Vol 26, No. 1, Spring 2024

University of Tehran Press

Journal of Animal Production

Online ISSN: 2382-994X

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

The effect of oregano, rosemary, and cinnamon powder on growth performance, excreta microbiota, intestinal morphology, and nutrient digestibility of broiler chickens challenged with *Campylobacter jejuni*

Zahra Alimohammadi[1] | Hassan Shirzadi[2]✉ | Kamran Taherpour[3] | Ali Khatibjoo[4]

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. Email: z.alimohammadi@ilam.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. Email: h.shirzadi@ilam.ac.ir
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. Email: k.taherpour@ilam.ac.ir
4. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. Email: a.khatibjoo@ilam.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 23 May 2023
Received in revised form 25 November 2023
Accepted 9 December 2023
Published online 15 March 2024

Keywords:
Broiler chicken
Digestibility
Growth performance
Microbiology
Morphology

ABSTRACT

Introduction: With the increase of the population in the last century, the need for protein sources, especially protein with animal origin, has increased. One of the important and inexpensive sources of animal proteins is poultry products. However, many food-borne diseases that are among the most obvious problems related to human health are transmitted to humans through poultry products. Generally, poultry are sensitive to pathogenic bacteria such as Clostridium, Salmonella, and Campylobacter. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* are the main causes of bacterial enteritis in humans and account for about 90% and less than 10% of deaths in people with campylobacteriosis, respectively. Poultry farmers use antibiotic growth promoters to prevent the colonization of pathogenic bacteria, but their use has been banned in European Union since 2006 due to antibiotic resistance. However, in order to prevent the reduction of growth performance and mortality caused by the colonization of pathogenic bacteria in the gastrointestinal tract, it is necessary to introduce suitable alternatives. The antimicrobial potential of several medicinal plants, some plant-derived bioactive compoundsas well as some organic acids against a suspension of two Campylobacter serotypes (including 8 strains of *C. jejuni* and 3 strains of *C. coli*) has been investigated, under *in vitro* study. It has been revealed that oregano, rosemary, and cinnamon have a higher potential in reducing campylobacter colonization, among other phytobiotic compounds. Considering that under *in vivo* conditions, no research has been conducted on these medicinal plants with broiler chickens exposed to Campylobacter colonization. Therefore, this research was conducted with the aim of investigating the growth performance, excreta microbiota, intestinal morphology, and nutrient digestibility of broiler chickens challenged with *C. jejuni* and evaluating the potential of oregano, rosemary, and cinnamon in reducing the negative effects of this pathogen.

Material and Methods: A total of 192 one-day-old chicks were randomly allocated to 6 dietary treatments in a completely randomized design with 4 replicates of 8 birds. The dietary treatments were as follows: 1-negative control (NC; basal diet without additive and without of *C. jejuni*); 2-positive control (PC; basal diet without additives but challenged with *C. jejuni*); 3-basal diet + Erythromycin (55 mg/kg); 4-basal diet + oregano powder (3 g/kg); 5- basal diet + rosemary powder (3 g/kg) and 6-basal diet+cinnamon powder (3 g/kg). All chickens were orally gavaged once a day with a suspension of *C. jejuni* live culture (2×10^8 cfu/mL, 1 mL/bird) on days 21 to 25, with the exception of those fed the NC. Throughout the experimental period, the birds were fed *ad libitum* and had free access to water.

Results and Discussion: The results showed that the *C. jejuni*, while weakening performance during the growth period, caused an increase in campylobacter colonization and a decrease in lactobacilli counts of the excreta ($P<0.05$). The reason for the improvement of the microflora can be due to the presence of antibacterial compounds such as thymol, carvacrol, verbenone, and cinnamaldehyde in the composition of the mentioned medicinal plants. *Campylobacter jejuni* also decreased the digestibility of organic matter and led to a decrease in villous height, villous height to crypt depth ratio, and villi surface area in the jejunum ($P<0.05$). The reason for the improvement of the intestinal morphology by herbal additives can be due to the improvement of the microflora of the digestive tract. All the negative effects arising from *C. jejuni* were alleviated by dietary treatments containing feed additives ($P<0.05$).

Conclusion: In general, it can be concluded that oregano and rosemary have the potential to reduce the pathogenic effects of *Campylobacter jejuni* and can be used as suitable alternatives to antibiotics in feeding broilers.

Cite this article: Alimohammadi, Z., Shirzadi, H., Taherpour, K., & Khatibjoo, A. (2024). The effect of oregano, rosemary, and cinnamon powder on growth performance, excreta microbiota, intestinal morphology, and nutrient digestibility of broiler chickens challenged with *Campylobacter jejuni*. *Journal of Animal Production*, 26 (1), 73-86. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2023.359761.623742

© The Author(s).
Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2023.359761.623742

دوره بیست و ششم، شماره اول، بهار ۱۴۰۳

انتشارات دانشگاه تهران

تولیدات دامی

شاپا الکترونیکی: ۲۳۸۲-۹۹۴x

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

تأثیر پودر پونه کوهی، رزماری و دارچین بر عملکرد رشد، میکروبیوتای فضولات، مورفولوژی روده و قابلیت هضم مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *کمپیلوباکتر ژژونی*

زهرا علی‌محمدی[۱] | حسن شیرزادی[۲]✉ | کامران طاهرپور[۳] | علی خطیب‌جو[۴]

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: z.alimohammadi@ilam.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: h.shirzadi@ilam.ac.ir

۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: k.taherpour@ilam.ac.ir

۴. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران. رایانامه: a.khatibjoo@ilam.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۹/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۲۵

کلیدواژه‌ها:
جوجه‌گوشتی
عملکرد رشد
قابلیت هضم
مورفولوژی
میکروبیولوژی

چکیده

در مطالعه حاضر تأثیر پودر گیاهان پونه کوهی، رزماری و دارچین به‌عنوان جایگزین‌هایی برای آنتی‌بیوتیک‌ها، با استفاده از ۱۹۲ قطعه جوجه گوشتی یک روزه (خروس) در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار، چهار تکرار و هشت قطعه در هر تکرار بررسی شد. تیمارهای آزمایشی به شرح ذیل بودند: ۱- کنترل منفی (جیره پایه بدون افزودنی و بدون چالش *کمپیلوباکتر ژژونی*)؛ ۲- کنترل مثبت (جیره پایه بدون افزودنی، اما چالش یافته با *کمپیلوباکتر ژژونی*)؛ ۳- کنترل مثبت+ اریترومایسین (۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم)؛ ۴- کنترل مثبت+ پودر پونه کوهی (سه گرم در کیلوگرم)؛ ۵-کنترل مثبت+ پودر رزماری (سه گرم در کیلوگرم) و ۶- کنترل مثبت+ پودر دارچین (سه گرم در کیلوگرم). تمام جوجه‌ها به‌جز گروه کنترل منفی، از روز ۲۱ تا ۲۵ دوره پرورش روزی یک‌بار از طریق دهانی با 2×10^{8}cfu/mL از کشت زنده باکتری *کمپیلوباکتر ژژونی* چالش داده شدند. نتایج نشان داد چالش *کمپیلوباکتر ژژونی* ضمن تضعیف عملکرد در دوره رشد سبب افزایش کلونیزاسیون کمپیلوباکتر و کاهش شمار لاکتوباسیل‌ها در فضولات شد ($p<0/05$). چالش *کمپیلوباکتر ژژونی* هم‌چنین ضمن کاهش قابلیت هضم مواد آلی منجر به کاهش ارتفاع پرز، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و مساحت سطح پرز در ژژنوم شد ($p<0/05$). تمامی اثرات منفی ناشی از *کمپیلوباکتر ژژونی* توسط تیمارهای حاوی افزودنی تعدیل شد ($p<0/05$)، هرچند که تیمار حاوی دارچین در مقایسه با سایر افزودنی‌ها پتانسیل نسبتاً پایین‌تری داشت. به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که پونه کوهی و رزماری پتانسیل تخفیف اثرات پاتوژنیک *کمپیلوباکتر ژژونی* را دارند و می‌توانند به‌عنوان جایگزین‌های مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه جوجه‌های گوشتی مورداستفاده قرار گیرند.

استناد: علی‌محمدی، زهرا؛ شیرزادی، حسن؛ طاهرپور، کامران و خطیب‌جو، علی (۱۴۰۳). تأثیر پودر پونه کوهی، رزماری و دارچین بر عملکرد رشد، میکروبیوتای فضولات، مورفولوژی روده و قابلیت هضم مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *کمپیلوباکتر ژژونی*. *نشریه تولیدات دامی*، ۲۶ (۱)، ۸۶-۷۳ DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2023.359761.623742

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

۱. مقدمه

با افزایش جمعیت در قرن اخیر، نیاز به منابع پروتئینی به‌ویژه پروتئین حیوانی بیش‌تر شده است. با توجه به کم‌بودن سطح زیر کشت زمین‌های زراعی، رقابت انسان و حیواناتی مانند پرندگان در مصرف منابع غذایی و هزینه‌های زیاد تهیه خوراک در واحدهای دامپروری، بدون شک به‌کارگیری راه‌کارهایی که منجر به افزایش عملکرد طیور می‌شوند نظیر استفاده از ترکیبات طبیعی و محرک رشد در جیره می‌تواند راه‌گشا باشد. یکی از اهداف پژوهش‌گران علم تغذیه طیور، کاهش هزینه جیره مصرفی به‌همراه بهبود عملکرد و کیفیت لاشه در طیور بوده است. از طرفی بسیاری از بیماری‌های با منشأ غذایی از بارزترین مشکلات مربوط به سلامت انسان می‌باشند، که از راه فرآورده‌های حاصل از پرندگان به انسان انتقال پیدا می‌کنند و لذا باید سعی کرد پرندگان را در مقابل عوامل بیماری‌زا ایمن نگهداشت (علی‌محمدی، ۱۳۹۸).

معمولاً طیور در برابر باکتری‌های بیماری‌زا مانند کلستریدیوم‌ها، سالمونلاها و کمپیلوباکترها حساس هستند. کمپیلوباکتر متعلق به خانواده کمپلوباکتریاسه است و متشکل از ۱۸ گونه و زیرگونه می‌باشد که مهم‌ترین آن‌ها از نظر آلوده‌نمودن مواد غذایی *کمپیلوباکتر* ژژونی می‌باشد. هم‌چنین پژوهش‌ها نشان داده که کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کولای به‌عنوان عامل اصلی آنتریت باکتریایی انسان در تمام دنیا شناخته شده‌اند. به‌طوری که به‌ترتیب حدود ۹۰ درصد و کم‌تر از ۱۰ درصد مرگ‌ومیر را در افراد مبتلا به کمپیلوباکتریوز به خود اختصاص می‌دهند (علی‌محمدی، ۱۳۹۸). پرورش‌دهندگان طیور برای رفع این نگرانی‌ها و ممانعت از کلونیزه‌شدن باکتری‌های پاتوژنیک، بیش از ۷۰ سال است که از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد استفاده می‌کنند (Castanon, 2007). از سوی دیگر، مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در سال‌های اخیر در تغذیه طیور باعث ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی شده و عوارض جبران‌ناپذیری بر جای گذاشته است. از این‌رو، در بسیاری از کشورها استفاده از آن‌ها منسوخ گردیده است. با این‌حال، بایستی جهت پیشگیری از افت تولید و تلفات ناشی از کلونیزه‌شده پاتوژن‌ها در دستگاه گوارش دنبال راه‌کارهای مناسب و بی‌خطری بود، لذا پژوهش‌گران تلاش زیادی در راستای ارائه ترکیبات ضد میکروبی طبیعی به عمل آورده‌اند.

پژوهش‌گران تحت شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) به بررسی پتانسیل ضد میکروبی چندین گیاه دارویی، برخی ترکیبات فعال گیاهی و هم‌چنین چند اسید آلی علیه سوسپانسیونی از دو سروتیپ کمپیلوباکتر (شامل هشت سویهٔ *کمپیلوباکتر ژژونی* و سه سویهٔ *کمپیلوباکتر کولای*) پرداختند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد از میان ترکیباتی که استفاده کردند پونه کوهی، رزماری و دارچین پتانسیل بالاتری در کاهش کلونیزاسیون کمپیلوباکتر داشتند (Navarro *et al.*, 2015). با توجه به این‌که تحت شرایط درون‌تنی (*in vivo*) هنوز پژوهشی روی این گیاهان با جوجه‌های گوشتی تحت چالش کمپیلوباکتر صورت نگرفته است. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر پونه کوهی، رزماری و دارچین بر عملکرد رشد، میکروبیولوژی فضولات، مورفولوژی روده و قابلیت هضم مواد مغذی جوجه‌های گوشتی چالش یافته با کمپیلوباکتر *ژژونی* انجام شد.

۲. پیشینهٔ پژوهش

پونه کوهی از خانواده لامیناسه می‌باشد و یک گیاه چندساله است. این جنس دارای بیش‌تر از ۲۵ گونه است و در نواحی مرطوب منطقه مرکزی و جنوب اروپا، جنوب‌غربی آسیا و شمال افریقا رشد می‌کند (Jay *et al.*, 2005). پژوهش‌ها نشان داده که کارواکرول و تیمول فعال‌ترین ترکیبات اسانس پونه هستند و به‌ترتیب ۷۷/۳۳ و ۹/۶۴ درصد ترکیبات اسانس این گیاه را به خود اختصاص می‌دهند (Kırkpınar *et al.*, 2011). گزارش شده است که اسانس پونه کوهی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی است و این اثر به‌دلیل وجود مقادیر بالایی از ترکیبات پلی‌فنولیک نظیر کارواکرول و تیمول می‌باشد (Al-

Hijazeen *et al*., 2018). فعالیت ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی به کارواکرول نسبت داده شده است و گزارش شده است که تیمول نیز دارای فعالیت ضدمیکروبی علیه شماری از کلی‌فرم‌ها می‌باشد، در حقیقت تیمول و کارواکرول ایزومرهای شیمیایی با بخش عملکردی فنولیک هستند و لذا دارای خصوصیات ضدمیکروبی مشابهی هستند، ضمن این‌که اسانس پونه کوهی تأثیری بر باکتری‌های غیرپاتوژنیک ندارد (Mathlouthi *et al*., 2012).

رزماری گیاهی بوته‌ای و متعلق به خانواده نعناعیان است و به‌عنوان گیاهی دارویی و ادویه ترشیجات مورداستفاده قرار می‌گیرد. بومی منطقه مدیترانه بوده و به‌دلیل اثرات ضدمیکروبی آن در سراسر جهان استفاده می‌شود و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی نیز می‌باشد (Bajalan *et al*., 2017). هم‌چنین پتانسیل ضد میکروبی اسانس رزماری به ترکیباتی نظیر وربنون، ۱،۸–سینئول، کامفور، بورنئول نسبت داده شده است و گزارش شده است که ۴۵/۲ درصد از اسانس رزماری را وربنون تشکیل داده و در مقایسه با سایر ترکیبات موجود در آن بیش‌ترین فعالیت ضدمیکروبی دارد (Mathlouthi *et al*., 2012). علاوه بر این سایر ترکیبات موجود در آن نظیر α–پینن، β–پینن، α–ترپینن، کاریوفیلن و کامفن که غلظت پایین‌تری دارند نیز دارای فعالیت ضدمیکروبی هستند (Sokmen *et al*., 2004). هم‌چنین گزارش شده است که همچون پونه کوهی، باکتری‌های غیرپاتوژنیک حساسیتی در برابر فعالیت ضدمیکروبی اسانس رزماری ندارند (Mathlouthi *et al*., 2012).

دارچین یک درخت همیشه سبز بوده و متعلق به خانواده برگ‌بوها می‌باشد (علی‌محمدی، ۱۳۹۸). دارچین از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی موردتوجه در طب سنتی است. قسمت‌های مختلف این گیاه از جمله پوسته آن خواص دارویی زیادی دارد. به سبب خواص آنتی‌اکسیدانی قوی پوسته آن، از اکسیداسیون مواد آلی موجود در بدن جلوگیری کرده و سبب کاهش رایکال‌های آزاد می‌شود. هم‌چنین اثر ضدمیکروبی بسیار قوی علیه انواع باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و لاروها داشته، ضد سرطان بوده و به بهبود باوری کمک می‌کند. اثرات ضدالتهابی دارچین به ترکیباتی نظیر کومارین و اوژنول (دشتی–رحمت‌آبادی و همکاران ۱۳۸۸) و اثرات ضد باکتریایی اسانس دارچین به‌طور عمده به ترکیبات سینامالدئید، اوژنول و کومارین نسبت داده شده است که در بین مواد مؤثره موجود در آن بالاترین غلظت را داشته و به‌ترتیب ۶۰/۷۲، ۱۷/۶۲ و ۱۳/۳۹ درصد از اسانس دارچین را تشکیل می‌دهند (Parisa *et al*., 2019). بررسی‌های سیستماتیک نشان می‌دهد که مکمل دارچین می‌تواند تری‌گلیسرید و کلسترول خون را کاهش دهد، با این‌حال تأثیری بر لیپوپروتئین‌های کم چگالی نداشته است (Hajimonfarednejad *et al*., 2019).

۳. روش‌شناسی پژوهش

به‌منظور بررسی تأثیر گیاهان پونه کوهی، رزماری و دارچین بر عملکرد رشد، میکروبیوتای فضولات، مورفولوژی روده و قابلیت هضم مواد مغذی جوجه‌های گوشتی چالش یافته با کمپیلوباکتر *ژژونی* آزمایشی به شرح ذیل انجام شد. در این پژوهش از تعداد ۱۹۲ قطعه جوجه گوشتی (راس ۳۰۸) در قالب طرح کامل تصادفی با شش تیمار و چهار تکرار (هشت قطعه پرنده در هر تکرار) استفاده شد. پرنده‌ها در قفس‌های چهار طبقه باتری پرورش داده شدند و قبل از شروع آزمایش به‌صورت تصادفی به واحدهای آزمایشی اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی به شرح ذیل بودند: ۱– کنترل منفی (جیره پایه بدون افزودنی و بدون چالش *کمپیلوباکتر ژژونی*)؛ ۲– کنترل مثبت (جیره پایه بدون افزودنی، اما چالش یافته با *کمپیلوباکتر ژژونی*)؛ ۳– کنترل مثبت+ اریترومایسین (۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم)؛ ۴– کنترل مثبت+ پودر پونه کوهی (سه گرم در کیلوگرم)؛ ۵– کنترل مثبت+ پودر رزماری (سه گرم در کیلوگرم) و ۶– کنترل مثبت+ پودر دارچین (سه گرم در کیلوگرم). افزودنی‌های خوراکی شامل رزماری، پونه کوهی، دارچین و آنتی‌بیوتیک اریترومایسین از روز هفتم دوره

پرورش به شکل پودر به جیره پایه اضافه شدند. تمام جوجه‌ها به‌جز گروه کنترل منفی، از روز ۲۱ تا ۲۵ دوره پرورش از طریق گاواژ دهانی روزی یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی کشت زنده باکتری *کمپیلوباکتر ژژونی* (RTCC 1097، با غلظت ۲×۱۰^{۸}cfu در هر میلی‌لیتر) را دریافت کردند. جیره پایه مطابق توصیه انجمن ملی تحقیقات آمریکا برای دوره‌های آغازین (۲۱– صفر روزگی) و رشد (۴۲–۲۱ روزگی) فرموله شد. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه در جدول (۱) ارائه شده است. تمام پرنده‌ها در مدت ۴۲ روز پرورش دسترسی آزاد به آب و خوراک داشتند و شرایط محیطی از نظر دما و رطوبت برای تمام تیمارها یکسان بود. به‌طوری‌که در طول سه روز اول دوره پرورش دمای سالن ۳۴ درجه سانتی‌گراد بود سپس به‌تدریج با افزایش سن کاهش یافت تا این‌که در ۲۱ روزگی به ۲۲ درجه سانتی‌گراد رسید. برنامه نوردهی در سه روز اول دائم بود و بعد از آن برنامه نوردهی متناوب با ۱۸ ساعت نور و شش ساعت تاریکی اعمال شد.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه در دوره‌های آغازین و رشد

مواد خوراکی (درصد)	جیره آغازین	جیره رشد
	صفر تا ۲۱ روزگی	۲۲ تا ٤۲ روزگی
ذرت	۶۵/۰۷	۷۰/۲۹
کنجاله سویا (۴۴/۸۹ درصد پروتئین)	۲۳/۸۷	۲۳/۴۸
کنجاله گلوتن ذرت (۵۷/۱۵ درصد پروتئین)	۵/۹۳	۰
روغن ذرت	۰/۹۱	۲/۳۲
ال- لیزین	۰/۲۰	۰/۲۰
دی ال – متیونین	۰/۱۷	۰/۱۷
ال- ترئونین	۰/۰۳	۰/۱۱
دی کلسیم فسفات	۱/۷۳	۱/۲۹
کربنات کلسیم	۱/۱۶	۱/۲۶
نمک	۰/۳۴	۰/۲۲
جوش شیرین	۰/۱۴	۰/۱۷
مکمل ویتامینی –معدنی[۱]	۰/۵۰	۰/۵۰
جمع کل	۱۰۰	۱۰۰
ترکیب شیمیایی (محاسبه‌شده)		
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۰۰۰	۳۱۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۰	۱۷/۶۶
کلسیم (درصد)	۰/۹۴	۰/۸۷
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۲	۰/۳۴
سدیم (درصد)	۰/۱۹	۰/۱۵
تعادل کاتیون–آنیون (میلی اکی‌والانت در کیلوگرم)	۱۸۰	۱۸۰
لیزین (درصد)	۱/۰۳	۰/۹۷
آرژنین (درصد)	۱/۱۷	۱/۰۷
ترئونین (درصد)	۰/۷۵	۰/۷۲
متیونین (درصد)	۰/۵۱	۰/۴۲
متیونین+ سیستین (درصد)	۰/۸۴	۰/۷۰

۱. مقدار ویتامین‌ها در هر کیلوگرم جیره: ویتامین آ ۹۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین دی (کوله کلسیفرول) ۲۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین‌ای ۱۸ واحد بین المللی، ویتامین کا ۲ میلی‌گرم، ریبوفلاوین ۶/۶ میلی‌گرم، نیاسین ۳۰ میلی‌گرم، اسید پانتوتنیک ۱۰ میلی‌گرم، پیریدوکسین ۳ میلی‌گرم، اسید فولیک ۱ میلی‌گرم، تیامین ۱/۸ میلی‌گرم، سیانوکبالامین ۱۵ میکروگرم، بیوتین ۰/۱ میلی‌گرم، کولین کلراید ۵۰۰ میلی‌گرم و اتوکسی کوئین ۰/۱ میلی‌گرم. مقدار مواد معدنی در هر کیلوگرم جیره: سلنیم ۰/۲ میلی‌گرم، ید ۱ میلی‌گرم، مس ۱۰ میلی‌گرم، آهن ۵۰ میلی‌گرم، روی ۸۵ میلی‌گرم و منگنز ۱۰۰ میلی‌گرم.

در پایان هر دوره (سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی) افزایش وزن جوجه‌ها و خوراک مصرفی هر قفس ثبت شد و ضریب تبدیل خوراک (نسبت خوراک مصرفی روزانه به افزایش وزن روزانه) برای هر دوره محاسبه شد. در پایان دوره پرورش، به‌منظور تعیین بار میکروبی فضولات (Serpunja & Kim, 2019)، زیر هر یک از قفس‌ها نایلون پهن و بعد از چند دقیقه اقدام به جمع‌آوری نمونه شد. بلافاصله پس از استحصال و هموژن‌کردن نمونه‌ها یک نمونه یک گرمی از فضولات تازه درون یک فالکون ریخته و به آن نُه میلی‌لیتر PBS و تعدادی گوی شیشه‌ای اضافه و جهت یکنواخت‌شدن نمونه ورتکس شد. پس از آن سری رقت‌های همگن‌شده از $۱۰^{۳}$ تا $۱۰^{۷}$ تهیه و برای تعیین تعداد کلونی از روش قطره‌ای استفاده شد. بدین صورت که مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌های تهیه‌شده روی نقاط مشخص‌شده‌ای از پلیت کشت داده شد. شمارش تعداد کلونی‌های *لاکتوباسیلوس‌ها*، *بیفیدوباکترها*، *کمپیلوباکترژژونی*، سالمونلا و کل باکتری‌های هوازی به‌ترتیب در محیط کشت‌های MRS آگار[1]، بیفیدوباکتریوم سلکتیو آگار[2]، کمپیلوباکتر سلکتیو آگار[3]، برلیانس سالمونلا آگار[4] و پلیت کانت آگار[5] انجام گردید. شمارش کلونی‌ها با استفاده از کلونی کانتر (Digital Colony Counter مدل 3-DC ساخت کشور ژاپن) انجام شد. نتایج به‌صورت $\log_{10}$ واحد تشکیل کلونی به‌ازای هر گرم از فضولات گزارش شد ($\log_{10}$ cfu/g). تعداد باکتری در هر گرم نمونه با در نظرگرفتن وزن نمونه، عامل رقت و حجم قطره کشت شده مطابق رابطه (۱) محاسبه شد.

رابطه ۱) $$\text{تعداد کلونی به ازای هر گرم از فضولات} = \frac{\left(\text{عکس رقت} \times \text{تعداد کلونی‌ها}\right)}{\frac{\text{حجم کشت داده شده}}{1000}}$$

در پایان دوره پرورش از هر پن تعداد دو قطعه پرنده کشتار و قطعاتی به طول یک و دو سانتی‌متر به‌ترتیب از وسط دئودنوم و ژژنوم آن‌ها جدا و با استفاده از PBS شست‌وشو شدند و به داخل ظروف پلاستیکی حاوی فرمالین ۱۰ درصد انتقال یافتند. در نهایت پس از آبگیری، شفاف‌سازی و قالب‌گیری نمونه‌ها، با استفاده از دستگاه میکروتوم (Leica Microtome Model: Jung RM 2045) اسلایدهایی به ضخامت حدود شش میکرومتر از آن‌ها تهیه و با استفاده از هماتوکسیلین–ائوزین رنگ‌آمیزی شد. سپس ارتفاع پُرز (از رأس پُرز تا قاعده آن)، عرض پُرز (عرض پُرز در پایین‌ترین مقطع در محل اتصال به کریپت) و عمق کریپت (از قاعده پُرز تا انتهای غدد) هر یک از اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری (مدل BX41 المپیوس، توکیو، ژاپن) اندازه‌گیری شد. هم‌چنین نسبت ارتفاع پُرز به عمق کریپت و مساحت سطح پُرز با استفاده از رابطه (۲) تعیین گردید.

رابطه ۲) $$\text{مساحت سطح پُرز} = 2\pi \times \left(\frac{\text{پهنای پُرز}}{2}\right) \times \text{ارتفاع پُرز}$$

جهت اندازه‌گیری قابلیت هضم فضولات (Serpunja & Kim, 2019) پروتئین خام، ماده آلی و خاکستر از اکسید کروم به‌عنوان نشانگر استفاده شد. در روز ۳۹ دوره پرورش مقدار ۰/۳ درصد اکسید کروم به جیره‌ها افزوده شد و استفاده از آن تا ۷۲ ساعت ادامه یافت. بنابراین در روز ۴۲ دوره پرورش، قبل از نمونه‌گیری زیر هر یک از قفس‌ها نایلون پهن شد و بعد از چند دقیقه اقدام به جمع‌آوری نمونه فضولات شد. بعد از انتقال به آزمایشگاه به‌مدت ۷۲ ساعت داخل آون فن‌دار با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از تعیین ماده خشک نمونه‌ها با استفاده از آسیاب به ذرات ≥ ۰/۵ میلی‌متر تبدیل شدند و تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سرانجام مقادیر کروم، پروتئین‌خام (N×۶/۲۵) و خاکستر در نمونه‌های

1. de Man, Rogosa, and Sharpe agar
2. Bifidobacterium Selective Agar
3. Campylobacter Selective Agar
4. Brilliance Salmonella Agar
5. Plate Count Agar

خوراک و فضولات اندازه‌گیری شد و از طریق تفاضل ماده خشک از خاکستر میزان ماده آلی موجود در نمونه‌های خوراک و فضولات محاسبه شد. جهت تعیین میزان کروم ابتدا یک گرم از نمونه خشک مدفوع و یا جیره در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتر ریخته شد، سپس ۱۰ میلی‌لیتر سیتریک‌اسید غلیظ به آن اضافه شد و به‌مدت ۳۰ الی ۴۵ دقیقه روی هیتر قرار داده شد. سپس در دمای اتاق قرار گرفت تا خنک شود، بعد از آن پنج میلی‌لیتر پرکلریک‌اسید اضافه شد و به‌مدت سه ساعت در دمای ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌آرامی جوشید. بعد از سردشدن، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و دوباره روی هیتر قرار داده شد تا اگر بخاری مانده خارج شود. دوباره محلول در دمای اتاق قرار داده شد تا سرد شود سپس از کاغذ صافی ۴۵ عبور داده شد و پس از انتقال به بالن ۲۵ میلی‌لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد و در نهایت توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی میزان کروم اندازه‌گیری شد. در نهایت قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی مطابق رابطه (۳) محاسبه شد.

رابطه ۳) $$\text{قابلیت هضم ظاهری فضولات (درصد)} = 100 - \left[100 \times \left(\frac{\text{ماده مغذی موجود در فضولات} \times \text{غلظت اکسید کروم در جیره}}{\text{ماده مغذی موجود در جیره} \times \text{غلظت اکسید کروم در فضولات}}\right)\right]$$

نرمال‌بودن و برابری واریانس‌های داده‌های به‌دست‌آمده به‌ترتیب با استفاده از تست‌های کولموگروف- اسمیرنوف و لیون آزمون شدند. سپس داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) برای مدل (۴) تجزیه و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح آماری پنج درصد مقایسه شد.

رابطه ۴) $$Yij = \mu + Ti + eij$$

در این رابطه، Y_{ij}، مقدار مشاهده تیمار iام در تکرار jام؛ μ، میانگین جامعه؛ T_i، اثر تیمار iام و e_{ij}، اثر خطای آزمایش مربوط به تیمار iام در تکرار jام می‌باشد.

۴. یافته‌های پژوهش

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین و رشد در جدول (۲) نشان داده شده است. همان‌طورکه در این جدول ملاحظه می‌شود افزایش وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک در دوره آغازین تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. با این‌حال، در دوره رشد چالش *کمپیلوباکتر ژژونی* منجر به تضعیف عملکرد پرنده‌ها شد به گونه‌ای که سبب کاهش وزن بدن و افزایش ضریب تبدیل خوراک شد ($p<۰/۰۵$). تیمارهای حاوی افزودنی مانع از تضعیف عملکرد شدند و عملکردی مشابه گروه کنترل منفی داشتند ($p<۰/۰۵$)، هرچند که تیمار حاوی دارچین در مقایسه با سایر افزودنی‌ها پتانسیل نسبتاً پایین‌تری داشت.

جدول ۲. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین و رشد

فراسنجه‌ها	تیمار							مؤلفه‌های آماری	
	کنترل منفی	کنترل مثبت	دارچین	رزماری	پونه کوهی	اریترومایسین	SEM	P- value
دوره آغازین (صفر تا ۲۱ روزگی)									
افزایش وزن بدن (گرم)	۸۱۹	۸۲۳	۸۱۲	۸۳۹	۸۵۳	۸۵۳	۱۱/۳	۰/۰۷
خوراک مصرفی (گرم)	۱۱۱۳	۱۱۰۸	۱۰۸۴	۱۰۹۴	۱۰۸۶	۱۱۱۰	۱۷/۸	۰/۷۷
ضریب تبدیل غذایی	۱/۳۶	۱/۳۴	۱/۳۳	۱/۳۰	۱/۲۷	۱/۳۰	۰/۰۲۰	۰/۰۸
دوره رشد (۴۲-۲۱ روزگی)									
افزایش وزن بدن (گرم)	۱۶۶۱^{a}	۱۴۳۶^{b}	۱۵۹۲^{ab}	۱۶۸۴^{a}	۱۷۱۷^{a}	۱۶۸۵^{a}	۳۹/۶	۰/۰۱
خوراک مصرفی (گرم)	۳۳۶۹	۳۴۷۴	۳۵۰۶	۳۴۸۹	۳۵۱۰	۳۴۸۹	۵۷/۸	۰/۵۵
ضریب تبدیل خوراک	۲/۰۳^{b}	۲/۴۲^{a}	۲/۲۰^{ab}	۲/۰۷^{b}	۲/۰۵^{b}	۲/۰۷^{b}	۰/۰۶	۰/۰۱

a-b: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف، معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میکروبیولوژی فضولات جوجه‌های گوشتی در جدول (۳) نشان داده شده است. شمار کل باکتری‌های هوازی، سالمونلا و بیفیدوباکتر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. با این وجود چالش *کمپیلوباکتر ژژونی* باعث افزایش کلونیزاسیون کمپیلوباکتر شد به گونه‌ای که گروه کنترل مثبت در مقایسه با گروه کنترل منفی از شمار بالاتری برخوردار بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین تمام تیمارهای حاوی افزودنی در مقایسه با گروه کنترل مثبت از کلونیزاسیون پایین‌تری برخوردار بودند (P<۰/۰۵). اگرچه بین تیمارهای حاوی افزودنی تفاوتی مشاهده نشد، اما تنها تیمارهای حاوی رزماری، پونه کوهی و اریترومایسین عملکردی مشابه با گروه کنترل منفی داشتند (P<۰/۰۵). در رابطه با شمار لاکتوباسیل‌ها، چالش *کمپیلوباکتر ژژونی* منجر به کاهش کلونیزاسیون این باکتری در گروه کنترل مثبت شد، به‌نحوی‌که این گروه در مقایسه با گروه کنترل منفی از شمار لاکتوباسیل پایین‌تری برخوردار بود (P<۰/۰۵). با این‌حال، تنها تیمارهای حاوی رزماری، پونه کوهی و تا حدودی دارچین منجر به پیشگیری از کاهش شمار لاکتوباسیل شدند و عملکردی مشابه با گروه کنترل منفی داشتند (P<۰/۰۵)، این اثر در گروه دریافت‌کننده اریترومایسین مشاهده نشد.

جدول ۳. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میکروبیولوژی فضولات جوجه‌های گوشتی

فراسنجه‌ها	تیمارها							مؤلفه‌های آماری	
(log_{10} cfu/g)	کنترل منفی	کنترل مثبت	دارچین	رزماری	پونه کوهی	اریترومایسین	SEM	P-value
کل باکتری‌های هوازی	۸/۸۴	۹/۹۰	۹/۵۲	۹/۳۵	۸/۸۸	۹/۲۵	۰/۳۲۱	۰/۲۲
کمپیلوباکتر	۶/۷۳^{c}	۸/۱۵^{a}	۷/۴۴^{b}	۷/۱۱^{bc}	۷/۱۵^{bc}	۶/۹۸^{bc}	۰/۱۴۰	۰/۰۱
سالمونلا	۷/۱۲	۷/۶۵	۷/۷۳	۷/۴۴	۷/۵۸	۷/۱۳	۰/۳۳۸	۰/۷۰
بیفیدوباکتر	۷/۹۶	۶/۹۵	۷/۸۴	۷/۸۷	۷/۷۵	۷/۶۶	۰/۳۶۷	۰/۴۳
لاکتوباسیلوس	۷/۹۱^{a}	۶/۷۴^{b}	۷/۵۶^{ab}	۷/۷۷^{a}	۸/۰۹^{a}	۶/۶۳^{b}	۰/۲۱۰	۰/۰۱

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

تأثیر تیمارهای آزمایشی روی مورفولوژی دئودنوم و ژژنوم جوجه‌های گوشتی در جدول (۴) نشان داده شده است. همان‌طورکه در این جدول ملاحظه می‌شود ارتفاع پرز، پهنای پرز، عمق کریپت، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و مساحت سطح پرز در دئودنوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. با این وجود، چالش *کمپیلوباکتر ژژونی* باعث کاهش ارتفاع پرز، کاهش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، افزایش عمق کریپت و تا حدودی هم کاهش مساحت سطح پرز در ژژنوم شد (P<۰/۰۵). تمام تیمارهای حاوی افزودنی از تغییرات مورفولوژیک ناشی از کلونیزاسیون *کمپیلوباکتر ژژونی* پیشگیری نمودند و عملکردی مشابه گروه کنترل منفی داشتند (P<۰/۰۵)، هرچند که تیمار حاوی دارچین در مقایسه با سایر افزودنی‌ها پتانسیل نسبتاً پایین‌تری داشت.

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم ظاهری فضولات جوجه‌های گوشتی در جدول (۵) نشان داده شده است. از نظر قابلیت هضم پروتئین خام و خاکستر تفاوت معنی‌داری میان تیمارها مشاهده نشد. با این‌حال، چالش *کمپیلوباکتر ژژونی* منجر به کاهش قابلیت هضم مواد آلی شد (P<۰/۰۵). تمام تیمارهای حاوی افزودنی مانع از کاهش قابلیت هضم مواد آلی شدند و عملکردی مشابه گروه کنترل منفی داشتند (P<۰/۰۵)، هرچند که تیمار حاوی دارچین در مقایسه با سایر افزودنی‌ها پتانسیل نسبتاً پایین‌تری داشت.

جدول ٤. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مورفولوژی دئودنوم و ژژنوم جوجه‌های گوشتی

فراسنجه‌ها	تیمارها						مؤلفه‌های آماری	
	کنترل منفی	کنترل مثبت	دارچین	رزماری	پونه کوهی	اریترومایسین	SEM	P- value
دئودنوم								
ارتفاع پرز (میکرومتر)	۱۶۲۱	۱۵۶۸	۱۵۸۱	۱۵۵۵	۱۶۱۹	۱۵۹۱	۱۸/۹	۰/۱۳
پهنای پرز (میکرومتر)	۱۹۳	۱۸۸	۱۹۱	۱۹۰	۱۹۳	۱۹۴	۴/۵۱	۰/۹۳
عمق کریپت (میکرومتر)	۱۸۹	۱۸۸	۱۸۰	۱۸۷	۱۸۵	۱۸۳	۵/۵۱	۰/۸۶
نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت	۸/۶۰	۸/۳۴	۸/۸۰	۸/۳۴	۸/۷۹	۸/۷۲	۰/۲۴۸	۰/۶۱
مساحت سطح پرز (میلی‌مترمربع)	۰/۹۸۳	۰/۹۲۸	۰/۹۴۸	۰/۹۲۹	۰/۹۸۰	۰/۹۷۲	۰/۰۲۶	۰/۴۹
ژژنوم								
ارتفاع پرز (میکرومتر)	۱۲۳۸^{ab}	۱۱۵۰^{c}	۱۲۰۶^{bc}	۱۲۱۹^{b}	۱۲۲۳^{b}	۱۲۹۱^{a}	۱۳/۲	۰/۰۱
پهنای پرز (میکرومتر)	۱۶۳	۱۴۸	۱۷۴	۱۶۰	۱۶۸	۱۷۰	۸/۵۳	۰/۳۸
عمق کریپت (میکرومتر)	۱۴۸^{b}	۱۹۴^{a}	۱۶۲^{b}	۱۴۲^{b}	۱۵۱^{b}	۱۵۵^{b}	۶/۸۶	۰/۰۱
نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت	۸/۴۳^{a}	۵/۹۵^{b}	۷/۴۳^{ab}	۸/۶۳^{a}	۸/۱۴^{a}	۸/۳۸^{a}	۰/۳۹۱	۰/۰۱
مساحت سطح پرز (میلی‌متر مربع)	۰/۶۳۵^{ab}	۰/۵۳۵^{b}	۰/۶۵۹^{ab}	۰/۶۱۳^{ab}	۰/۶۴۵^{ab}	۰/۶۸۸^{a}	۰/۰۳۲	۰/۰۶

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۵. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم ظاهری فضولات جوجه‌های گوشتی

فراسنجه‌ها (درصد)	تیمارها						مؤلفه‌های آماری	
	کنترل منفی	کنترل مثبت	دارچین	رزماری	پونه کوهی	اریترومایسین	SEM	P- value
قابلیت هضم ماده آلی	۷۷/۹^{a}	۶۸/۵^{b}	۷۳/۰^{ab}	۷۷/۱^{a}	۷۵/۹^{a}	۷۷/۶^{a}	۱/۵۲	۰/۰۱
قابلیت هضم پروتئین خام	۷۴/۳	۶۹/۸	۷۰/۷	۷۶/۷	۷۴/۸	۷۰/۵	۱/۸۲	۰/۰۷
قابلیت هضم خاکستر	۴۷/۲	۳۷/۱	۴۶/۷	۴۳/۴	۴۸/۱	۴۱/۳	۳/۴۶	۰/۲۴

a-b: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف، معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۵. بحث

با توجه به این‌که *کمپیلوباکتر ژژونی* از طریق ایجاد اسهال سبب افزایش سرعت دفع مواد هضمی می‌شود، لذا زمان در دسترس قرارگرفتن مواد مغذی برای آنزیم‌های گوارشی کاهش یافته و منجر به کاهش قابلیت هضم مواد مغذی می‌شود که احتمالاً علت کاهش در افزایش وزن به این موضوع برمی‌گردد. هم‌چنین *کمپیلوباکتر ژژونی* از طریق تولید توکسین سبب کاهش رشد پرزهای روده شده و لذا بازده جذب مواد مغذی را نیز کاهش می‌دهد، که این عامل نیز سبب کاهش در افزایش وزن می‌شود. در تأیید نتایج آزمایش حاضر، گزارش شده است که به‌دنبال چالش جوجه‌های گوشتی با باکتری *کمپیلوباکتر ژژونی* افزایش وزن کاهش می‌یابد (Guyard-Nicodème *et al*., 2016). گزارش شده است که آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق تغییر در متابولیسم باکتری‌ها سبب افزایش رشد حیوانات می‌شوند (علی‌محمدی، ۱۳۹۸). هم‌چنین قرار گرفتن حیوانات در معرض آنتی‌بیوتیک‌ها یک فشار انتخابی را در دستگاه گوارش به‌وجود می‌آورد که سبب کاهش تکثیر و گسترش سویه‌های باکتریایی بیماری‌زا مانند سالونلا و کمپیلوباکتر می‌شود (علی‌محمدی، ۱۳۹۸). بنابراین علت بهبود در عملکرد گروه تغذیه‌شده با اریترومایسین ناشی از تغییر متابولیسم پاتوژن‌ها و کاهش کلونیزاسیون آن‌ها می‌باشد.

ضریب تبدیل خوراک نیز متأثر از نسبت خوراک مصرفی به افزایش وزن می‌باشد. با توجه به این‌که چالش جوجه‌های

گوشتی با *کمپیلوباکتر ژژونی* فقط سبب کاهش سرعت رشد بدون تأثیر بر خوراک مصرفی شده است، بنابراین افزایش ضریب تبدیل خوراک در تیمار آلوده به *کمپیلوباکتر ژژونی* (کنترل مثبت) کاملاً بدیهی است. در تطابق با نتایج حاضر، گزارش شده است که چالش جوجه‌های گوشتی با *کمپیلوباکتر ژژونی* سبب افزایش ضریب تبدیل خوراک می‌شود، اما این اثر منفی با افزودن مکمل‌های غذایی نظیر اسیدهای آلی، پروبیوتیک و گیاهان دارویی مرتفع می‌شود (Gharib Naseri *et al*., 2012).

ازآنجایی‌که تیمول و کارواکرول ترکیبات اصلی و فعال‌ترین جزو اسانس پونه کوهی هستند (Kırkpınar *et al*., 2011) و فعالیت ضدمیکروبی پونه به این دو ترکیب نسبت داده شده است (Mathlouthi *et al*., 2012)، لذا علت بهبود عملکرد در گروه تغذیه‌شده با پونه کوهی را می‌توان به فعالیت ضد میکروبی و کاهش کلونیزاسیون کمپیلوباکتر نسبت داد که متعاقب آن با کاهش تولید توکسین باکتریایی رشد پرزهای روده به حالت نرمال نزدیک شده است و قابلیت هضم مواد مغذی به گروه کنترل منفی نزدیک شده است. هم‌چنین گزارش شده است که تیمول و کارواکرول باعث افزایش هضم پروتئین، چربی و سلولز می‌شوند و فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آمیلاز پانکراس را افزایش می‌دهند (علی‌محمدی، ۱۳۹۸)، که این نیز دلیلی دیگر برای بهبود عملکرد جوجه‌های تغذیه‌شده با پونه کوهی می‌باشد.

نشان داده شده است که ترکیبات وربنون، ۱،۸-سینئول، کامفور و بورنئول مسئول فعالیت ضدمیکروبی اسانس رزماری هستند و در مقایسه با سایر ترکیبات موجود در آن، وربنون بیش‌ترین غلظت و بالاترین فعالیت ضدمیکروبی را دارد (Mathlouthi *et al*., 2012). بنابراین علت بهبود عملکرد در گروه تغذیه‌شده با رزماری را می‌تواند به کاهش کلونیزاسیون کمپیلوباکتر نسبت داد. هم‌چنین در مطالعه‌ای پژوهش‌گران علت بهبود عملکرد رشد در جوجه‌های تغذیه‌شده با برگ گیاه رزماری را به افزایش قابلیت هضم ظاهری پروتئین جیره و هم‌چنین در دسترس‌بودن مواد مغذی در روده برای جذب و در نتیجه رشد سریع‌تر نسبت دادند (علی‌محمدی، ۱۳۹۸)، که این نیز دلیلی دیگر برای بهبود عملکرد جوجه‌های تغذیه‌شده با رزماری می‌باشد.

گزارش شده است که افزودن سینامالدئید به جیره جوجه‌های گوشتی به‌دلیل فعالیت ضدمیکروبی در برابر باکتری‌های مضر و تحریک قابلیت هضم، عملکرد رشد را بهبود می‌بخشد (Mehdipour *et al*., 2013). در آزمایش حاضر نیز استفاده از پودر دارچین سبب بهبود عملکرد شد، اما این تأثیر حد واسط تیمارهای کنترل مثبت و کنترل منفی بود. این موضوع می‌تواند مربوط به پایین‌بودن سطح دارچین در جیره یا غلظت پایین سینامالدئید در دارچین مورداستفاده باشد که ناشی از تنوع زیستی این گونه گیاهی است.

دلیل این‌که چالش با *کمپیلوباکتر ژژونی در گروه کنترل مثبت* سبب کاهش شمار لاکتوباسیل‌ها شد می‌تواند ناشی افزایش کلونیزاسیون کمپیلوباکتر در دستگاه گوارش باشد، به‌طوری‌که از طریق مهار رقابتی سبب کاهش کلونیزاسیون باکتری‌های مفید نظیر لاکتوباسیل‌ها می‌شود و پرنده را با دیسبیوزیس مواجه می‌کند. فلور میکروبی دستگاه گوارش نقش مهمی در تغذیه، سم‌زدایی، رشد و حفاظت در مقابل باکتری‌های مضر دارد. در طیور برهم‌خوردن تعادل فلورمیکروبی طبیعی، عامل مهمی در ایجاد عفونت باکتریایی می‌باشد. از طرفی نشان داده شده که فلور میکروبی نرمال دستگاه گوارش آثار مطلوبی بر سیستم ایمنی بدن دارد. اسانس‌ها نقش مهم و برجسته‌ای در تغییر و اصلاح میکروفلور روده‌ای و کاهش کلونیزاسیون باکتری‌های مضر دارند (علی‌محمدی، ۱۳۹۸). گزارش شده است که چندین گونه از *کلستریدیوم پرفرنژنس* به کارواکرول، سینامالدئید، سیترال و تیمول حساس هستند و استفاده از این ترکیبات بهترین راه برای کنترل کلونیزاسیون باکتری‌های پاتوژنیک و حفظ سلامت روده می‌باشد. فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی در شرایط درون‌تنی به‌خاطر ماهیت چربی‌دوستی آن‌هاست که از طریق

غیرفعال‌سازی آنزیم‌های خارج سلولی باکتری باعث کاهش انسجام و تخریب ساختار غشای باکتری می‌شوند. هم‌چنین کارواکرول از طریق کاهش غلظت ATP در داخل سلول و افزایش غلظت آن در خارج سلول سبب تخریب غشای سلولی باکتری اشرشیاکلی می‌شود (علی‌محمدی، ۱۳۹۸).

در پژوهش حاضر، استفاده از اریترومایسین ضمن کاهش کلونیزاسیون کمپیلوباکترها سبب کاهش شما لاکتوباسیل‌ها شد که علت آن می‌تواند مربوط به این حقیقت باشد که آنتی‌بیوتیک مذکور وسیع‌الطیف بوده و غیر از کاهش کلونیزاسیون باکتری‌های گرم منفی شمار باکتری‌های گرم مثبت را نیز کاهش می‌دهد. اما ترکیبات گیاهی استفاده‌شده در پژوهش حاضر باعث بهبود افت کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌ها ناشی از چالش *کمپیلوباکتر ژژونی* شدند و شمار آن‌ها را به گروه کنترل منفی نزدیک‌تر کردند. دلیل این امر می‌تواند ناشی از پتانسیل ضد باکتریایی آن‌ها بر علیه کلونیزاسیون *کمپیلوباکتر ژژونی* باشد که از این طریق جمعیت میکروبی روده را به سمت یک جمعیت پایدار سوق می‌دهند. هم‌چنین گزارش شده است که باکتری‌های غیرپاتوژنیک حساسیتی در برابر فعالیت ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی و رزماری ندارند (Mathlouthi *et al*., 2012). افزون بر این، گزارش شده است که اسانس‌های گیاهی می‌توانند از طریق کاهش pH، شمار باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک را در محتوی ایلئوم و سکوم جوجه‌های گوشتی افزایش و شمار کلی‌فرم‌ها و *کلستریدیوم پرفرنژنس* را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهند (علی‌محمدی، ۱۳۹۸). در کل، فعالیت ضدمیکروبی رزماری به ترکیبات وربنون، ۱،۸–سینئول، کامفور و بورنئول (Mathlouthi *et al*., 2012)، پونه کوهی به تیمول و کارواکرول (Kırkpınar *et al*., 2011; Mathlouthi *et al*., 2012) و دارچین به سینامالدئید، اوژنول و کومارین نسبت داده شده است (Parisa *et al*., 2019).

کریپت در حقیقت کارخانه ساخت پرز است و هرچه کریپت عمیق‌تر شود نشان‌دهنده این است که بازسازی پرز زیاد شده و تقاضا برای بافت جدید افزایش یافته است. در حقیقت انتروسیت‌های جدید ساخته‌شده در کریپت از قاعده پرز وارد سد اپیتلیوم می‌شوند و به سمت رأس پرز مهاجرت می‌کنند، بعد از ۴۸ الی ۹۶ ساعت از رأس پرزها به داخل لومن روده ریزش می‌کنند. زمانی‌که روده تحت چالش میکروبی و التهاب ناشی از آن است، انتروسیت‌های صدمه دیده با سرعت بیش‌تر به درون لومن روده دفع شده و جای خود را به سلول‌های جدید می‌دهند ضمن این‌که در اثر توکسین ناشی از پاتوژن‌ها رشد پرزها به حد مطلوب نمی‌رسد (شیرزادی، ۱۳۹۳). بنابراین با توجه به این‌که چالش *کمپیلوباکتر ژژونی* سبب افزایش عمق کریپت شده است، می‌توان نتیجه گرفت که این پاتوژن سبب تخریب انتروسیت‌ها و بالطبع کاهش ارتفاع پرزها شده است.

در مورد تأثیر آنتی‌بیوتیک بر مورفولوژی روده باریک، نشان داده شده است که آنتی‌بیوتیک ویرجینامایسین در جوجه‌های گوشتی سبب کاهش ارتفاع پرز و عمق کریپت شده است (Miles *et al*., 2006)، که با پژوهش حاضر مطابقت ندارد. اما در تأیید نتایج پژوهش حاضر گزارش شده است که استفاده از آنتی‌بیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی، ضمن بهبود عملکرد رشد منجر به افزایش ارتفاع و پهنای پرزها و کاهش عمق کریپت می‌شود (Marković *et al*., 2009). ترکیبات فیتوژنیک تولید موکوس را در معده و ژژنوم افزایش می‌دهند که این بیان‌کننده اثر حفاظتی آن‌ها در برابر عوامل بیماریزای دستگاه گوارش می‌باشد (Manzanilla *et al*., 2004). در مطالعه‌ای افزودن ترکیبی از تیمول و کارواکرول به‌ترتیب به میزان ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره جوجه‌های گوشتی ارتفاع پرزها را در ژژنوم افزایش داده است، ولی تأثیری بر پهنای پرز نداشته است (Hashemipour *et al*., 2013). علت بهبود مشاهده‌شده در مورفولوژی ژژنوم به توسط گیاهان دارویی استفاده شده در آزمایش حاضر را می‌توان به‌وجود ترکیبات ضدباکتریایی موجود در آن‌ها نسبت داد، به‌نحوی‌که با کاهش

کلونیزاسیون کمپیلوباکتر و ممانعت از کاهش شمار لاکتوباسیل‌ها غلظت توکسین‌های باکتریایی را به حد مطلوب رسانده و لذا مانع از تخریب پرزها و افزایش عمق کریپت جهت بازسازی خارج از عرف پرزها شده‌اند.

اسانس‌های گیاهی به‌عنوان مواد افزودنی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و افزایش ترشحات شیرابه‌های معدی و پانکراس قابلیت هضم مواد مغذی را بهبود می‌بخشند و به‌واسطه فعالیت ضدمیکروبی خود از تخریب ریز پرزهای روده جلوگیری به‌عمل آورده و با این عمل سبب افزایش جذب مواد مغذی و درنتیجه بهبود ضریب قابلیت هضم می‌شوند (Fascina *et al*., 2012). در گزارش دیگری بیان شده است که بهبود هضم و جذب مواد مغذی در دستگاه گوارش طیور هنگام استفاده از گیاهان دارویی، به‌دلیل تأثیر مواد مؤثره آن‌ها بر ترشح آنزیم‌های گوارشی مانند پروتئازها، لیپاز و آمیلاز و افزایش تعداد پرزهای روده می‌باشد (Ponte *et al*., 2008).

پژوهش‌گران دیگری نشان دادند که هنگام استفاده از اسانس‌های گیاهی حرکات کیسه صفرا و حرکات دودی دستگاه گوارش افزایش می‌یابد، که این عامل سبب افزایش هضم خوراک و فعالیت‌های متابولیکی می‌شود (Cross *et al*., 2007). هم‌چنین گزارش شده است که از فعالیت‌های مهم اسانس‌های گیاهی بر عملکرد دستگاه گوارش می‌توان به اثرات مثبت آن‌ها بر مدت زمان عبور مواد، ترشحات گوارشی و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی اشاره کرد، که نتیجه آن بهبود قابلیت هضم و جذب مواد مغذی توسط دستگاه گوارش خواهد بود (Cross *et al*., 2007). افزون بر این، گزارش شده است که اسانس‌های گیاهی با تحریک اپیتلیوم معده و روده و هم‌چنین غدد ترشحی مخاط این اندام‌ها باعث افزایش تولید آنزیم و مایعات گوارشی می‌شوند. مواد تلخ موجود در اسانس‌های گیاهی و ترکیبات با بوی تند و زننده موجود در آن‌ها باعث تحریک ترشحات معدی، افزایش گردش خون، بهبود در هضم و جذب و متابولیسم مواد مغذی می‌شوند (Basmacioğlu Malayoğlu *et al*., 2010). به‌علاوه گزارش شده است که ماده مؤثره سینامالدئید سبب تحریک ترشح آنزیم‌های پانکراس شده و علاوه بر آن به‌خاطر خواص آنتی‌اکسیدانی قادر به حذف رادیکال‌های آزاد بوده و از این طریق با حفاظت از سطح مخاطی روده میزان جذب مواد مغذی را بهبود می‌بخشد (Manzanilla *et al*., 2004).

علت بهبود قابلیت هضم توسط گیاهان استفاده‌شده در پژوهش حاضر، را می‌توان به‌وجود ترکیبات آنتی‌باکتریال موجود در آن‌ها نسبت داد، به‌طوری‌که از طریق کاهش کلونیزاسیون کمپیلوباکتر رقابت بر سر دستیابی به مواد مغذی بین این پاتوژن و پرنده کاهش یافته و این عامل احتمالاً قابلیت هضم را بهبود بخشیده است. هم‌چنین احتمالاً به‌دنبال کاهش تولید متابولیت‌های سمی ناشی از فعالیت این پاتوژن در محیط روده صدمات وارده بر بافت مخاطی روده به حداقل رسیده و هضم و جذب مواد مغذی در روده افزایش یافته است.

۶. نتیجه‌گیری

براساس نتایج حاصل، پونه کوهی و رزماری توانایی کاهش اثرات بیماری‌زائی *کمپیلوباکتر ژژونی* را دارند و می‌توانند به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای اریترومایسین در تغذیه جوجه‌های گوشتی مورداستفاده قرار گیرند.

۷. تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ایلام به‌خاطر حمایت مالی از پروژه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

دشتی رحمت‌آبادی، محمدحسین؛ وحیدی مهرجردی، علی‌رضا؛ پیله وریان، علی‌اصغر و فرزان، فاطمه (۱۳۸۸). بررسی اثر عصاره دارچین بر درد مزمن در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی با استفاده از آزمون فرمالین. *مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید صدوقی یزد*، ۱۷(۲)، ۱۹۰-۱۹۹.

شیرزادی، حسن (۱۳۹۳). بررسی اثرات عصاره‌های دو گیاه سماق (*Rhus coriaria* L.) و جغجغه (*Prosopis farcta*) برجمعیت میکروبی روده و کنترل سندرم آسیت در جوجه‌های گوشتی. پایان‌نامهٔ دکتری. به‌راهنمایی فرید شریعتمداری. تهران: دانشگاه تربیت مدرس، دانشکدهٔ کشاورزی.

علی‌محمدی، زهرا (۱۳۹۸). تأثیر پودر پونه کوهی، رزماری و دارچین بر عملکرد، بیوشیمی سرم خون، میکروبیولوژی و مورفولوژی روده و قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی در جوجه‌های گوشتی تحت چالش *کمپیلوباکتر ژژونی*. پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد. به‌راهنمایی حسن شیرزادی. ایلام: دانشگاه ایلام، دانشکدهٔ کشاورزی.

References

Al-Hijazeen, M., Mendonca, A., Lee, E., & Ahn, D. (2018). Effect of oregano oil and tannic acid combinations on the quality and sensory characteristics of cooked chicken meat. *Poultry Science*, *97*(2), 676-683.

Alimohammadi, Z. (2018). Effect of oregano, rosemary and cinnamon powder on performance, blood serum biochemistry, intestinal microbiology and morphology and apparent digestibility of nutrients in broilers under Campylobacter jejuni challenge. MS.c. Dissertation. Under the supervision of Hasan Shirzadi. Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. (In Persian)

Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti, A. G., & Maggi, F. (2017). Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of Rosmarinus officinalis. *Industrial Crops and Products*, *107*, 305-311.

Basmacioğlu Malayoğlu, H., Baysal, Ş., Misirlioğlu, Z., Polat, M., Yilmaz, H., & Turan, N. (2010). Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat–soybean meal diets. *British Poultry Science*, *51*(1), 67-80.

Castanon, J. (2007). History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*, *86*(11), 2466-2471.

Cross, D., McDevitt, R., Hillman, K., & 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*(4), 496-506.

Dashti-Rahmatabadi, M., Vahidi Merjardi, A., Pilavaran, A., Farzan, F. (2009). Antinociceptive Effect of Cinnamon Extract on Formalin Induced Pain in Rat. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 17 (2), 190-199 (In Persian)

Fascina, V. B., Sartori, J. R., Gonzales, E., Carvalho, F. B. d., Souza, I. M. G. P. d., Polycarpo, G. d. V., ..., & Pelícia, V. C. (2012). Phytogenic additives and organic acids in broiler chicken diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *41*, 2189-2197.

Gharib Naseri, K., Rahimi, S., & Khaki, P. (2012). Comparison of the effects of probiotic, organic acid and medicinal plant on Campylobacter jejuni challenged broiler chickens. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *14*(7), 1485-1496.

Guyard-Nicodème, M., Keita, A., Quesne, S., Amelot, M., Poezevara, T., Le Berre, B., ..., & Medel, P. (2016). Efficacy of feed additives against Campylobacter in live broilers during the entire rearing period. *Poultry Science*, *95*(2), 298-305.

Hajimonfarednejad, M., Ostovar, M., Raee, M. J., Hashempur, M. H., Mayer, J. G., & Heydari, M. (2019). Cinnamon: A systematic review of adverse events. *Clinical Nutrition*, *38*(2), 594-602.

Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A., Raji, A., & Van Krimpen, M. (2013). Effect of thymol+ carvacrol by next enhance 150® on intestinal development of broiler chickens fed CMC containing diet. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, *3*(3), 567-576.

Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). Staphylococcal gastroenteritis. *Modern Food Microbiology*, 545-566.

Kırkpınar, F., Ünlü, H. B., & Özdemir, G. (2011). Effects of oregano and garlic essential oils on performance, carcase, organ and blood characteristics and intestinal microflora of broilers. *Livestock Science*, *137*(1-3), 219-225.

Manzanilla, E., Perez, J., Martin, M., Kamel, C., Baucells, F., & Gasa, J. (2004). Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *Journal of Animal Science*, *82*(11), 3210-3218.

Marković, R., Šefer, D., Krstić, M., & Petrujkić, B. (2009). Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Archivos de Medicina Veterinaria*, *41*(2), 163-169.

Mathlouthi, N., Bouzaienne, T., Oueslati, I., Recoquillay, F., Hamdi, M., Urdaci, M., & Bergaoui, R. (2012). Use of rosemary, oregano, and a commercial blend of essential oils in broiler chickens: in vitro antimicrobial activities and effects on growth performance. *Journal of Animal Science*, *90*(3), 813-823.

Mehdipour, Z., Afsharmanesh, M., & Sami, M. (2013). Effects of dietary synbiotic and cinnamon (Cinnamomum verum) supplementation on growth performance and meat quality in Japanese quail. *Livestock Science*, *154*(1-3), 152-157.

Miles, R., Butcher, G., Henry, P., & Littell, R. (2006). Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Poultry Science*, *85*(3), 476-485.

Navarro, M., Stanley, R., Cusack, A., & Sultanbawa, Y. (2015). Combinations of plant-derived compounds against Campylobacter in vitro. *Journal of Applied Poultry Research*, *24*(3), 352-363.

Parisa, N., Islami, R. N., Amalia, E., Mariana, M., & Rasyid, R. S. P. (2019). Antibacterial activity of cinnamon extract (Cinnamomum burmannii) against staphylococcus aureus and escherichia coli in vitro. *Bioscientia Medicina: Journal of Biomedicine and Translational Research*, *3*(2), 19-28.

Ponte, P., Rosado, C.-C., Crespo, J., Crespo, D., Mourão, J. L., Chaveiro-Soares, M., ..., & Prates, J. (2008). Pasture intake improves the performance and meat sensory attributes of free-range broilers. *Poultry Science*, *87*(1), 71-79.

Serpunja, S., & Kim, I. (2019). The effect of sodium stearoyl-2-lactylate (80%) and tween 20 (20%) supplementation in low-energy density diets on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, relative organ weight, serum lipid profiles, and excreta microbiota in broilers. *Poultry Science*, *98*(1), 269-275.

Shirzadi, H. (2014). Investigating the effects of sumac (*Rhus coriaria* L.) and rattle (*Prosopis farcta*) extracts on intestinal microbial population and control of ascites syndrome in broilers. Ph.D. Dissertation. Under the supervision of Farid Shariatmadari. Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. (In Persian)

Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., ..., & Sahin, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic Thymus spathulifolius. *Food Control*, *15*(8), 627-634.