محمدی و همکاران (۲۰۱۴b) نیز گزارش شده است. آنتی‌بیوتیک‌ها با کاهش پاتوژن‌های آسیب‌رسان به روده و سموم باکتریایی تولیدی آن‌ها مانند آمونیاک و آمین‌ها موجب افزایش سلامتی روده می‌شوند. کاهش آسیب‌های وارده به روده نیاز به بازسازی اپیتلیوم روده را کاهش و بنابراین امکان رشد پرزها را میسر می‌سازد (کراین و جمروز ۱۹۹۶). ظاهراً در این آزمایش

نیز اسانس میخک همانند آویلامایسین موجب بهبود سلامتی روده شده است که احتمالاً این اثر هم به واسطه باکتری‌های مفید این بخش صورت گرفته است. به طوری‌که محمدی و همکاران (۲۰۱۴b) در مطالعه خود افزایش ارتفاع پرز روده را به افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها در اثر اوژنول موجود در میخک ربط داده و بیان داشتند که لاکتوباسیل‌ها می‌توانند موجب توسعه مخاط روده شده و سلامتی آن را حفظ کنند. دلیل احتمالی عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار بین سطوح مختلف اسانس میخک ممکن است با میزان سطوح انتخابی این اسانس در ارتباط باشد. شاید با انتخاب سطوح بالاتر از ۴۵۰ قسمت در میلیون پاسخ‌های متفاوتی به دست می‌آمد.

جدول ۴- تأثیر آویلامایسین و سطوح مختلف اسانس میخک بر ریخت‌سنجی مخاط ژژنوم (بر حسب میکرومتر) جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸ روزگی

Table 4- The effect of avilamycin and different levels of clove essence on jejunal mucosal morphometry ( $\mu\text{m}$ ) of broiler chickens at 28 days of age

تیمار غذایی Dietary treatment	ارتفاع پرز Villus Height	پهنای پرز Villus width	عمق کریپت Crypt depth	ارتفاع پرز به عمق کریپت Villus height to crypt depth	ضخامت لایه ماهیچه‌ای Muscle layer thickness
آویلامایسین* Avilamycin*	1069.1	94.94	176.43	6.06	166.16
۱۵۰ قسمت در میلیون 150 ppm	1104.8	81.83	206.27	5.35	205.5
۳۰۰ قسمت در میلیون 300 ppm	1057.6	89.33	190.05	5.10	172.75
۴۵۰ قسمت در میلیون 450 ppm	1200.3	91.83	189.17	6.11	187.94
SEM	48.75	5.21	16.48	0.45	12.59
P-value	0.2574	0.1202	0.5111	0.3370	0.9006

SEM: خطای معیار میانگین‌ها

a, b, c: در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ).

a, b, c mean value in a column not sharing a superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

\* از آویلامایسین به میزان ۱۰ قسمت در میلیون جیره استفاده شد.

\* 10 ppm avilamycin was used in the diet.

مختلف اسانس میخک غلظت کلسترول کل سرم را کاهش داد ( $P < 0.05$ ). اما، فقط سطوح ۱۵۰ و ۴۵۰ قسمت در میلیون این اسانس در مقایسه با آویلامایسین

همان طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود غلظت گلوکز و تری‌گلیسرید سرم خون جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. استفاده از سطوح



اشاره کرد (اوکنفول و سیدو ۱۹۹۰). اما براساس شواهد موجود به نظر می‌رسد که کاهش غلظت کلسترول سرم خون جوجه‌ها در اثر اسانس میخک با افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌های روده در ارتباط باشد. چرا که نشان داده شده استفاده از آویلامایسین در جیره جوجه‌های گوشتی بر جمعیت لاکتوباسیل‌های روده کوچک تأثیری نداشته (کیم و همکاران ۲۰۱۱) و بر غلظت کلسترول سرم این پرندگان نیز بی‌تأثیر است (صالح ۲۰۱۴). اما در مقابل گزارش شده که استفاده از پودر میخک (آگوستینی و همکاران ۲۰۱۲) و یا اسانس آن (محمدی و همکاران ۲۰۱۴b) موجب افزایش لاکتوباسیل‌های روده می‌شود. افزایش جمعیت این گروه از باکتری‌ها با مکانسیم‌های مختلفی از جمله با تولید بیشتر آنزیم‌های دکونزوگه کننده نمک‌های صفراوی (جونس و همکاران ۲۰۰۴) و افزایش جذب سطحی کلسترول جهت رشد خود (گیلیلاند و همکاران ۱۹۸۵) می‌توانند به دفع بیشتر کلسترول از طریق مدفوع منجر شده و جذب آن را کاهش دهند.

موجب افزایش کلسترول HDL و کاهش کلسترول LDL شدند. کاهش سطح گلوکز سرم خون جوجه‌ها در اثر افزودن اسانس میخک به جیره غذایی توسط محمدی و همکاران (۲۰۱۴b) و در مقابل مشابه یافته‌های این آزمایش عدم تغییر آن توسط اسانس یادشده توسط آزادگان مهر و همکاران (۲۰۱۴a) گزارش شده است. موافق با یافته‌های این آزمایش، کاهش غلظت کلسترول سرم خون جوجه‌ها با افزودن غلظت ۴۵۰ قسمت در میلیون اسانس میخک و عدم تأثیر سطوح این اسانس بر غلظت تری‌گلیسرید توسط آزادگان مهر و همکاران (۲۰۱۴b) هم نشان داده شده است. هرچند که در آن مطالعه سطوح مصرفی اسانس میخک بر کلسترول HDL و LDL تأثیری نداشت. با اینکه مکانسیم‌های مختلفی برای کاهش غلظت کلسترول سرم خون جوجه‌ها در اثر مواد موثره گیاهی گزارش شده که می‌توان به تشکیل کمپلکس‌های نامحلول مواد موثره‌ای همچون ساپونین با کلسترول شیرابه گوارشی و ممانعت از جذب کلسترول با منشاء داخلی و خارجی

جدول ۵- تأثیر آویلامایسین و سطوح مختلف اسانس میخک بر فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی در سن ۳۵ روزگی (برحسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر)

Table 5- The effect of avilamycin and different levels of clove essence on blood parameters of broiler chickens at 35 days of age (mg/dL)

تیمار غذایی Dietary treatment	گلوکز Glucose	تری‌گلیسرید Triglyceride	کلسترول کل Total Cholesterol	کلسترول HDL HDL Cholesterol	کلسترول LDL LDL Cholesterol
آویلامایسین* Avilamycin*	123.87	80.36	170.07 <sup>a</sup>	58.81 <sup>b</sup>	93.18 <sup>a</sup>
۱۵۰ قسمت در میلیون 150 ppm	124.00	81.99	133.59 <sup>b</sup>	65.99 <sup>a</sup>	63.88 <sup>b</sup>
۳۰۰ قسمت در میلیون 300 ppm	120.35	70.52	147.24 <sup>b</sup>	56.83 <sup>b</sup>	84.67 <sup>a</sup>
۴۵۰ قسمت در میلیون 450 ppm	135.32	69.88	143.23 <sup>b</sup>	75.36 <sup>a</sup>	58.42 <sup>b</sup>
SEM	11.252	15.47	7.41	4.90	10.33
P-value	0.9749	0.1994	0.0012	0.0065	0.0053

SEM: خطای معیار میانگین‌ها

a, b, c: در هر ستون میانگین‌هایی که فاقد حروف مشترک هستند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند (P<0.05).

a, b, c mean value in a column not sharing a superscript are significantly different (P<0.05).

\* از آویلامایسین به میزان ۱۰ قسمت در میلیون جیره استفاده شد.

\* 10 ppm avilamycin was used in the diet.

**نتیجه‌گیری کلی**

با توجه به نتایج ارائه شده، نقش اسانس میخک در کاهش کلسترول سرم خون جوجه‌های گوشتی دیده شد. مشاهده عملکرد رشد ضعیف جوجه‌ها و قابلیت هضم مواد مغذی پایین در اثر این اسانس، امکان

جایگزینی آن را به جای آنتی‌بیوتیک محرک رشد آویلامایسین در جیره جوجه‌های گوشتی فراهم نمی‌کند. ممکن است استفاده از سطوح بالاتر این اسانس به پاسخ رشد بهتری بینجامد. از این رو انجام آزمایش‌های بیشتر در این خصوص پیشنهاد می‌شود.

**منابع مورد استفاده**

- Agostini PS, Solà-Oriol D, Nofrarias M, Barroeta AC, Gasa J and Manzanilla EG, 2012. Role of in-feed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology, and morphology in broiler chicken. *Livestock Science* 147: 113–118.
- Association of Official Analytical Chemists, 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Assoc Off Anal Chem, Arlington, VA.
- Azadegan Mehr M, Hassanabadi A, Nassiri Moghaddam H and Kermanshahi H, 2014a. Supplementation of clove essential oils and probiotic on blood components, lymphoid organs and immune response in broiler chickens. *Research Opinion in Animal and Veterinary Sciences* 4: 218-223.
- Azadegan Mehr M, Hassanabadi A, Nassiri Moghaddam H and Kermanshahi H, 2014b. Supplementation of clove essential oils and probiotic to the broiler's diet on performance, carcass traits and blood component. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 4: 117-122.
- Bowles BL and Miller AJ, 1993. Antibotulinal properties of selected aromatic and aliphatic-aldehydes. *Journal of Food Protection* 56: 788-794.
- Bozkurt M, Küçükyılmaz K, Çatli AU and Çinar M, 2008. Growth performance and characteristics of broiler chickens fed with antibiotic, mannan oligosaccharids and dextran oligosaccharide supplemented diets. *International Journal of Poultry Science* 7: 969-977.
- Castanon JIR, 2007. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science* 86: 2466-2471.
- Dalkılıç B and Güler T, 2009. The effects of clove extract supplementation on performance and digestibility of nutrients in broilers. *Firat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veterinerary Dergisi* 23: 161-166.
- Devi KP, Nisha SA, Sakthivel R and Pandian SK, 2010. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *Journal of Ethnopharmacology* 130: 107-115.
- Fenton TW and Fenton M, 1979. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. *Canadian Journal of Animal Science* 59: 631-634.
- Friedewald WT, Levy RI and Fredrickson DS, 1972. Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the ultra-centrifuge. *Clinical Chemist* 18:449–502.
- García V, Catalá-Gregori P, Hernandez F, Megias MD and Madrid J, 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research* 16: 555–562.
- Gilliland SE, Nelson CR and Maxwell C, 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied Environmental Microbiology* 49: 377-381.
- Hashemi, SA and Davoodi H, 2011. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications* 35: 169–180.
- Iji PA, Saki A and Tivey DR, 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *British Poultry Science* 42: 505-513.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Ali MA and Jalaludin S, 1998. Effects of adherent *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers. *Animal Feed Science and Technology* 70:197-209.

- Jones ML, Chen H, Ouyang W, Metz T and Prakash S, 2004. Microencapsulated genetically engineered *Lactobacillus plantarum* 80 (pCBH1) for bile acid deconjugation and its implication in lowering cholesterol. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 1: 61-69.
- Kim GB, Seo YM, Kim CH and Paik IK, 2011. Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers. *Poultry Science* 90:75-82.
- Kollanoor Johny A, Darre MJ, Donoghue AM, Donoghue DJ and Venkitanarayanan K, 2010. Antibacterial effect of trans-cinnamaldehyde, eugenol, carvacrol, and thymol on *Salmonella* Enteritidis and *Campylobacter jejuni* in chicken cecal contents *in vitro*. *Journal of Applied Poultry Research* 19: 237-244.
- Krine AL and Jamroz D, 1996. Effects of feed antibiotic avoparcine on organ morphology in broiler chickens. *Poultry Science* 75: 705-710.
- Krishan G and Narang A, 2014. Use of essential oils in poultry nutrition: A new approach. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 1: 156-162.
- Lee K-G and Shibamoto T, 2001. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry]. *Food Chemistry* 74: 443-448.
- Mohammadi Z, Ghazafari S and Adib Moradi M, 2014a. Effects of clove essential oil on growth performance, carcass characteristics and immune system in broiler chickens. *Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi)* 102: 67-76 (In Persian).
- Mohammadi Z, Ghazafari S and Adib Moradi M, 2014b. Effects of supplementing clove essential oil to the diet on microflora population, intestinal morphology, blood parameters and performance of broilers. *European Poultry Science* 78. Doi:10.1399/eps.2014.51.
- Mokhtar MA, 2011. The effect of dietary clove oil on broiler performance. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5: 49-51.
- Mountzouris KC, Tsirtsikos P, Kalamara E, Nitsch S, Schatzmayr G and Fegeros K, 2007. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science* 86: 309-317.
- Najafi P and Toriki M, 2010. Performance, blood metabolites and immunocompetence of broiler chicks fed diets included essential oils of medicinal herbs. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9: 1164-1168.
- National Research Council, 1994. Nutrient requirements for poultry. National Academy Press, Washington DC.
- Oakenfull DG and Sidhu GS, 1990. Could saponins be a useful treatment for hypercholesterolaemia? *European Journal of Clinical Nutrition* 44: 79-88.
- Saleh AA, 2014. Nigella seed oil as alternative to avilamycin antibiotic in broiler chicken diets. *South African Journal of Animal Science* 44: 254-261.
- Witte W, 2000. Selective pressure by antibiotic use in livestock. *International Journal of Antimicrobial Agents* 16: S19-S24.

## The possibility of replacing clove (*Syzygium aromaticum*) essence for growth promoter, avilamycin, in broiler chickens diet

S M Saadat Mirghadim<sup>1</sup>, M D Shakouri<sup>2\*</sup> and F Mirzaei Aghjeh Gheshlagh<sup>2</sup>

Received: February 24, 2016

Accepted: December 24, 2016

<sup>1</sup>Former MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, Mohaghegh University of Ardabil, Ardabil, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, Mohaghegh University of Ardabil, Ardabil, Iran

\*Corresponding author: mdshakouri@uma.ac.ir

### Abstract

**Introduction:** Due to being safety and possessing beneficial effects on wellbeing, efficiency and gut microbial population of poultry, phytochemicals have been increased attention in recent years (Hashemi and Davoodi 2011). Dried flower bud of clove tree (*Syzygium aromaticum*) is used in food industry as a spice because of its aromatic property. Eugenol is the main component of clove essence, comprises 72 to 90 percent of the essence, and has antioxidant (Lee and Shibamoto 2001) and antimicrobial (Devi et al. 2010) properties. The studies on clove powder (Agostini et al. 2012), essence (Mohammadi et al. 2014a) and extract indicated the positive effect on broiler performance. Although the lack of clove derivatives effect on birds growth response has been also reported (Najafi and Torki 2010). Increased useful bacteria in gut (Agostini et al. 2012), improved nutrients digestibility (Dalkiliç and Güler 2009) and no effect on blood lipid parameters (Azadegan Mehr et al. 2014b) have been illustrated in broilers receiving clove components. Avilamycin, is a growth promoting antibiotic, improves growth performance (Kim et al. 2011) and nutrients digestibility (Saleh 2014) in broiler chickens as well. In few available studies, using clove extract (Dalkiliç and Güler 2009) and essence (Azadegan Mehr 2014b) have been shown similar effect on broiler performance to avilamycin. Hence, the experiment was carried out to investigate the possibility of replacing clove essence to avilamycin and its effect on growth performance, ileal nutrients digestibility, intestinal morphometry and some blood parameters of broiler chickens.

**Materials and methods:** To perform the *in vivo* work, a total of 320 mixed sex broiler chicks (Ross 308) were allocated to 4 dietary treatments with 4 replicates and 20 birds each by employing a completely randomized design. Four experimental treatments including avilamycin (control) and three levels of 150, 300 and 450 ppm clove essence were fed to broilers for a period of 42 days. The birds were reared under standard conditions on deep litter pens with free access to water and feed. The diets based on corn and soybean meal were formulated to meet or exceed the nutrient requirements recommended by the National Research Council (1994), for starter (0 to 21 days) and grower (22 to 42 days) phases (Table 1). Feed intake (FI) and weight gain (WG) of birds were recorded at the end of each feeding phases, then feed conversion ratio (FCR) was calculated. To determine the ileal nutrients digestibility, the birds were fed with diets containing 0.3% chromic oxide for three days, then two birds (one male and one female) from each pen were euthanized by CO<sub>2</sub> asphyxiation on day 28 to collect the ileal contents. The contents were frozen (-20 °C), dried and along with feeds used for subsequent chemical analyses using the standards procedures (AOAC 2000). Chromic oxide content of feed and excreta samples was also measured by Fenton and Fenton (1979) method. Gizzard and cecal samples of the slaughtered birds were also collected to measure their pH values after preparing a suspension (1:10) with distilled water. To determine the morphometric parameters of the jejunal mucosa, a tissue sample (2 cm) of the proximal part was

obtained and fixed in 10% buffered formalin. The samples were processed and embedded in paraffin and stained with haematoxylin and eosin. The morphometric parameters including villus height, villus width, crypt depth and thickness of muscle layer were made from 9 adjacent and vertically orientated villi and crypts (Iji et al. 2001). On day 35, two birds from each replicate were bled from their wing vein to measure the serum glucose, triglyceride, total cholesterol and HDL cholesterol concentrations using the commercial kits. LDL cholesterol level was calculated using the equation suggested by Friedewald et al. (1972). All data were subjected to statistical analyses using SAS (SAS Institute, 2002). The difference between means was compared by Duncan's multiple range test.

**Results and discussion:** Throughout the experimental period, daily FI and WG of broilers were decreased by all levels of clove essence, while the FCR was increased by 150 and 300 ppm ( $P<0.05$ ). Applying 450 ppm essence showed similar FCR to the control (Table 2). The result might be indicated that the better growth response of chickens can be achieved by high essence levels. Such findings using high level of clove essence on WG (Azadegan Mehr 2014b) and FCR (Dalkiliç and Güler 2009) of broilers have been reported. In contrast to our results, Azadegan Mehr (2014b) used clove essence and observed similar effect on bird performance with avilamycin. Such difference might be attributed to different soil, climate, genetics, age and harvesting time of the medicinal plant (Krishan and Narang 2014). The use of clove essence reduced ileal digestibility of dry matter and organic matter, while had no effect on energy, crude fat and crude protein digestibility ( $P<0.05$ ; Table 3). In one study in keeping with our results, Dalkiliç and Güler (2009) observed low digestibility of dry matter using 100 and 200 ppm clove extract compared with avilamycin. In this study similar digestibility of nutrients to avilamycin was seen using 400 ppm clove extract. Hence, it seems that in our study the active components of clove essence were not sufficient to induce better effect. Low ileal organic matter digestibility due to the clove essence means that more substrates are directed to cecal fermentation. So it could be expected that cecal pH value declines because of volatile fatty acids production (Jin et al. 1998). The probable reason for not seeing such a result in this study might be related to low FI to change the pH value of cecal digesta. However, similar to our finding, no changes in pH value of digesta has been reported by eugenol supplementation (Kollanoor Johnny et al. 2010). Jejunal mucosal parameters were not affected by the treatments (Table 4). Such findings have been reported by Mohammadi et al. 2014b using clove essence and flavomycin. Apparently, clove essence induced intestinal health by increasing useful bacteria such as lactobacilli (Mohammadi et al. 2014b). Total cholesterol concentration of serum was declined by all levels of clove essence ( $P<0.05$ ), while increase of HDL cholesterol and decrease of LDL cholesterol levels were significant as the effects of 150 and 450 ppm ( $P<0.05$ ; Table 5). Similar to these results, the decrease of cholesterol and no change of triglyceride by clove essence have been illustrated by Azadegan Mehr (2014b). The probable reason behind the cholesterol reduction might be related to the increase of lactobacilli number in small intestine. Because it is shown that avilamycin has no effect on these bacteria population (Kim et al. 2014) and serum cholesterol level (Saleh 2014). But it has been reported that using clove powder (Agostini et al. 2012) or essence (Mohammadi et al. 2014b) can increase intestinal lactobacilli. An increase in these bacteria population can lead to a decrease in cholesterol digestion and absorption by deconjugation of bile salts (Jones et al. 2004). Moreover, the increase of cholesterol uptake by these bacteria for their growth has been also illustrated (Gilliland et al. 1985).

**Conclusion:** In overall, even though the clove essence can reduce the concentration of serum cholesterol, it cannot be replaced for the growth promoter antibiotic, avilamycin, in broilers diet.

**Keywords:** Clove essence, Avilamycin, Jejunal morphometry, Ileal digestibility, Broiler chickens