مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۹ شماره ۳/ سال۱۳۹۸/ صفحات ۸۷ تا ۱۰۴

بررسی اثر افزودن مخلوط سیاه دانه و پونه با اسید فرمیک پوشش‌دار بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی، مورفولوژی و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های آردی و پلت

سعید خلجی*[۱]

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/٤/۱۰

[۱]استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر

*مسئول مکاتبه: Email:saeedkhlj@gmailcom

چکیده

زمینه مطالعاتی: بررسی اثر مخلوط گیاهان دارویی و اسیدهای آلی در جوجه‌های گوشتی. **هدف**: بررسی اثر افزودن مخلوط سیاه دانه و پونه با اسید فرمیک پوشش دار (فیتوسید)با هدف بهبود سلامتی دستگاه گوارش و عملکرد جوجه-های گوشتی. **روش کار**: آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی شامل٤ تیمار بصورت جیره آردی و ٤ تیمار بصورت جیره پلت در ٤ تکرار و ۷ پرنده در هر واحد آزمایشی انجام شد. تیمارها شامل تیمار کنترل، کنترل به همراه۱ گرم فیتوسید در هرکیلوگرم خوراک، کنترل به همراه ۲ گرم فیتوسید در هرکیلوگرم خوراک و کنترل به همراه ۵۰۰ گرم سالینومایسین در هرکیلوگرم خوراک. افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌ها در سنین مختلف در هر واحد آزمایشی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین فراسنجه‌های خونی در ۲۱ و ٤۲ روزگی، مورفولوژی روده در ٤۲ روزگی و جمعیت میکروبی ایلئوم و سکوم در ۷ و ۲۱ روزگی اندازه گیری شد. **نتایج**: افزودن فیتوسید بطور معنی-دار باعث افزایش وزن بدن و خوراک مصرفی و کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های تغذیه شده با خوراک آردی و پلت شد ($P<۰/۰۱$). افزودن فیتوسید همچنین pH ژژنوم و ایلئوم را بطور قابل توجهی کاهش داد ($P<۰/۰۱$). افزودن فیتوسید در جیره‌های پلت سطح اسید اوریک و ازت اوره‌ای خون جوجه‌های گوشتی را بطور معنی‌داری کاهش داد. افزودن فیتوسید به جیره‌های پلت و آردی منجر به کاهش بسیار معنی‌دار جمعیت باکتری‌های سالمونلا، کلی‌فرم و اشریشیاکلی در ۷ و ۲۱ روزگی در ایلئوم و نیز سکوم جوجه‌های گوشتی شد. فیتوسید بطور معنی‌داری طول پرزهای ایلئوم را افزایش داد. **نتیجه گیری نهایی**: بطورکلی نتایج بدست آمده نشان داد که مخلوط گیاه دارویی با اسید آلی میتواند در سلامتی دستگاه گوارش نقش قابل توجهی داشته باشد.

واژگان کلیدی: اسید فرمیک، ایمنی، پونه و سیاه دانه، جوجه گوشتی، سلامتی روده، فیتوسید

مقدمه

در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های سنتتیک و مواد شیمیایی غیرآلی افزوده شده به جیره‌های جوجه‌های گوشتی، ترکیبات و مشتقات گیاهی موادی طبیعی و غیرسمی هستند که هیچگونه باقیمانده مضر در گوشت طیور بر جا نمی‌گذارد (دایاز-سانچز و همکاران ۲۰۱۵). براساس گزارشات موجود، افزایش روزافزون ناهنجاری‌های مادرزادی، وقوع بیماری‌های مزمن، عدم تاثیر داروهای پادزیست، فزونی پدیده مقاومت میکروبی و صدها عارضه کوچک و بزرگ دیگر که از آن‌ها به‌عنوان معضل-های بهداشت کنونی جوامع بشری یاد می‌شود، به مصرف بی‌رویه همین مواد نسبت داده شده است. به طوری‌که، امروزه استفاده از افزودنی‌ها و محرک‌های رشد جهت افزایش راندمان تولید و بهره‌وری بیشتر در پرورش جوجه‌های گوشتی امری اجتناب ناپذیر است. در طی سالیان اخیر به‌دلیل ممنوعیت مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان افزودنی، غذایی در دام و طیور به کارگیری افزودنی‌هایی نظیر اسیدهای آلی، گیاهان دارویی، پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و سینبیوتیک‌ها به عنوان راهکارهایی جهت پر نمودن خلاء ناشی از عدم مصرف آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد مورد توجه صنعت دامپروری و به خصوص صنعت پرورش طیور قرار گرفته است.

یکی از راهکارهای پیشنهادی در این رابطه استفاده از مشتقات گیاهان دارویی (فیتوبیوتیک‌ها) از قبیل اسانس‌ها و چاشنی‌های گیاهی است. بر اساس گزارش‌های موجود بیش از ۲۳۰۰ گونه گیاه داروئی با خواص درمانی متعدد در کشور وجود دارد. بطورکلی ترکیبات فعال موجود در گیاهان داروئی دارای خواص مطلوب به چند دسته تقسیم می‌شوند که از آن‌ها می‌توان به فنول‌ها، پلی فنول‌ها (مانند فنول‌های ساده، اسید فنولیک، کوئینون‌ها، فلاوان‌ها، تانین-ها و کومارین‌ها)، ترپنوئیدها، اسانس ها، آلکالوئیدها، لکتین‌ها و پلی‌پپتیدها اشاره کرد (کوان ۱۹۹۹). خواص ضدمیکروبی این عصاره‌ها در محیط آزمایشگاهی بخوبی تعیین شده است. بعنوان مثال عصاره سینامون از رشد هلیکوباکترپیلوری، ای‌کولای، انتروکوکوس‌ها، استافیلوکوکوس‌ها و سالمونلا ممانعت می‌کند که خواص ضد میکروبی این عصاره مربوط به سینامالدئید، اگونول و کارواکرول موجود در آن می‌باشد (چانگ و همکاران ۲۰۰۱). همچنین ترکیبات فنولیکی کارواکرول و تیمول موجود در اسانس‌های گیاهی اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی قابل توجه‌ای نشان داده‌اند (باسیلیکو و باسیلکو ۱۹۹۹).

یکی از این گیاهان دارویی سیاه‌دانه می‌باشد که به شاخه *Magnoliophyta*، زیر شاخه *Magnoliophytina*، رده گیاهان دولپه‌ای حقیقی، زیررده آلاله‌ها، راسته *Ranunculales*، خانواده *Ranunculaceae* و جنس سیاه-دانه (*Nigella*) تعلق دارد. دانه‌های *Nigella sativa* بعنوان سیاه دانه یا *Black cumin* شناخته شده‌اند که حاوی ۳۰ تا۴۰ درصد ماده روغنی و ۰/۵ تا ۱/۵ درصد اسانس با بوی نامطبوع و قندهای مختلف، مواد صنعتی و ساپونوئیدی است. گیاه سیاه‌دانه علاوه برخواص درمانی در بیماری‌های گوارشی، تنفسی و کلیوی دارای خواص ضد تشنجی بوده به همین دلیل به نظر می‌رسد در درگیری کلیوی به هنگام برونشیت اثرات مفیدی برای جوجه داشته باشد. گیاه سیاه‌دانه به دلیل داشتن ماده‌ای موسوم به تیموکوئینون در دانه‌های خود دارای اثرات ضدتشنجی است. نتایج آزمایش‌های مختلف به عمل آمده نشان داد که گیاه سیاه‌دانه می‌تواند موجب تاخیر در زمان شروع تشنج و کاهش مدت تشنج شود. همچنین دانه‌های آن، اثر ضدتوموری و ضدباکتریایی داشته و ممکن است اثر ضد نفخ آن مربوط به داشتن اثر ضدباکتریایی آن

باشد (نایر و همکاران ۲۰۰۵). ماده‌ای به نام نیژلون از اسانس سیاه‌دانه استخراج می‌شود. دانه این گیاه اثر ضد کرم، مسهل و زیاد کننده ترشحات شیر دارد. از دانه‌های آن برای مصارف مذکور و دفع گازهای معده و بیماری-های نزله‌ای دستگاه تنفسی استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده است که استفاده از سیاه‌دانه باعث افزایش هماتوکریت و هموگلوبین و کاهش غلظت کلسترول، تری گلیسرید، گلوکز و پلاکت می‌شود. سیاه‌دانه می‌تواند با بلوکه کردن کانال‌های کلسیمی باعث شل شدگی و انبساط نایژه‌ها شده و تنگی نفس را از بین می‌برد (ای ال–طاهیر و همکاران ۱۹۹۳). مطالعات روی جوجه‌های گوشتی نشان داد که افزودن سیاه دانه به جیره جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش سلامتی دستگاه گوارش و وزن گیری جوجه‌های گوشتی شد (خلجی و همکارن ۲۰۱۱).

پونه (*Mentha pulegium*) گیاهی از خانواده لابیاتا می-باشد که شامل ۲۰ گونه است و در سراسر دنیا پراکنده شده است (زرگاری ۱۹۹۰). پونه یکی از گونه‌های نعناع بوده که به‌طور معمول به پنیرویال مشهور است. رویشگاه طبیعی این گیاه در اروپا، شمال افریقا و در خاورمیانه می‌باشد. گونه‌های خانواده لابیاتا همانند آویشن و پونه به علت دارا بودن مقادیر بالای مونوترپن-ها، تیمول و کارواکرول خاصیت آنتی اکسیدانی از خود نشان می‌دهند. مطالعات (شاملو و همکاران ۲۰۱٦) نشان داده‌اند که اسانس پونه موجب بهبود سلامتی دستگاه گوارش بویژه رشد پرزهای ایلئوم شده و نیز دارای خواص آنتی اکسیدانی بوده که موجب کاهش قابل توجه غلظت مالون دی‌آلدئید و اکسید نیتریک سرم جوجه‌های می‌گردد. همچنین فورت و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که افزودن عصاره آبی پونه، وزن جوجه‌ها و ماندگاری گوشت را بهبود داد.

اسید فرمیک یا متانوئیک اسید که به جوهر مورچه معروف است، ساده‌ترین عضو گروه کربوکسیلیک اسیدها می‌باشد. فرمول شیمیایی آن HCOOH بوده و در طبیعت در نیش حشراتی مانند مورچه و زنبور یافت می‌شود. همچنین ترکیب عمده ماده گزش‌زا در برگ گزنه می‌باشد. ریشه لغوی فرمیک اسید از نام لاتینی مورچه (Formica) گرفته شده است. زیرا این ترکیب اولین بار از تقطیر تخریبی مورچه به دست آمد. اسید فرمیک، مایعی بی‌رنگ با بوی تند و بخاردار می‌باشد که چشم را می-سوزاند. هم به عنوان اسید و هم بعنوان آلدئید عمل می-نمایند. اسید فرمیک تجارتی در دو نوع ۸۵ و ۹۰ درصد به بازار عرضه می‌شود. اسیدفرمیک در صنایع غذایی، صنایع نساجی، چرم‌سازی، صنایع دام و طیور وصنایع شیمیایی کاربرد وسیعی دارد. تقریبا اسیدهای آلی جزء اولین ترکیباتی بودند که بعنوان جایگزین‌های آنتی بیوتیک‌ها بکار برده شدند و استفاده از آن‌ها نتایج قابل توجهی را در پی داشت. بررسی مطالعات گذشته نشان می‌دهد که استفاده از اسید فرمیک میکروکپسوله (ون ایمرسیل و همکاران ۲۰۰٤) همچنین افزودن اسید فرمیک مایع به آب آشنامیدنی جوجه‌های گوشتی تاثیر بسزایی در کاهش جمعیت سالمونلا دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی دارد. همچنین مطالعات گوناگونی نشان داده است که افزودن اسیدهای آلی به آب جوجه‌های گوشتی منجر به کاهش معنی‌دار سالمونلا در لاشه آماده طبخ جوجه-های گوشتی نیز شد (بیرد و همکاران ۲۰۰۱؛ ایزت و همکاران ۱۹۹۰؛ حمید و همکاران ۲۰۱۸).

در بسیاری از مطالعات گذشته تاثیر ترکیبات گیاهی و اسیدهای آلی بطور جدا از هم مورد ارزیابی قرار گرفته است، با این وجود مطالعات انجام یافته در رابطه با اثرات این ترکیبات در جیره‌هایی که فرآوری می‌شوند (دان پلت) بسیار نادر است. بررسی‌های میدانی نشان می‌دهد که

اکثریت قریب به اتفاق مزارع طیور گوشتی کشورحداقل در پاره‌ای از زمان‌های دوره پرورش درگیر مشکلات دستگاه گوارش هستند که منجر به دفع دان هضم نشده به بستر می‌گردد. از طرف لزوم حذف یا حداقل‌سازی مصرف آنتی بیوتیک‌های محرک رشد در کشور، نیاز به بررسی مواد جایگزین را بیش از پیش مطرح می‌سازد. در مطالعه حاضر از بین اسیدهای آلی مورد استفاده در صنعت طیور، اسید فرمیک به‌دلیل داشتن pK پائین‌تر نسبت به سایر اسیدهای آلی و تاثیر قابل توجه آن بر pH دستگاه گوارش و گیاهان پونه و سیاه‌دانه با توجه به اثرات قابل توجه آنها بر عملکرد طیور بویژه به لحاظ سلامتی دستگاه گوارش انتخاب شدند. همچنین با توجه به رشد روزافزون تعداد کارخانجات فرآوری دان طیور و ممنوعیت افزودن آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد و ضدکسیدیوزها از طرف سازمان دامپزشکی کل کشور در داخل دان، و نیز با نظر به اینکه این گیاهان و اسید فرمیک به‌میزان قابل ملاحظه‌ای در داخل کشور تولید میگردد، آزمایش کنونی طراحی گردید تا بتوان از نتایج آن در صنعت فرآوری خوراک بهره جست و با افزودن توام این مواد به سلامتی دستگاه گوارش و افزایش بهره وری خوراک مصرفی کمک نمود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سالن تحقیقات طیور دانشگاه ملایر انجام پذیرفت. آزمایش در واحدهای آزمایشی با ابعاد ۱۰۰ × ۱۰۰ سانتی متر بود. برای ۱۰ روز اول از دانخوری سینی و آبخوری کله قندی در هر واحد آزمایشی استفاده شد و بعد از آن آبخوری و دانخوری آویز اتوماتیک استفاده شدند. روشنایی سالن توسط ۳۰ لامپ ۶۰ وات، درارتفاع ۱/۴۰ متر از سطح زمین و تعبیه شده در سقف تأمین گردید. روشنایی ۲۴ ساعته در طول مدت آزمایش اعمال شد. برای انجام این آزمایش تعداد ۲۲۴ قطعه جوجه یک روزه نر از سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزن ۱±۴۰ گرم از یک گله مادر ۳۹ هفته و بر اساس رشد پرها در سن یک روزگی تعیین جنسیت و انتخاب شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی شامل۴ تیمار بصورت جیره آردی و ۴ تیمار بصورت جیره پلت در ۴ تکرار و ۷ پرنده در هر واحد آزمایشی انجام شد. ترکیب پونه (۴۰ درصد)، سیاه دانه (۴۰ درصد) و اسید فرمیک پودری (۲۰ درصد) با یک میکسر افقی ۱۰۰ کیلو تمام استیل پارویی به مدت ۷ دقیقه مخلوط و بر اساس تیمارهای زیر تحت عنوان فیتوسید به جیره کنترل افزوده شد. تیمارها شامل تیمار کنترل، کنترل به همراه۱ گرم فیتوسید در هرکیلوگرم خوراک، کنترل به همراه ۲ گرم فیتوسید در هرکیلوگرم خوراک و کنترل به همراه ۵۰۰ گرم سالینومایسین درکیلوگرم خوراک. جیره-های دوره آغازین تا سن ۲۱ روزگی در اختیار جوجه‌ها قرار داده شد و پس از سن ۲۱ روزگی جیره‌های دوره رشد در اختیار جوجه‌ها قرار داده شد(جدول ۱). برای تولید جیره‌های آزمایشی، مقدار یک تن از هر تیمار با استفاده از یک میکسر افقی ریبونی به ظرفیت ۲ تن به مدت ۶ دقیقه مخلوط گردید. سپس جیره‌های هر تیمار به دو قسمت مساوی ۵۰۰ کیلو تقسیم شد. قسمت اول به شکل آردی مورد استفاده قرار گرفت و قسمت دوم با استفاده از یک دستگاه پلت ماتادور (model, SZLH35, Matador, Denmark) در دمای ۷۹ درجه و به مدت ۴۰ ثانیه با دای ۲ میلی متر (برای ۱تا ۲۱ روزگی) و دای ۳ میلی متر (۲۲ تا ۴۲ روزگی) در شرکت فرازدانه آوند پلت گردید. در تمام طول دوره آزمایشی، دان و آب به طور آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. جوجه‌ها به مدت ۴۲ روز جیره‌های آزمایشی را دریافت کردند. در طول آزمایش میزان خوراک مصرفی و وزن جوجه‌ها و ضریب تبدیل بطور هفتگی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. هر گونه

تلفات ثبت شده و جوجه‌های تلف شده وزن کشی شدند. در پایان آزمایش جوجه‌ها به طور گروهی با استفاده از ترازوی با دقت ۵ گرم توزین و دان مصرفی هر واحد آزمایشی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی در سن ٤٢ روزگی، بطور تصادفی دو پرنده از هر واحد آزمایشی انتخاب و از سیاهرگ بال خون‌گیری به عمل آمد.خونگیری در ساعت ۹ صبح انجام پذیرفت و پرنده‌ها ٤ ساعت قبل از خونگیری از غذا محروم شدند. میزان تری‌گلیسرید، کلسترل، HDL، VLDL، LDL به روش رنگ سنجی و با استفاده از دستگاه تمام اتوماتیک (Hitachi 717، آلمان) اندازه گیری شد. از کیت شرکت بایونیک (شماره ١٤٠-٣٣٥) برای اندازه گیری‌ها استفاده شد. برای تهیه سرم، خون از سیاهرگ بال به داخل لوله-های فاقد مواد ضد لخته گرفته شد و سپس نمونه های اخذ شده سانتریفیوژ (g ×۱۷۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای اتاق) شد و سرم‌ها در درون میکروتیوب‌ها جمع آوری گردید. اوره سرم با استفاده از روش فوساتی و همکاران (۱۹۸۰) و اسید اوریک به روش شرح داده شده توسط متیس و همکاران (١٩٦٠) و با استفاده ازکیت شرکت پارس آزمون اندازه گیری شد. عیار سرمی نیوکاسل و آنفلوانزا خون پرندگان در سن ٣٦ روزگی به روش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) تعیین شد.

در سن ٤٢ روزگی ۲ قطعه جوجه از هر تکرار با توجه به میانگین وزن هر قفس انتخاب، بطور انفرادی وزن کشی و کشتار شد. بعد از پرکنی، وزن لاشه اندازه‌گیری و در نهایت لاشه‌ها تفکیک شده، وزن قطعات، طول قسمت‌های مختلف روده مورد اندازه‌گیری قرار گرفت، همچنین برای اندازه‌گیری جمعیت میکروبی از ایلئوم و سکوم پرندگان در سنین ۷ و ۲۱ نمونه برداری صورت گرفت. یگ گرم از محتویات ایلئوم و یا سکوم در کنار شعله برداشته و از نمونه‌ها رقت تهیه شد. برای شمارش لاکتوباسیل، کلی فرم و اشریشیاکلی، رقت های 10^{-4}، 10^{-5} و 10^{-6} با استفاده از سرم فیزیولوژی تهیه گردید. در نهایت ۰/۱ میلی لیتر از رقت‌ها در پلیت به همراه Plate، محیط کشت McConkey آگار (جهت شمارش کلی‌فرم‌ها) با روش Surface Plate و محیط کشت EMB (جهت شمارش اشریشیاکلی) با روش Surface Plate ریخته شد. سپس پلیت‌ها در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ٢٤ تا ٧٢ ساعت بطور هوازی جهت شمارش کلی‌فرم‌ها و اشریشیاکلی انکوبه شدند. همچنین در این آزمایش شمارش سالمونلا با محیط کشت Xylose Lysine Deoxycholate modified agar نیز صورت گرفت (بریانت و همکاران ۱۹۵۳). همچنین pH بخش‌های مختلف دستگاه گوارش با استفاده از pHمتر سیار (Testo 206، آلمان) اندازه‌گیری شد.

بررسی مورفولوژی روده

دو پرنده به ازای هر تیمار جهت بررسی مورفولوژی روده در ٤٢ روزگی مورد استفاده قرار گرفت. یک سانتی‌متر از قسمت میانی ایلئوم جدا شده و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد. سپس این قسمت در پارافین قرار داده شد وبعد از سرد شدن پارافین ۸ مقطع ۲ میکرومتری با دستگاه میکروتوم (Easy cut 202، ایتالیا) از هر نمونه روی لام تهیه شده و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین برای بررسی بیشتر آماده شدند (ساکاماتو و همکاران 2000). پارامترهای اندازه‌گیری شده شامل طول پرز (میکرومتر) و عمق کریپت (میکرمتر) بودند. با استفاده از میکروسکوپ نوری (Motic-SMZ-140، آلمان) با بزرگ نمایی ۱۰ و دوربین عکاسی دیجیتال که بر روی میکروسکوپ نصب می‌شد. عکس‌های مختلفی به ازای هر مقطع برای هر پارامتر تهیه گردید، سپس عکس‌ها با استفاده از نرم افزار *Image tool* برای تعیین طول پرز و عمق کریپت مورد ارزیابی قرار گرفت. اندازه پرزهای مختلف در عکس بدست آمد و میانگین آن‌ها بصورت یک

داده بیان شد. طول پرز از ابتدای نوک پرز تا دره بـین دو پرز و عمق کریپت از دره بین دو پرز تا غشـای قاعـده ای جانبی جداکننده پرزها در نظر گرفته شد.

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های پایه استفاده شده در آزمایش.

Table 1- Ingredient and composition of experimental diet used in the study

Ingredient (g/kg)	0 to 21 d	22 to 42 d
Corn	534.7	591.5
Soybean meal (42%)	382	327
Corn oil	26	30
DCP	20	17
Limstone	9	8
Salt	2	2
NaHCO3	1	1
Vitamin premix[1]	2.5	2.5
Mineral premix[1]	2.5	2.5
DL-Methionine	3.1	2
L-Lysine-HCL	2.2	1.5
Bentonite	15	15
Total	1000	1000
Calculated nutrient composition		
Metabolizable energy (kcal/kg)	2920	3017
CP %	21.7	19.5
Ca %	1	0.9
Available phosphorus %	0.5	0.43
Digestible Lys %	1.28	1.05
Digestible Met%	0.57	0.49
Digestible Met+Cys %	0.91	0.82

1Vitamin and mineral mix supplied the following per kilogram of diet: vitamin A, 11,000 IU; vitamin D3, 5000 IU; vitamin E, 80 mg; vitamin K3, 3 mg; vitamin B1, 3 mg, vitamin B2, 5.7 mg; vitamin B6, 2 mg; vitamin B12, 0.024 mg; nicotinic acid, 55 mg; folic acid, 0.5 mg; pantothenic acid, 12 mg; choline chloride, 250 mg; Mn, 120 mg; Zn, 110 mg; Fe, 20 mg; Cu, 15 mg; Se, 0.22 mg; I, 0.5 mg; and Co, 0.5 mg.

آنالیز آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SAS رویه GLM[1] مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه تفاوت میانگین‌های اثرات اصلی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. برای مقایسه جمعیت میکروبی سکوم از داده‌های مربوطه لگاریتم بر پایه ۱۰ گرفته شد.

نتایج و بحث

افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی

نتایج مربوط به افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌ها در سنین مختلف در جدول ۲ آورده شده است. افزودن فیتوسید بطور معنی‌داری باعث افزایش وزن بدن وکاهش معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های تغذیه شده با خوراک آردی شد (P<۰/۰۱). نتایج بدست آمده در جوجه‌های تغذیه شده با خوراک پلت افزایش معنی‌دار خوراک و وزن بدن در هفته اول را نشان داد (P<۰/۰۱). نتایج بدست آمده نشان داد که تیمارهای حاوی فیتوسید نسبت به تیمار شاهد فاقد افزودنی و نیز تیمار حاوی آنتی بیوتیک سالینومایسین ضریب تبدیل پایین‌تری دارند (جدول ۳). مطالعات انجام یافته روی جوجه‌های گوشتی نشان داده است که اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه و تیموکوئینون موجود در پونه و سیاه دانه باعث بهبود سلامت دستگاه گوارش و افزایش قابلیت هضم مواد مغذی گردیده و در نتیجه از این طریق باعث بهبود افزایش وزن در جوجه‌های گوشتی می‌گردد (کرویسمایر و همکاران ۲۰۰۸). آزمایش حاله و همکاران (۱۹۹۹) نشان داد که سیاه‌دانه دارای اثرات مثبتی روی افزایش وزن جوجه‌های گوشتی می‌باشد. همچنین در آزمایشی آل-هومیدان و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که افزودن سیاه دانه تا ۱۰ درصد هیچ تاثیر منفی روی عملکرد جوجه‌های گوشتی نداشته و افزایش وزن آن‌ها در مقایسه با جیره کنترل را افزایش داد. فورت و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که افزودن ۰/۲ گرم عصاره پونه در هرکیلوگرم باعث افزایش معنی دار وزن بدن و بهبود خواص آنتی اکسیدانی گوشت جوجه ها گردید. وجود اسیدهای آلی مانند فرمیک پوشش‌دار در فیتوسید اثرات این ترکیب برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها را افزایش داده و منجر به داشتن دستگاه گوارش سالم و در نتیجه بهبود وزن و کاهش ضریب تبدیل جوجه‌های گوشتی می‌گردد. مطالعات مختلف در رابطه با اسیدی کردن دان و یا آب جوجه‌های گوشتی با استفاده از اسیدهای آلی نشان داده‌اند که این ترکیبات با بهبود ترشح آنزیمی از پانکراس، افزایش Turnover سلول‌های روده (دینبر و بوتین ۲۰۰۲)، افزایش ظرفیت پروتئولیزی و بهبود قابلیت هضم پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه (سیمئون و همکاران ۲۰۱۰) و نیز کاهش جمعیت اشریشیاکلی روده کوچک، عملکرد طیور را بهبود می‌بخشند.

[1] General linear model

جدول ۲- تاثیر فیتوسید بر عملکرد جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک آردی در سنین مختلف

Table 2. Effect of Phytocid on broiler performance fed with mash diets at different ages.

Treatments	7 d			21 d			42 d		
	BW [1]	FI [1]	FCR [1]	BW	FI	FCR	BW	FI	FCR
Control	152	129	0.84	669.8^{b}	920	1.37^{a}	1758^{b}	3500	1.99^{a}
Phytocid (1 g/kg)	156	117	0.8	718.7^{a}	849	1.24^{b}	1870^{a}	3530	1.88^{ab}
Phytocid (2 g/kg)	165	123	0.79	722.8^{a}	1003	1.38^{a}	1920^{a}	3501	1.84^{b}
Salinomycin (0.5 g/kg)	155	125	0.84	707.9^{ab}	950	1.34^{a}	1938^{a}	3562	1.83^{b}
SEM	3.7	6.7	0.02	11.2	60	0.03	30	74	0.03
P-Value	4.10	0.68	0.73	0.05	0.5	0.05	0.001	0.23	0.01

^{abc} Means within the same line with different superscripts differ significantly (P<0.05).

[1] 1BW = BW gain (g); FI = feed intake (g); FCR = feed conversion ratio (g of feed/g of BW gain).

جدول۳- تاثیر فیتوسید بر عملکرد جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک پلت در سنین مختلف

Table 3. Effect of Phytocid on on broiler performance fed with pellet diets at different ages.

Treatments	7 d			21 d			42 d		
	BW [1]	FI [1]	FCR [1]	BW	FI	FCR	BW	FI	FCR
Control	162^{c}	135	0.83	690^{c}	916	1.33	2670	4546	1.70^{a}
Phytocid (1 g/kg)	178^{b}	158	0.89	746^{b}	930	1.25	2731	4547	1.66^{b}
Phytocid (2 g/kg)	190^{a}	159	0.78	815^{a}	993	1.22	2793	4515	1.64^{b}
Salinomycin (0.5 g/kg)	177^{b}	138	0.82	793^{a}	934	1.17	2720	4661	1.67^{ab}
SEM	3	7	0.03	8.5	38	0.05	80	133	0.03
P-Value	0.01	0.09	0.13	0.001	0.5	0.36	0.86	0.85	0.03

^{abc} Means within the same line with different superscripts differ significantly (P<0.05).

[1] BW = BW gain (g); FI = feed intake (g); FCR = feed conversion ratio (g of feed/g of BW gain).

pH قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش

افزودن فیتوسید pH ژژنوم (۵/۴۳ در مقایسه با ٦/١٤ تیمار کنترل) و ایلئوم (۵/۷۱ در مقایسه با ٦/٦٣ تیمار کنترل) را بطور قابل توجهی کاهش داد ($P<۰/۰۱$) ولی تاثیری روی pH سایر قسمت‌های دستگاه گوارش نداشت. اسید فرمیک موجود در فیتوسید باعث کاهش معنی‌داری در pH خوراک درون چینه‌دان شده، اما تغییری در سنگدان و روده دیده نشد. گزارش شده که استفاده از پنج منبع اسیدهای آلی (فوماریک، فرمیک، پروپیونیک، سیتریک و استیک) که همه آن‌ها تاثیر معنی‌داری در کاهش pH خوراک داشته ولی از بین آن‌ها، اسید فرمیک و اسید سیتریک بیشترین تاثیر را بر روی pH خوراک را دارا بودند (حمید و همکاران ۲۰۱۸). دوک (۱۹۸٦) نشان داد که روغن بالا در جیره باعث افزایش ماندگاری مواد هضمی در سنگدان شده و با تحریک گیرنده‌های مکانیکی باعث افزایش تولید اسید کلریدریک در پیش معده شده و pH سنگدان را کاهش می‌دهند. مطالعات نشان می‌دهد که وجود چربی بالا در مواد هضمی سنگدان باعث افزایش مدت زمان ماندگاری مواد هضمی در سنگدان شده و pH آن را کاهش می‌دهد، همچنین این مواد باعث کاهش pH بخش‌های پائین‌تر روده نیز می‌شوند (گونزالز-آلواردو و همکاران ۲۰۰۷). در مطالعه کنونی با توجه به اینکه روغن موجود در سیاه‌دانه (۳۲ درصد) فیتوسید بالا بود انتظار می‌رفت که pH سنگدان کاهش یابد، در صورتی که عکس این مطلب مشاهده گردید. هر چند اثر آن بر pH سایر قسمت‌های دستگاه گوارش با سایر مطالعات همخوانی داشت.

فراسنجه‌های خونی

نتایج مربوط به فراسنجه‌های خونی اعم از کلسترول، HDL، LDL، VLDL، نسبت LDL به HDL و هموگلوبین و هماتوکریت در جداول ٤ و٥ آورده شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که استفاده از فیتوسید در جیره‌های پلت سطح اسید اوریک و ازت اوره‌ای خون جوجه‌های گوشتی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ولی تاثیری در سطح اسید اوریک و ازت اوره‌ای خون جوجه‌های تغذیه شده با دان آردی نداشت (جدول ٤ و ٥). این نتایج نشان می‌دهد که وجود فیتوسید در جیره‌ها بر قابلیت هضم مواد مغذی بخصوص اسیدهای آمینه و پروتئین موثر بوده و با افزایش قابلیت هضم پروتئین و تعادل بهتر اسیدآمینه‌ها در خون بار ازت اضافی کاهش یافته و تولید اسید اوریک و اوره و دفع ازت به بستر افت می‌نماید. فنگ و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که هر عاملی که باعث بهبود قابلیت هضم اسیدهای آمینه و پروتئین شود می‌تواند منجر به تعادل بهتر اسیدهای آمینه در خون شده و در نتیجه اکسیداسیون اسیدهای آمینه و تولید اسید اوریک را کاهش دهد. مطالعات نشان داده‌اند که فرآوری حرارتی دان باعث کاهش بار میکروبی آن شده و اثر اسیدهای آلی بر قابلیت هضم مواد مغذی در جیره‌های پلت در مقایسه با جیره‌های آردی بیشتر نمایان می‌شود (گودرزی بروجنی و همکاران ۲۰۱٤). بنابراین وجود چنین ترکیبی در جیره نه تنها باعث بهتر شدن ضریب تبدیل و رشد جوجه‌های می‌شوند، بلکه از طریق کاهش دفع ازت به بستر تولید آمونیاک در سالن‌های مرغداری را نیز کم کرده و در بهبود هوای سالن‌های پرورش جوجه گوشتی نیز می‌تواند کارامد واقع گردد. در جیره‌های آردی نیز افزودن فیتوسید به جیره سطح فسفر خون را بطور قابل توجهی افزایش داد (جدول ٥). نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن فیتوسید باعث کاهش معنی دار سطح کلسترول و تری‌گلیسیرید خون در جوجه‌های تغذیه شده با دان آردی شد (جدول ٥). آل-بیتاوی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که جایگزینی باسیتراسین با دانه‌های له شده سیاه دانه منجر به کاهش چشمگیر سطح

کلسترول و تری‌گلیسرید خون جوجه‌ها شد. برونتون (۱۹۹۹) بیان کرد که کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید خون جوجه‌های تغذیه شده با گیاهان دارویی در نتیجه تاثیر تیموکوئینون می‌باشد که سنتز چربی در سلول‌های کبد و نیز جذف چربی از روده را کاهش می‌دهد.

جمعیت میکروبی سکوم

نتایج مربوط به اثر افزودن فیتوسید بر جمعیت میکروبی سکوم جوجه‌ها در سنین ۷ و ۲۱ روزگی در جداول ٦ و ۷ نشان داده شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن فیتوسید به جیره جوجه‌های تغذیه شده با جیره پلت منجر به کاهش بسیار معنی‌دار جمعیت باکتری‌های سالمونلا، کلی فرم و اشریشیاکلی در ۷ و ۲۱ روزگی در ایلئوم و نیز سکوم شد. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن فیتوسید نسبت به تیمار کنترل جمعیت سالمونلا، کلی فرم و اشریشیاکلی را در روده به شدت کاهش داد و نتایج بدست آمده با تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک قابل مقایسه بود. این نتایج نشان می‌دهد که اسیدهای آلی و ترکیبات فنولی موجود در فیتوسید اثر بازدارندگی قوی در رابطه با باکتری‌های مضر روده داشته و از این حیث می‌تواند یک ترکیب بسیار مناسب به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک مطرح گردد. بطور مشابهی در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های آردی نیز افزودن فیتوسید منجر به کاهش جمعیت سالمونلا، کلی فرم و اشریشیاکلی در ۷ و ۲۱ روزگی در ایلئوم و سکوم شد ($P<۰/۰۵$). هدایتی و همکاران (۱۳۹٦) نشان دادند که استفاده از گیاهان دارویی باعث کاهش جمعیت میکروبی روده می‌گردد. مطالعات انجام یافته در رابطه با اثرات ضد میکروبی گیاهان داروئی نشان داده‌اند که وجود ترکیبات فعال مثل کارواکرول (کروس و همکاران ۲۰۰۷) باعث کاهش اشریشیاکلی و کلستریدیوم پرفیرنجنس، تیمول (میتسچ و همکاران ۲۰۰٤) باعث کاهش ای. کولی و کلستریدیوم پرفیرنجنس و افزایش جمعیت بیفیدوباکتر و لاکتوباسیل و سینامن (تیمبرمونت و همکاران ۲۰۱۰) منجر به کاهش جمعیت کلستریدیوم‌ها در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی می‌شود. این کاهش رشد جمعیت باکتریایی در سنین اولیه جوجه یعنی در سن ۷ روزگی بسیار قابل توجه بود. با توجه به اهمیت کنترل جمعیت میکروبی روده و تثبیت جمعیت میکروبی روده در ١٤ روز اولیه زندگی جوجه‌های گوشتی استفاده از این ترکیب می‌تواند به‌طور قابل توجهی در کنترل رشد جمعیت میکروبی روده تاثیر گذار بوده و مصرف آنتی بیوتیک در طول دوره پرورش را تا حدود زیادی کاهش دهد. در همین زمینه لوپز-لوتز و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که گیاهان دارویی به-واسطه اسیدهای چرب فرار مانند ۱ و ۸ سینئول‌ها، کامفرها (که ۱۱۰ نوع از آن‌ها اندازه‌گیری شده است) و ترپن‌های اکسیژنه که بر حسب نوع گونه نیز متفاوت هستند از رشد قارچ‌ها و باکتری‌ها بخصوص اشریشیاکلی جلوگیری می‌کند.

جدول۴- تاثیر فیتوسید برفراسنجه های خونی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک پلت در ۴۲ روزگی

Table 4-Effect of Phytocid on blood characteristics of chicks fed with pellet diets on d 42

Treatments	Cholesterol	Triglycerides	HDL	LDL	LDL/HDL	VLDL	Hemoglobin	Hematocrit	SUN[1]	Uric Acid
	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)		(mg/dL)	(g/dL)	%	%	(mg/dL)
Control	106	76	63	36	0.5	15	11.05	34.5	1.6[a]	4.35
Phytocid (one g/kg)	71	41	38	23	0.75	8	10.60	34	0.4[b]	2.85
Phytocid (2 g/kg)	113	107	61	38	0.57	21	11.27	35	0.27[b]	3.07
Salinomycin (0.5 g/kg)	117	124	59	41	0.65	24	10.50	32	0.4[b]	4.7
SEM	16	21	11	6	0.13	4	0.39	1.4	0.13	0.82
P-Value	0.27	0.12	0.45	0.37	0.6	0.12	0.46	0.59	0.002	0.36

[abc] Means within the same line with different superscripts differ significantly (P<0.05).[1]SUN=Serum Urea Nitrogen

جدول ۵- تاثیر فیتوسید برفراسنجه های خونی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک آردی در ۴۲ روزگی

Table 5- Effect of Phytocid on blood characteristics of chicks fed with mash diets on d 42

Treatments	Cholesterol	Triglycerides	HDL	LDL	Calcium	Phosphorus	Hemoglobin	Hematocrit	SUN[1]	Uric Acid
	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(g/dL)	%	%	(mg/dL)
Control	130[ab]	92[ab]	60	48	8.5	4.67[b]	11.9	30	2.25	4.94
Phytocid (one g/kg)	108[b]	65[b]	58	41	9.6	5.25[a]	11.7	31	3.25	5.17
Phytocid (2 g/kg)	116[ab]	112[a]	49	43	8.6	5.60[a]	12.09	32	2.50	5.42
Salinomycin (0.5 g/kg)	141[a]	82[ab]	72	50	9	5.02[ab]	12.1	31	2.25	4.14
SEM	8.3	10	7.3	8	0.34	0.15	0.57	1.2	0.48	0.01
P-Value	0.05	0.04	0.21	0.86	0.14	0.05	0.91	0.77	0.44	0.61

[abc] Means within the same line with different superscripts differ significantly (P<0.05).[1]SUN=serum Urea Nitrogen

ایزت و همکاران (۱۹۹۰) گزارش کردند که افزودن اسید فرمیک و یا فرمات کلسیم بطور قابل توجهی میزان سالمونلا سکوم و لاشه جوجه‌های گوشتی را کاهش و باعث بهبود عملکرد جوجه‌ها گردید. پستی و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کردند که اسیدهای آلی با کاهش pH دستگاه گوارش رشد به نظر می‌رسد در گله هایی جوجه-های گوشتی که در بستر پرورش می‌یابند و کیفیت بستر زیاد مناسب نمی‌باشد می‌توان از این ترکیب برای بهبود سلامتی روده بهره جست.

مورفولوژی ایلئوم

تاثیر فیتوسید بر مورفولوژی ایلئوم در سن ٤۲ روزگی در جدول ۸ نشان داده شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن فیتوسید به خوراک آردی باعث افزایش معنی‌دار طول پرزهای روده شد ($P<۰/۰۵$). فیتوسید تاثیری بر رشد پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت در جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های پلت نداشت با این وجود طول پرز را در جوجه‌های تغذیه شده با دان پلت افزایش داد. بوولز و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که گیاهان دارویی به سبب کاهش جمعیت مضر باکتریایی روده و افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها باعث افزایش رشد پرزها می گردد. یانگ و همکاران (۲۰۰۹) و نیز ژیو و همکاران (۲۰۰۳) بیان داشتندکه اسیدهای آلی و گیاهان دارویی با کاهش جمعیت باکتری-های مضر روده، pH روده را کاهش داده و نیز با کاهش تولید سم باکتری‌های مضر از طریق افت بار میکروبی روده از آسیب به پرزهای روده ممانعت نموده و منجر به افزایش رشد پرزهای روده شده و عمق کریپت را کاهش می‌دهند.

ایمنی

تاثیر فیتوسید بر تیتر آنتی بادی آنفولانزا و نیوکاسل جوجه‌های گوشتی در سن ۳٦ روزگی در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن فیتوسید تاثیری بر تیتر آنتی بادی آنفولانزا و نیوکاسل جوجه‌های گوشتی نداشت.

جدول ۶- تاثیر فیتوسید برجمعیت میکروبی (واحد تشکیل دهنده کلنی بر اساس log_{10} در گرم ماده خشک) **ایلئوم و سکوم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک پلت در ۷ و ۲۱ روزگی**

Table 6- Effect of Phytocid on ileal and ceca microbial population of chicks fed with pellet diets on d 7 and 21

Treatments	7 d						21 d					
	Ileal			Ceca			Ileal			Ceca		
	Coliforms	*Salmonella*	*Escherichia coli*	*Coliforms*	*Salmonella*	*Escherichia coli*	*Coliforms*	*Salmonella*	*Escherichia coli*	*Coliforms*	*Salmonella*	*Escherichia coli*
Control	7.65[a]	7.35[a]	7.54[a]	8.04[a]	8.04[a]	8.36	7.8	7.60[a]	7.04	8.83[a]	8.73	8.85[a]
Phytocid (one g/kg)	6.80[b]	6.45[b]	6.87[b]	7.79[b]	7.45[ab]	8.28	8	7.69[a]	7.95	8.58[a]	8.54	8.70[ab]
Phytocid (2 g/kg)	6.89[b]	6.39[b]	6.78[b]	7.30[c]	7.10[c]	8.18	6.5	6[b]	7.07	7.57[b]	8.30	7.53[c]
Salinomycin (0.5 g/kg)	7.00[b]	6.36[b]	7.46[a]	7[d]	7.73[ab]	7.80	7.4	7.27[a]	7.56	8.25[a]	8.09	8.41[b]
SEM	0.12	0.17	0.05	0.04	0.08	0.15	0.45	0.14	0.6	0.16	0.22	0.11
P-Value	0.01	0.02	0.001	0.001	0.004	0.12	0.15	0.01	0.53	0.02	0.18	0.001

[abc] Means within the same line with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

جدول ۷- تاثیر فیتوسید برجمعیت میکروبی (واحد تشکیل دهنده کلنی بر اساس log_{10} در گرم ماده خشک) **ایلئوم و سکوم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک آردی در ۷ و ۲۱ روزگی**

Table 7. Effect of Phytocid on ileal and ceca microbial population (log10 cfu/g of DM) of chicks fed with mash diets on d 7 and 21

Treatments	7 d						21 d					
	Ileal			Ceca			Ileal			Ceca		
	Coliforms	*Salmonella*	*Escherichia coli*	*Coliforms*	*Salmonella*	*Escherichia coli*	*Coliforms*	*Salmonella*	*Escherichia coli*	*Coliforms*	*Salmonella*	*Escherichia coli*
Control	6.54	6.75^{a}	7.40^{a}	7.69^{a}	8.00^{a}	7.81	8.47^{a}	8.40^{a}	8.44	7.60^{ab}	7.30^{a}	6.2
Phytocid (one g/kg)	7.19	6.82^{a}	7.32^{a}	7.86^{a}	7.81^{ab}	7.86	7.53^{c}	7.69^{c}	8.38	8^{a}	7.80^{a}	6.3
Phytocid (2 g/kg)	6.53	4.10^{b}	6.77^{b}	7.00^{b}	7.15^{c}	7.43	7.63^{bc}	7.91^{bc}	8.20	7.70^{ab}	6.90^{ab}	5.9
Salinomycin (0.5 g/kg)	6.95	6.84^{a}	7.49^{a}	7.84^{a}	7.47^{bc}	8.04	8.34^{ab}	8.20^{ab}	7.67	7.30^{b}	6.30^{b}	5.8
SEM	0.33	0.6	0.13	0.07	0.09	0.18	0.17	0.11	0.18	0.19	0.4	0.18
P-Value	0.43	0.08	0.02	0.001	0.02	0.22	0.05	0.05	0.09	0.02	0.03	0.70

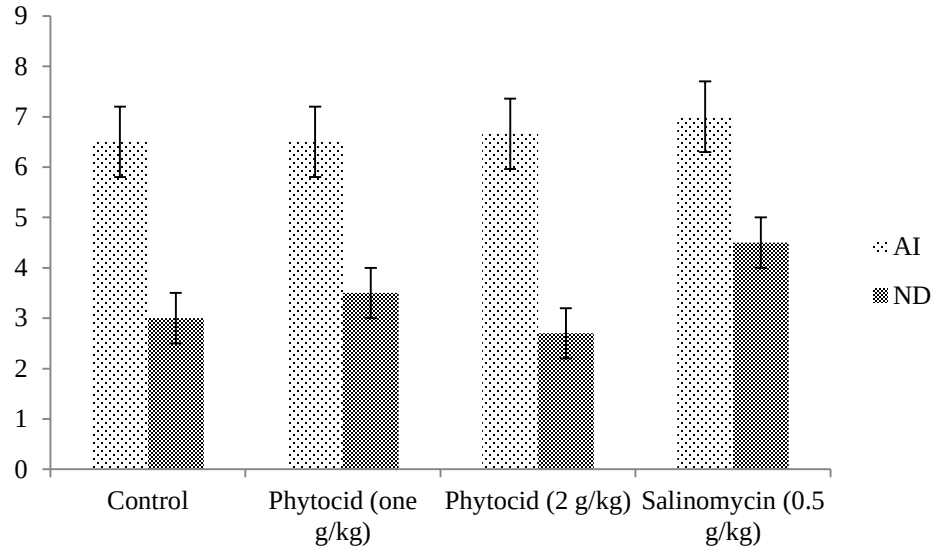
^{abc} Means within the same line with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۸- تاثیر فیتوسید برمورفولوژی ایلئوم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با خوراک آردی و پلت در ۴۲ روزگی

Table 8- Effect of Phytocid on ileal morphology of chicks fed with pellet or mash diets on d 42.

Treatments	pellet			Mash		
	Villus height	Crypt depth	Villus: crypt	Villus height	Crypt depth	Villus: crypt
Control	704	132	5.3	800^{b}	152	5.2
Phytocid (one g/kg)	791	122	6.4	968^{a}	161	6
Phytocid (2 g/kg)	765	114	6.7	1002^{a}	155	6.4
Salinomycin (0.5 g/kg)	679	117	5.8	908^{a}	147	6.1
SEM	43	13	0.44	32	14	0.4
P-Value	0.2	0.12	0.84	0.05	0.56	0.75

^{aabc} Means within the same line with different superscripts differ significantly (P<0.05).



شکل ۱– تاثیر فیتوسید بر سطح تیتر (لگاریتم بر پایه ۱۰) **آنفولانزا** (AI) **و تیتر** (لگاریتم بر پایه ۲) **نیوکاسل** (ND) **جوجه‌های گوشتی در سن ۳۶ روزگی**

Figure 1– Effect of Phytocid on antibody titre against Newcastle Disease (ND, log $_{10}$) and Avian Influenza (AI, log$_2$)

نتیجه گیری کلی

نتایج آزمایش کنونی نشان می دهد که اسیدهای آلی و مواد فنولی موجود در پونه و سیاه دانه اثر بازدارندگی قوی در برابر باکتری های مضر روده داشته و با افزایش سلامتی روده باعث بهبود هضم مواد مغذی خوراک و بهبود وزن و ضریب تبدیل غذایی جوجه های گوشتی شده و از این حیث می تواند یک ترکیب جایگزین آنتی بیوتیک محرک رشد مطرح گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت شرکت فرازدانه آوند به پاس همکاری‌هایشان در تامین مواد اولیه و فرآوری جیره‌های آزمایشی کمال سپاسگزاری را دارند.

منابع مورد استفاده

Al-Beitawi NA, El-Ghousein SS and Nofal A H, 2009. Replacing bacitracin methylene disalicylate by crushed *Nigella sativa* seeds in broiler diets and its effects on growth, blood constituents and immunity. Livestock Science 125:304–307.

Al-Homidan A, Al-Qarawi AA, Al-Waily SA and Adam SEI, 2002. Response of broiler chicks of dietary Rhazya stricta and Nigella sativa. British Poultry Science 43:291–296.

Basilico MZ and Basilico JC, 1999. Inhibitory effects of some spice essential oils on Aspergillus ochraceus NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. Letters in Applied Microbiology 29:238–241.

Brunton LL, 1999. Agents affecting gastrointestinal water flux and motility, digestants and bile acids. Pages 914–932 in The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. Pregman Press, Oxford, UK.

Bryant MP and Burkey LA, 1953 Cultural methods and some characteristics of some of the more numerous groups of bacteria in the bovine rumen. Journal of Dairy Science 36:205–217. 1953.

Bowles BL and Miller AJ, 1993. Antibacterial properties of selected aromatic and aliphatic aldehydes. Journal of Food Production 56: 788–794.

Byrd J, Hargis B, Caldwell D, Bailey R, Herron K, McReynolds J, Brewer R, Anderson R, Bischoff K and Callaway T, 2001. Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on Salmonella and Campylobacter contamination of broilers. Poultry Science 80: 278–283

Chang ST, Chen PF and Chang SC, 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from Cinnamomun osmophloeum. Journal of Ethnopharmacology 77:123–127.

Cross DE, McDevitt RM, 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.

Cowan MM, 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews 12:564–582.

Diaz-Sanchez S, D'Souza D, Biswas D and Hanning I, 2015. Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. Poultry Science 94:1419–1430.

Dibner J and Buttin P, 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. Journal of Applied Poultry Research 11:453–463.

Duke GE, 1986. Alimentary canal: Secretions and digestion, special digestion functions and absorption. Pages 289–302 in Avian Physiology. P. D. Sturkie, ed. Springer-Verlag, New York, NY.

El-Tahir KEH, Ashour MM and Al-Harbi MM, 1993. The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (Nigella sativa) in guinea-pigs: Elucidation of the mechanism(s) of action. General Pharmacology 24:1115–1122.

Feng J, LiuXu X, Wang ZR and Liu JX, 2007. Effects of fermented soybean meal on digestive enzyme activities and intestinal morphology in broilers. Poultry Science 86: 1149–1154.

Fossati P and Prencipe L, 1982 Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clinical Chemistry 28: 2077–2080.

Forte C, Branciari R, Pacetti D, Miraglia D, Ranucci D, Acuti G, Balzano M, Frega NG and Trabalza-Marinucci M, 2018. Dietary oregano (*Origanum vulgare* L.) aqueous extract improves oxidative stability and consumer acceptance of meat enriched with CLA and n-3 PUFA in broilers. Poultry Science 97: 1774–1785.

Goodarzi Boroojeni F, Mader A, Knorr F, Ruhnke I, Röhe I, Hafeez A, Männer K and Zentek J. 2014. The effects of different thermal treatments and organic acid levels on nutrient digestibility in broilers Poultry Science 93:1159–1171.

González-Alvarado JM, Jiménez-Moreno E, Lázaro R and Mateos GG, 2007. Effects of cereal, heat processing, and fiber on productive performance and digestive traits of broilers. Poultry Science 86:1705–1715.

Halle I, Thomann R, Flachowsky G, Schubert R, Flachowsky G, Bitsch R and Jahreis G, 1999. Effect of ethereal (essential) oil and oilseed on the growth of broilers. Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernaehrung von Mensch und Tier: 7. Symposium Jena-Thuringen, Germany.

Hamid H, Shi HQ, MA GY, Fan Y, Li WX, Zhao LH, Zhang JY, Ji C and Ma QGM, 2018. Influence of acidified drinking water on growth performance and gastrointestinal function of broilers. Poultry Science 0:1–9.

Hedayati M, Sheikholeslami A, Manafi M and Yari M, 2017. Comparison effect of ethanoic extract of chicory root with antibiotic growth promoter on blood parameters, humoral Immune response and colony counts of broilers. Journal of Animal Sciences Researches (Agricultural Science) 27:115-130 (in Persian).

Izat AL, Adams MH, Cable MC, Colberg M, Retber MA, Skinner JT and Waldroup P. W, 1990. Effects of formic acid or calcium formate in feed on performance and microbiological characteristics of broilers. Poultry science 69:1876-1882.

Khalaji S, Zaghari M, Hatami KH, Hedari-Dastjerdi S, Lotfi L and Nazarian H, 2011. Black cumin seeds, *Artemisia* leaves (*Artemisia sieberi*), and *Camellia* L. plant extract as phytogenic products in broiler diets and their effects on performance, blood constituents, immunity, and cecal microbial population. Poultry Science 90:2500–2510.

Kroismayr A, Sehm J, Pfaffl MW, Schedle K, Plitzner C and Windisch W, 2008. Effects of avilamycin and essential oils on mRNA expression of apoptotic and inflammatory markers and gut morphology of piglets. Czech Journal of Animal Science 53: 377-387.

Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS and Kolodziejczyk PP, 2008. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. Phytochemistry 69:1732–1738.

Mitsch P, Zitterl-Eglseer K, K¨ohler B, Gabler C, Losa R and Zimpernik I, 2004. The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of Clostridium perfringens in the intestine of broiler chickens. Poultry Science 83:669–675

Nair MKM, Vasudevan P and Venkitanarayanan K, 2005. Antibacterial effect of black seed on Listeria monocytogenes. Food Control 16:395–398.

Pesti G, Bakalli R, Vendrell P and Chen HY, 2004. Effects of organic acid on control of bacteria growth in drinking water for broilers. Poultry Science 83:M303

Shamlo R, Nasr J and Kheiri F, 2014. Effects of various levels of pennyroyal (Mentha pulegium L.) on carcass characteristics and serum cholesterol in broiler. Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences. 4:453–457.

Symeon G, Mantis F, Bizelis I, Kominakis A and Rogdakis E, 2010. Effects of caponization on growth performance, carcass composition, and meat quality of medium growth broilers. Poultry Science 89:1481–1489.

Timbermont L, Lanckniet A, Dewulf J, Nollet N, Schwarzer K, Haesebrouck F, Ducatelle R and van Immerseel F, 2010. Control of Clostridium perfringes-induced necrotic enteritis in broiler by target-released butyric acid, fatty acids and essential oils. Avian Pathology 39:117–121**.**

Van Immerseel F, Fievez V, de Buck J, Pasmans F, Martel A, Haesebrouck F and Ducatelle R, 2004. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with salmonella enteritidis in young chickens. Poultry Science 83:69–74.

Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA and Wang MQ, 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poultry Science 82:1030–1036.

Yang Y, Iji PA and Choct M, 2009. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: A review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. World's Poultry Science Journal, 65:97–114

Zargari A, 1990. Medicinal Plants. 4th ed. Tehran University Press. Iran. Vol. 4, p. 28-42

Effect of *Nigella sativa* seeds and *Mentha pulegium* mixed with coated formic acid on performance, blood characteristics, ileal morphology, and ileal and cecal microbial population of broilers fed mash or pellet diets

S Khalaji[1*]

Received: January 25, 2019 Accepted: July 1, 2019
[1]Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, Malayer University, Malayer, Iran
[*]Corresponding authors:saeed.khlj@gmail.com

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Researches | Journal of Animal Science/vol.29 No.3/ 2019/pp 87-104 https://animalscience.tabrizu.ac.ir | OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
This is an open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0)

Introduction: The prevalence of antibiotic resistant pathogens has resulted from the use of sub-therapeutic concentrations of antibiotics delivered in poultry feed (Sandra Diaz-Sanchez etal. 2015). The ban on the use of antibiotic feed additives as growth promoters caused researchers for exploring the future utility of other alternatives (Hamid etal. 2018). Furthermore, there are a number of consumer concerns regarding the use of antibiotics in food animals including residue contamination of poultry products and antibiotic resistant bacterial pathogens. These issues have resulted in recommendations of reducing the use of antibiotics as growth promoters in livestock around the world (Sandra Diaz-Sanchez etal. 2015). Now a days conventional and organic productions have been limited to use antibiotics. Thus, both conventional and organic poultry production need alternative methods to improve growth and performance of poultry. Organic acids, herbs, spices, and various other plant extracts are being evaluated as alternatives to antibiotics and some do have growth promoting effects, antimicrobial properties, and other health-related benefits (Sandra Diaz-Sanchez etal. 2015 and Hamid etal. 2018). Current study was designed for further elucidation of the effects of the organic acid combined with phytogenic plant on gut healt in chicks fed with mash or pellet diets, therfore current trial was conducted to evaluate the effects of Phytocid (a plant-organic acid complex) on performance, immune response, and gut health of broiler chicks.

Material and methods: Experiment was done as a completely randomized design with 8 treatments (4 mash and 4 in pellet form), 4 replicates of 7 chicks in each pen. Treatments included control, control+1 or 2 g/kg Phytocid and control+ Salinomycin (0.5g/kg). Two basal diets were formulated for starter (1 to 21) and grower (22 to 42) period and Phytocid (1 and 2g/kg) and Salinomycin were added to the basal diet. For each treatment, a batch of 100 kg of each ration was mixed by using a Twin-Shaft Paddle Mixer and batches of the resulting ratins then were divided into two portion. The first portion was fed in mash form and the second portion was pelleted. The birds were reared in floor pens having wood shavings as litter material over a concrete floor. The room temperature was thermostatically set by automation systems using the two heaters and one fogger. Bell drinkers from the same polyethylene tank were used and water was provided ad libitum. Body weight and cumulative feed intake were measured on d 7, 21, and 42 for each pen and the feed conversion ratio (FCR) was calculated. Antibody titer aginst Newcastel and and Avian Influenza were measured at 36 d of age. Plasma triglyceride,

cholesterol, LDL, VLDL, HDL, heamatocrit, and heamaglobin concentration was measured at 42 d of age. Gastrointestinal pH was measured at 42 d of age. On d 7 and 21, two chicks from each pen were slaughtered by neck cutting for extraction of cecal contents. The cecal contents of each bird were pooled for serial dilution. Microbial populations were determined by serial dilution (10^{-4} to 10^{-6}) of cecal samples in anaerobic diluents before inoculation onto petri dishes of sterile agar as described by Bryant and Burkey (1953). *Salmonella* was grown on *Salmonella* Shigella agar (Merck, Germany) and *Coliforms* were grown on McConkey agar (Darmstadt, Germany). Plates were counted between 24 and 48 h after inoculation. Colony forming units were defined as distinct colonies measuring at least one mm in diameter. On d 42, a 2-cm segment of the middle of the ileum was washed in physiological saline solution and fixed in 10% buffered formalin and formalin was changed three times for fixation. A single 0.5-cm sample was cut from each ileal section, dehydrated using increasing ethanol concentrations, cleared with xylene, and placed into polyfin embedding wax. Tissue sections (2 µm) were cut by microtome (model; Easy cut 202, Italy), floated onto slides, and stained with hematoxylin (Gill number 2; Sigma, St. Louis, MO) and eosin (Sigma Aldrich, Darmstadt, Germany). For each sample, villus height and crypt depth were measured using a digital camera that had light microscopy (Motic-SMZ-140, Germany). Twenty-five images from 15 tissue sections of each ileal section were taken and villus heights and crypt depths were measured by imaging software.

Results and discussion: Supplementing diet with Phytocid increased body weight gain, feed intake, and reduced feed conversion ratio significantly throughout the experimental period ($P<0.05$). Phytocid did reduce ileum and jejenum pH significantly ($P<0.01$). Supplementation of pellet and also mash diets with Phytocid did decrease *Salmonella, coliform, and E-Coli* population of ileum and ceca at 7 and 21 d of age significantly ($P<0.05$). Ileal villus length and crypt depth was increased by addition of Phytocid to basal diets.

Conclusions: Results of current trial showed that Phytocid have beneficial effect on gastrointestinal health and improved weight gain and feed intake and feed conversion ratio in broiler chickens and could be a possible replacing agent to antibiotics in poultry.

Keywords: Formic acid, Gut health, *Mentha pulegium*, *Nigella sativa* seeds