Animal Production Research

Vol. 12, No. 3, 2023 (1-14)
doi: 10.22124/AR.2023.23563.1744
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effect of adding commercial phytogenics of Coxan, O.X. Plant, and Entex in feed and water on growth performance, intestinal morphology and microflora, and immune response of broilers

N. Zeyrani[1], M. Mohammadi[2*], M. Mohiti-Asli[2]

1. Former MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: 04-01-2023 – Revised: 02-08-2023 – Accepted: 04-08-2023)

Introduction: It has been demonstrated that medicinal plants and their derivatives can improve various aspects of broiler chicken production, including feed consumption, daily weight, feed conversion ratio, gut health, and immune responses. Using multiple medicinal plants in combination may enhance synergistic effects, improving broiler chicken performance and carcass quality compared to using individual plants. In broiler chicken farming, feed additives are often added to drinking water where pelleted diets are prevalent. Therefore, adding feed additives to either feed or drinking water raises serious questions regarding their efficacy. Three commercial phytogenic feed additives that are available in the market are Coxan, O.X.Plant, and Entex. Coxan contains oregano (with menthol as the active ingredient) and garlic (containing allin and allicin), O.X.Plant contains savory (the active ingredient carvacrol and thymol), thyme (with thymol and carvacrol as the main active ingredients) and red pepper oleoresin (with capsaicin) and Entex contains cinnamon (cinnamaldehyde), garlic and eucalyptus (cineol). The objective of this research was to compare the effects of implementing these commercial phytogenic feed additives (in water and feed) on growth performance, intestinal microflora and morphology, and immune response of broilers.

Materials and methods: A total of 336 Ross 308 broilers were examined in a completely randomized design with seven treatments, four replicates, and 12 chickens per replicate. Experimental treatments included: control (without phytogenic in feed or water), Coxan either in feed (300 mg/kg) or in drinking water (200 mL/1000 L), O.X.Plant either in feed (200 mg/kg) or in drinking water (135 mL/1000 L) and Entex either in feed (500 mg/kg) or drinking water (350 mL/1000 L). Daily weight gain, daily feed intake, daily water intake, and feed conversion ratio were measured throughout the experiment. After slaughtering broilers at 42 days of age, the length of each intestinal section (duodenum, jejunum, ileum) was measured for two broilers from each experimental unit. To determine the microbial population, samples were taken from the ileum of chickens. EMB culture medium was used to determine *Escherichia coli* population and MRS culture medium was used for Lactobacillus bacteria. To check the humoral immune response, 0.1 mL of 25% sheep red blood cell suspension in PBS was injected into the breast muscle of chickens on days 12th and 29th of rearing. Blood samples were taken from the chickens on days 28, 35, and 42 of rearing, and the titers for anti-SRBC, immunoglobulin G, and M were determined. Antibody titer against Newcastle disease was measured by the HI method.

Results and discussion: The effect of phytogenic additives in feed or drinking water on average daily feed consumption, daily weight gain, feed conversion ratio, and daily water consumption was not significant in the entire rearing period. Broiler chickens' water intake did not change, indicating that the additives added to their drinking water at tested levels do not have an unpleasant taste that would deter the chickens from drinking it. The relative lengths of the duodenum, jejunum, cecum, and colon were not affected by the experimental treatments. However, chickens that received Entex in their feed exhibited a lower relative length of the ileum

* Corresponding author: mohammadi@guilan.ac.ir

compared to the control group. No significant difference was observed in the relative length of different sections of the intestine in the birds that received phytogenic additives either in feed or water. The relative lengths of the duodenum, jejunum, cecum, colon, villus length, villus area, crypt depth, thickness of lamina propria, thickness of muscular layer, and thickness of advantis layer were not affected by the experimental treatments. Chickens consumed 500 mg/kg of Entex phytogenic additive in the feed had a lower villus width in the ileum region compared to the chickens in the control group. The population of *Escherichia coli* in the ileum decreased by adding O.X.Plant and Entex to the broiler feed, compared to the control group. Broilers fed Entex in the feed had also a lower count of *Escherichia coli* compared to those fed Coxan in the diet. The population of Lactobacillus bacteria in the ileum of chickens that received Coxan in water, O.X.Plant in feed and water, and Entex in feed increased compared to the control group. There was no significant difference in the population of *Escherichia coli* and Lactobacillus bacteria in the treatments that received phytogenic additives either in feed or in drinking water. The addition of phytogenic essential oils in poultry feed has been shown to improve the microflora by increasing the number of lactobacilli, which may also improve the morphological characteristics of the intestine, probably improving the ability of digestion and absorption in the digestive system and growth efficiency of broiler chickens. Antibody levels against SRBC were higher at 28, 35, and 42 days in all chickens consuming phytogenic additives in drinking water. The performance of animals is directly linked to their health and immunity. A compromised or stressed immune system not only makes animals susceptible to infectious diseases but can also lead to weight loss. when dealing with infectious diseases. Therefore, the use of immunomodulators can increase performance by improving the immune status. In poultry production, it is important to strengthen the immune system to prevent the occurrence of diseases.

Conclusions: The results of this research showed that the commercial phytogenic additives Coxan, O.X.Plant, and Entex did not have significant effects on growth performance, relative length, and intestinal morphology in broilers. However, a notable finding was the significant reduction in the population of pathogenic *Escherichia coli* with the addition of O.X.Plant and Entex in the diet compared to the control group. In general, it can be concluded that adding the tested phytogenic additives in water not only does not hurt the drinking water consumption of broilers but also the immune responses of broilers were found to be more positively improved when these phytogenic additives were administered in water compared to adding them in feed. This suggests that leveraging these additives in water may offer enhanced benefits in terms of improving the immune system in broilers without compromising performance parameters.

Keywords: Phytogenic additives, Immune response, Broilers, Intestinal morphology, Intestinal microflora

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received financial support from the Agriculture-Jihad Organization of Guilan Province for this work.

Acknowledgments: The Agriculture-Jihad Organization of Guilan Province is acknowledged for supporting this study.

How to cite this article:

Zeyrani, N., Mohammadi, M., & Mohiti-Asli, M. (2023). Effect of adding commercial phytogenics of Coxan, O.X. Plant, and Entex in feed and water on growth performance, intestinal morphology and microflora, and immune response of broilers. *Animal Production Research*, *12*(3), 1-14. doi: 10.22124/AR.2023.23563.1744

تحقیقات تولیدات دامی

سال دوازدهم/شماره سوم/پاییز ۱۴۰۲ (۱۴-۱)

مقاله پژوهشی

اثر افزودنی‌های گیاهی تجاری کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس در آب و خوراک بر عملکرد رشد، ریخت‌شناسی و میکروفلور روده و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

نسترن زیرانی [۱]، مهرداد محمدی [۲*]، مازیار محیطی اصلی [۲]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۴ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۵/۱۱ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۳)

چکیده

در این تحقیق، اثر افزودنی‌های گیاهی تجاری کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس بر عملکرد رشد، ریخت‌شناسی و میکروفلور روده و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی بررسی شد. تعداد ۳۳۶ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار، چهار تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار توزیع شدند. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (بدون افزودنی گیاهی) و اضافه کردن افزودنی‌های گیاهی کوکسان در خوراک (۳۰۰ mg/kg) و آب (۲۰۰ mL/۱۰۰۰ L)، اوایکس پلنت در خوراک (۲۰۰ mg/kg) و آب (۱۳۵ mL/۱۰۰۰ L) و انتکس در خوراک (۵۰۰ mg/kg) و آب (۳۵۰ mL/۱۰۰۰ L) بودند. مصرف روزانه خوراک و آب، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در کل دوره، تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارها نشان نداد. همچنین تیمارهای آزمایشی بر طول نسبی دئودنوم، ژژنوم، سکوم و کولون، و طول و مساحت پرز، عمق کریپت، ضخامت لایه لامینا پروپریا، ضخامت لایه عضلانی و ضخامت لایه ادونتیس اثری نداشتند. افزودن اوایکس پلنت و انتکس در خوراک سبب کاهش شمار باکتری *اشریشیا کلی* شد و مصرف کوکسان در آب، اوایکس پلنت در خوراک و آب و انتکس در خوراک سبب افزایش شمار باکتری‌های لاکتوباسیلوس شد ($P<۰/۰۵$). عیار آنتی‌بادی علیه SRBC در ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی در تمام جوجه‌های مصرف کننده افزودنی گیاهی در آب بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از این افزودنی-های گیاهی در آب نسبت به افزودن آنها در خوراک سبب افزایش بیشتر پاسخ های ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: افزودنی‌های گیاهی، پاسخ ایمنی، جوجه‌های گوشتی، ریخت‌شناسی روده، میکروفلور روده

* نویسندهٔ مسئول: mohammadi@guilan.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2023.23563.1744

مقدمه

در دهه اخیر، تحقیقات گسترده‌ای برای یافتن جایگزین-های موثر و کارآمد برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد انجام شده است. بیشتر این تحقیقات بر ترکیباتی نظیر آنزیم‌ها، اسیدهای آلی، پری‌بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها، گیاهان دارویی و محرک‌های سیستم ایمنی متمرکز بوده است (Nemati *et al.*, 2022; Rostami *et al.*, 2022). مواد زیست فعال موجود در گیاهان دارویی و ترکیبات حاصله از آنها دارای ویژگی‌های عملکردی مفیدی هستند. در سال‌های اخیر، استفاده از گیاهان و بهره‌گیری از فواید منحصر به فرد آن‌ها در درمان بسیاری از بیماری‌ها و بهبود وضعیت سلامتی در پژوهش‌های مربوط به طیور معمول شده است(Hashemi and Davoodi, 2010). این ترکیبات علاوه بر دارا بودن قابلیت‌هایی مانند تقویت پاسخ‌های ایمنی، بهبود بازده و عملکرد حیوان، اثر نامناسبی نیز بر مصرف کننده نداشته و سبب ایجاد تعادل در فلور میکروبی دستگاه گوارش می‌شوند (Griggs and Jacob, 2005).

استفاده از گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها (افزودنی‌های فیتوژنیک) سبب تحریک مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل خوراک، افزایش ماندگاری، بهبود سلامت و عملکرد دستگاه گوارش می‌شود که قابل مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد است (Grashorn, 2010). فیتوژنیک‌ها دارای فعالیت‌های زیستی متنوعی هستند، بنابراین دارای آثار مثبتی بر سلامت روده و افزایش عملکرد هستند (Mohiti-Asli *et al*., 2010). گزارش شده است که مشتقات گیاهی با دارا بودن انواع مختلفی از مواد موثر زیست فعال می‌توانند سبب افزایش ترشحات گوارشی و آنزیمی شوند و در نهایت، قابلیت هضم مواد مغذی را بهبود دهند (Dahal and Farran, 2010). آثار ضدمیکروبی، ضدویروسی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت‌های دیگر فیتوژنیک‌ها در گزارش‌های علمی مختلف تایید شده است (Mohiti-Asli *et al*., 2010).

ترکیبات افزودنی‌های گیاهی دارای نقش مهمی در تعیین آثار زیستی آنها هستند زیرا مولکول‌های زیست فعال آنها هنگام مصرف به‌صورت ترکیبی در مقایسه با مصرف به تنهایی ممکن است عملکرد متفاوتی داشته باشند (Jang *et al*., 2007). به نظر می‌رسد که استفاده از مخلوط بهینه چند گیاه دارویی در جیره با توجه به اثر هم‌افزایی مواد مؤثره موجود در آنها دارای آثار مثبتی بر عملکرد و کیفیت لاشه جوجه‌های گوشتی در مقایسه با مصرف انفرادی آن‌ها باشد. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که استفاده از ترکیب مواد موثر زیستی گیاهان دارویی دارای آثار مثبت بیشتری بر فراسنجه‌هایی مانند میکروفلور روده و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی باشند. هرچند گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها از دسته افزودنی-های طبیعی هستند، اما مطالعات بیشتری در رابطه با ساز و کار اثر آن‌ها، مطابقت با جیره، سمیت و بررسی ایمنی قبل از مصرف در تغذیه طیور لازم است (Jang *et al*., 2007). استفاده از افزودنی‌های خوراکی در جیره به دلیل مقدار اندک مصرف آنها همواره مشکلات مخلوط کردن دقیق و یکنواخت را به همراه دارد. همچنین، امروزه با رایج شدن استفاده از دان آماده در پرورش جوجه‌های گوشتی، بسیاری از پرورش‌دهندگان تمایل دارند افزودنی-های خوراکی را در آب آشامیدنی اضافه نمایند. بنابراین، این سوال مطرح است که افزودن این ترکیبات در خوراک یا آب آشامیدنی تفاوتی با هم دارد؟ سه افزودنی گیاهی تجاری که امروزه مورد استفاده قرار می‌گیرند کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس هستند. کوکسان حاوی پونه کوهی (ماده موثره منتول) و سیر (مواد موثره آلین و آلیسین)، اوایکس پلنت حاوی مرزه (ماده موثره کارواکرول و تیمول)، آویشن (ماده موثره تیمول و کارواکرول) و اولئورزین فلفل قرمز (ماده موثره کاپسایسین) و انتکس حاوی دارچین (ماده موثره سینامالدئید)، سیر و اکالیپتوس (ماده موثره سینئول) است. هدف از این تحقیق، مقایسه آثار استفاده از این افزودنی‌های گیاهی تجاری (در آب و خوراک) بر عملکرد رشد، میکروفلور روده، ریخت‌شناسی روده و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق از تعداد ۳۳۶ قطعه جوجه نر یک‌روزه گوشتی سویه راس ۳۰۸ با میانگین وزن یک روزگی برابر با ۴۰ گرم استفاده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار آزمایشی، چهار تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار (واحد آزمایشی) انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) تیمار شاهد، جیره پایه (بدون افزودنی‌گیاهی)، ۲) جیره حاوی ۳۰۰ mg/kg

افزودنی گیاهی کوکسان (شامل سیر و پونه کوهی) (Coxan, Phytotherapic solution, S.L., Spain)، ۳) افزودنی گیاهی کوکسان در آب (۲۰۰ mL/۱۰۰۰ L)؛ ۴) جیره حاوی ۲۰۰ mg/kg افزودنی گیاهی اوایکس پلنت (شامل مرزه خوزستانی، آویشن و فلفل قرمز) (O.X.Plant, Fanavari Novin Akam, Iran)، ۵) افزودنی گیاهی اوایکس پلنت در آب (۱۳۵ mL/۱۰۰۰ L)، ۶) جیره حاوی ۵۰۰ mg/kg افزودنی گیاهی انتکس (شامل دارچین، سیر، اکالیپتوس) (Entx, Phytosynthese, France) و ۷) افزودنی گیاهی انتکس در آب (۳۵۰ mL/۱۰۰۰ L) بودند. جیره‌های پایه مورد استفاده در آزمایش مطابق احتیاجات غذایی جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ متوازن شدند (جدول ۱).

جوجه‌های گوشتی در هر واحد آزمایشی روی بستری از پوشال در قفس زمینی به طول ۱/۶، عرض ۰/۸ و ارتفاع یک متر به مدت ۴۲ روز پرورش داده شدند. در سه روز ابتدایی پرورش، از آبخوری کله قندی و بعد از آن تا پایان دوره از آبخوری نیپل استفاده شد. برای هر قفس زمینی به‌طور جداگانه یک مخزن آب دربسته ۱۰ لیتری مدرج تعبیه شد که به سه نازل آبخوری که در هر قفس زمینی قرار داشتند، متصل بود. مصرف آب و خوراک، وزن بدن پرنده‌ها و تلفات در روزهای صفر، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ آزمایش اندازه‌گیری و ثبت شد. از این داده‌ها برای محاسبه افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی روزانه، آب مصرفی روزانه و ضریب تبدیل خوراک برای کل دوره استفاده شد. در ۴۲ روزگی از هر واحد آزمایشی، دو قطعه پرنده که وزن آن‌ها نزدیک به میانگین بود، انتخاب شدند و بعد از کشتار، طول اجزاء روده به‌صورت جداگانه (دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم) اندازه‌گیری شد.

بررسی ریخت‌شناسی روده بر اساس روش Iji *et al.* (2001) انجام شد. از هر پرنده به اندازه یک سانتی‌متر از ایلئوم برش داده شد، سپس نمونه‌های روده در ۴۲ روزگی در فرمالین ۱۰ درصد غوطه‌ور شدند. پس از تثبیت، بافت‌ها در مراحل مختلف پاساژ قرار داده شد، اسلایدهای تهیه شده با میکروسکوپ نوری مورد آزمایش قرار گرفت و ارتفاع و قطر ویلی‌ها، عمق کریپت، ضخامت لایه عضلانی، ضخامت لایه لامینا پروپریا و ضخامت لایه ادونتیس با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین اندازه‌گیری شد.

جهت تعیین جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌ها، در روز ۴۲، از هر تکرار همان دو قطعه جوجه گوشتی کشتار شده، مورد بررسی قرار گرفتند. پس از باز کردن حفره شکمی، ایلئوم از ناحیه زائده مکل و محل اتصال آن به سکوم‌ها و راست روده با قیچی استریل جدا شده و حدود دو سانتی‌متر از بخش میانی ایلئوم نمونه‌برداری شد. برای تعیین جمعیت باکتری *اشریشیاکلی* از محیط کشت EMB و برای باکتری لاکتوباسیلوس از محیط کشت MRS استفاده شد. پس از کشت و انکوباسیون، تعداد کلنی‌ها مورد شمارش قرار گرفتند و به‌صورت لگاریتم ۱۰ گزارش شد.

برای بررسی پاسخ ایمنی هومورال، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۲۵ درصد گلبول قرمز گوسفندی در PBS در روزهای ۱۲ و ۲۹ روزگی پرورش به‌وسیله سرنگ انسولین به عضله سینه جوجه‌ها تزریق شد (Gholamrezaie Sani *et al.*, 2012). برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال، در روزهای ۲۸، ۳۵ و ۴۲ پرورش از جوجه‌ها خون‌گیری شد. برای اندازه‌گیری عیار Anti-SRBC، ۲۵ میکرولیتر از محلول ۰/۲۵ درصد گلبول قرمز به همه چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد. میکروپلیت‌ها به مدت سه ساعت در انکوباتور قرار داده شدند. نتیجه مثبت زمانی است که حداقل در ۵۰ درصد از SRBC آگلوتیناسیون مشاهده شود. برای اندازه‌گیری عیار ایمونوگلوبولین G ابتدا مانند مراحل ذکر شده، سیستم کمپلمان را غیرفعال کرده و سپس ۲۵ میکرولیتر از نمونه سرم جوجه با ۲۵ میکرولیتر محلول ۰/۲ مولار ۲- مرکاپتواتانول به مدت یک ساعت انکوبه شد. از آن جایی که ایمونوگلوبولین M به ۲- مرکاپتواتانول حساس است و در حضور آن تخریب می‌شود با افزودن این ماده می‌توان ایمونوگلوبولین M را حذف کرده و عیار مشاهده شده نشان‌دهنده میزان ایمونوگلوبولین G است. سایر مراحل مانند محاسبه عیار Anti-SRBC انجام شد. از تفاضل عیار ایمونوگلوبولین G از عیار Anti-SRBC، عیار ایمونوگلوبولین M محاسبه شد. عیار آنتی بادی علیه بیماری نیوکاسل به روش HI اندازه‌گیری شد.

داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS 9.3 تجزیه شده و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌دار پنج درصد مقایسه شد. برای مقایسه اثر استفاده از افزودنی‌های گیاهی در آب آشامیدنی یا در خوراک از مقایسات متعامد (ارتوگونال) استفاده شد.

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره آغازین، رشد و پایانی (درصد)

Table 1. Ingredients and chemical composition of broiler diet in the starter, grower, and finisher phases (%)

Ingredients	Nutrition phases			Chemical composition	Nutrition phases		
	Starter (0-10 day)	Grower (11-24 day)	Finisher (25-42 day)		Starter (0-10 day)	Grower (11-24 day)	Finisher (25-42 day)
Corn	52.14	54.60	59.41	Metabolizable energy (kcal/kg)	2850	2950	3050
Soybean meal	39.80	38.21	32.92	Crude protein (%)	22.17	20.46	18.59
Soy oil	1.62	3.19	3.91	Digestible methionine (%)	0.61	0.56	0.51
Corn gluten meal	1.96	0	0	Dig. Methionine + cystine(%)	0.90	0.83	0.76
Di-calcium phosphate	1.98	1.76	1.58	Digestible lysine (%)	1.22	1.09	0.98
Calcium carbonate	0.99	0.90	0.84	Digestible threonine (%)	0.82	0.73	0.66
Sodium chloride	0.24	0.27	0.22	Digestible valine (%)	0.91	0.85	0.77
Sodium bicarbonate	0.15	0.11	0.19	Digestible arginine (%)	1.33	1.27	1.14
L-threonine	0.11	0.07	0.06	Digestible isoleucine (%)	0.83	0.78	0.70
DL-methionine	0.31	0.28	0.26	Calcium (%)	0.96	0.87	0.79
L-lysine HCl	0.20	0.11	0.11	Available phosphorus (%)	0.48	0.44	0.40
Mineral premix[1]	0.25	0.25	0.25	Sodium (%)	0.15	0.15	0.15
Vitamin premix[2]	0.25	0.25	0.25	Electrolytes balance (mEq/kg)	228	223	210

[1] Vitamin premix per kg of diet 9000 IU of vitamin A, 2000 IU of vitamin D_3, 18 IU of vitamin E, 2 mg K_3, 1.8 mg B_1, 6.6 mg B_2, 30 mg B_3, 10 mg vitamin B_5, 3 mg B_6, 1 mg B_9, 0.015 mg B_{12}, 0.01 mg vitamin H_2, 500 mg It provided choline and 1 mg of antioxidants.

[2] The mineral premix provided 50 mg of iron, 100 mg of manganese, 85 mg of zinc, 10 mg of copper, 1 mg of iodine, and 0.2 mg of selenium per kg of diet.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به اثر افزودنی‌های گیاهی تجاری مختلف بر صفات عملکرد رشد و میانگین آب مصرفی روزانه در کل دوره در جدول ۲ نشان داده شده است. اثر افزودن افزودنی‌های مورد ازمایش در آب و خوراک بر میانگین خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل خوراک و مصرف آب روزانه در کل دوره معنی‌دار نبود. جوجه‌های گوشتی که اوایکس پلنت را در آب آشامیدنی دریافت نمودند خوراک مصرفی بیشتر ($P<۰/۰۶$) و افزایش وزن روزانه بیشتری ($P<۰/۰۷$) نسبت به گروه شاهد داشتند. سطح احتمال برای اختلاف بین میانگین-های داده‌های عملکردی اندکی بیشتر از سطح انتخاب شده برای تفاوت معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بود که این مسأله به دلیل بالا بودن میزان خطای آزمایشی در مقایسه با اثر تیمار است. به نظر می‌رسد اگر خطای اندازه‌گیری با افزایش تعداد جوجه در هر قفس و کنترل دقیق‌تر کاهش می‌یافت تفاوت‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار می‌شد. در چنین مواردی محققان سطح پایین‌تری از احتمال را در نظر می‌گیرند تا مرتکب خطای نوع دوم یعنی عدم رد فرض صفر به اشتباه نشوند.

از آنجایی که میزان آب مصرفی جوجه‌ها تغییری نداشت می‌توان نتیجه گرفت که افزودنی‌های اضافه شده در آب در مقادیر مورد بررسی، طعم تند یا زننده‌ای ندارند که سبب امتناع پرنده از آشامیدن آب شود. گزارش شده است که افزودن ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره گیاه نعناع در هر لیتر در آب و همچنین مصرف گیاه به‌لیمو به مقدار ۴۰۰ میلی-گرم در لیتر در آب جوجه‌های گوشتی سبب کاهش مصرف آب در هفته چهارم نسبت به گروه شاهد شد (Hernandez-Coronado *et al*., 2019).

مصرف پودر خشک گیاهان، عصاره‌های گیاهی و اسانس-های آنها، آثار متفاوتی بر مقدار خوراک مصرفی و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی نشان داده است. اسانس‌های گیاهی محافظت نشده حاوی غلظت بالایی از مواد زیست فعال گیاهان دارویی هستند که ممکن است بو یا طعم تند و زننده‌ای داشته باشند و مصرف مقادیر زیاد آنها

جدول ۲- اثر افزودنی‌های گیاهی کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس در آب و خوراک بر عملکرد رشد و مصرف آب روزانه در کل دوره

Table 2. Effect of phytogenic additives of Coxan, O.X. Plant, and Entex in drinking water and feed on growth performance and daily water consumption in the whole period

Treatments	Average daily feed intake (g/day/bird)	Average daily gain (g/day/bird)	Feed conversion ratio	Average daily water consumption (mL/day/bird)
Control	100.1	56.3	1.84	145.1
Coxsan in feed	99.4	56.2	1.83	152.3
Coxsan in water	102.2	59.8	1.76	157.8
O.X. Plant in feed	106.4	59.6	1.84	154.0
O.X. Plant in water	106.2	60.9	1.79	150.3
Entex in feed	100.3	59.5	1.74	148.4
Entex in water	102.7	58.0	1.82	151.2
SEM	0.81	0.49	0.011	2.27
P-value	0.078	0.061	0.073	0.87
Phytogenics in water	103.7	57.8	1.79	153.1
Phytogenics in feed	102.0	56.5	1.80	151.5
SEM	0.46	0.28	0.006	1.31
P-value	0.22	0.66	0.33	0.78

شاید سبب امتناع پرنده از خوردن و کاهش مصرف خوراک شود (Hernandez *et al*., 2004). مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم ترکیب تجاری عصاره حاوی اسانس گیاهان پونه، فلفل قرمز و دارچین در کیلوگرم جیره و ۵۰۰۰ میلی‌گرم عصاره گیاهان خانواده نعناع (آویشن، رزماری و مریم گلی) در کیلوگرم جیره، اثری بر مصرف خوراک در کل دوره نداشت (Hernandez *et al*., 2004). همچنین، ترکیب گیاهی تجاری حاوی تیمول و کارواکرول به مقدار ۶۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سبب کاهش مصرف خوراک روزانه در ۲۴-۱۱ روزگی، ۴۲-۲۵ روزگی و ۴۲-۰ روزگی شد (Hashemipour *et al*., 2013). مصرف سیر به مقدار ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در کیلوگرم سبب کاهش مصرف خوراک در کل دوره نسبت به گروه شاهد شد و هرچه مقدار سیر در خوراک افزایش پیدا کرد، مصرف خوراک کمتر شد (Varmaghany *et al*., 2015). افزودنی گیاهی اوایکس‌پلنت، کمپلکس ریزپوشانی شده اسانس‌های گیاهی است. فناوری ریزپوشانی از شیوه‌های نوین پوشش‌دار کردن ترکیبات با ارزش به منظور محافظت آنها در شرایط محیط است. بنابراین، علاوه بر جلوگیری از تبخیر و هدر رفت اسانس‌ها، به دلیل پوشش-دار شدن، بوی آنها کمتر و ملایم‌تر متصاعد می‌شود و برای پرنده تند و زننده نیست. همچنین رها شدن این ترکیبات در دستگاه گوارش، آهسته و کنترل شده است.

در تحقیق حاضر، تفاوت معنی‌داری در ضریب تبدیل خوراک بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. گزارش شده است که افزودن ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ترکیب تجاری حاوی اسانس‌های گیاهی پونه، فلفل قرمز و دارچین و ۵۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره گیاهان آویشن، رزماری و مریم گلی در کل دوره، اثری بر ضریب تبدیل خوراک نداشت (Hernandez *et al*., 2004). یک ترکیب تجاری حاوی عصاره گیاهان مختلف از جمله ریحان، زیره، برگ بو، پونه کوهی، مریم گلی، چای و آویشن به مقدار ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در تن خوراک، اثری بر ضریب تبدیل خوراک در کل دوره نداشت (Khattak *et al*., 2014). افزودن ترکیب گیاهی حاوی تیمول و کارواکرول به مقدار ۶۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سبب افزایش ضریب تبدیل خوراک طی دوره‌های مختلف پرورش شد (Hashemipour *et al*., 2013). در یک مطالعه، افزودن دو مخلوط تجاری گیاهان دارویی شامل پونه کوهی، دارچین و فلفل و دیگری شامل مریم گلی، آویشن و رزماری به میزان ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی-گرم در کیلوگرم به جیره جوجه‌های گوشتی، ضریب تبدیل خوراک را در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار حاوی آویلامایسین تغییر نداد (Hernandez *et al*., 2004). همچنین، در تحقیق مذکور، هیچ تفاوتی در ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۲۰۰ میلی‌گرم

در کیلوگرم اسانس‌های پونه، دارچین و فلفل مشاهده نشد (Hernandez *et al*., 2004). استفاده از ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسانس‌های گیاهی ریزپوشانی شده دارچین یا میخک یا پونه کوهی یا فلفل قرمز در هر کیلوگرم جیره جوجه‌های گوشتی در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار آویلامایسین تفاوتی در وزن زنده، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی نداشت (Barreto *et al*., 2008).

افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم ترکیب فیتوژنیک حاوی تیمول، سینامالدئید و پیش‌سازهای آن در کیلوگرم جیره جوجه-های ماده کاب، اثری بر میزان خوراک مصرفی، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک نداشت (Lee *et al*., 2004). تاکنون گزارشات متناقضی از اثر اسانس‌های گیاهی بر عملکرد رشد منتشر شده است. عوامل درونی و بیرونی مانند وضعیت فیزیولوژیکی حیوان، ژنتیک، وجود بیماری، شرایط محیط پرورش، بهداشت سالن، مدیریت، سیستم تغذیه، ترکیب جیره غذایی، مواد موثره موجود در اسانس‌های گیاهی مختلف و روش‌های مختلف استفاده (آزاد یا ریزپوشانی شده)، همگی می‌توانند بر کارآیی این افزودنی‌ها بر عملکرد طیور موثر باشند (Giannenas *et al*., 2003). اسانس‌های گیاهی سبب بهبود عملکرد طیور می-شوند زیرا این مواد، ترشح آنزیم‌های هضمی را تحریک می‌کنند و از این مسیر بر میزان جذب مواد مغذی، میزان مصرف خوراک و سرعت عبور مواد از دستگاه گوارش اثر می‌گذارند (Cross *et al*., 2007). ترکیبات فنولی موجود در اسانس‌ها دارای خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی بوده و از راه کاهش باکتری‌های مضر در دستگاه گوارش و تحریک ترشح آنزیم های گوارشی، آثار مثبت و موثری بر افزایش عملکرد دارند (Cross *et al*., 2007).

در آزمایش حاضر، طول نسبی دئودنوم، ژژنوم، سکوم و کولون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۳)، اما در جوجه‌هایی که انتکس را در خوراک دریافت کرده بودند، طول نسبی ایلئوم نسبت به گروه شاهد کمتر بود (P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری در طول نسبی بخش-های مختلف روده در تیمارهایی که افزودنی گیاهی را چه در خوراک و چه در آب دریافت کردند، مشاهده نشد.

رشد طولی و افزایش وزن روده کوچک برای ایجاد بیشترین سطح جذب مواد مغذی است که از جمله ساز و کارهای مقابله با افزایش ویسکوزیته در روده است (Bedford, 2000). کاهش طول روده کوچک باعث کاهش دسترسی به مواد مغذی می‌شود، زیرا سطح کوچک‌تری از روده برای جذب مواد مغذی در اختیار است، بنابراین احتمالاً در جوجه‌هایی که روده آن‌ها توسعه یافته‌تر و دارای طول بیشتری است عملکرد پرنده نیز بهبود می‌یابد. چنانچه بسیاری از محققین گزارش کردند که بین طول روده و عملکرد پرنده، رابطه مستقیمی وجود دارد، به-طوری که روده بزرگ‌تر به افزایش وزن بیشتر پرنده منجر می‌شود (Bedford, 2000).

جدول ۳- اثر افزودنی‌های گیاهی کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس در آب و خوراک بر طول نسبی بخش‌های مختلف روده جوجه‌های گوشتی (سانتی‌متر)

Table 3. Effect of phytogenic additives of Coxan, O.X. Plant, and Entex in water and feed on the relative length of different sections of small intestine of broilers

Treatments	Duodenum	Jejunum	Ileum	Cecum	Colon
Control	13.86	38.95	40.82 [a]	8.77	4.33
Coxsan in feed	13.41	36.98	39.25 [ab]	8.71	4.03
Coxsan in water	14.37	36.42	37.96 [ab]	8.45	3.55
O.X.Plant in feed	17.11	36.58	39.33 [ab]	9.00	3.86
O.X.Plant in water	13.45	36.37	39.70 [ab]	8.93	3.55
Entex in feed	13.17	33.72	34.47 [b]	8.77	3.81
Entex in water	13.50	36.17	38.87 [ab]	8.42	4.48
SEM	0.510	0.517	0.503	0.109	0.125
P-value	0.411	0.279	0.021	0.766	0.307
Phytogenics in water	13.77	36.32	38.84	8.6	3.86
Phytogenics in feed	11.23	35.76	37.68	8.82	3.9
SEM	0.29	0.29	0.29	0.06	0.072
P-value	0.500	0.620	0.250	0.299	0.846

[a-b] Different superscripts in each column indicate a significant difference (P<0.05).

نتایج مربوط به مقایسه میانگین ریخت‌شناسی ایلئوم نشان داد که مصرف افزودنی‌های گیاهی مختلف، اثر معنی‌داری بر طول پرز، مساحت پرز، عمق کریپت، ضخامت لایه لامینا پروپریا، ضخامت لایه عضلانی و ضخامت لایه ادونتیس نداشت (جدول ۴). جوجه‌هایی که ۵۰۰ میلی‌گرم افزودنی گیاهی انتکس در هر کیلوگرم خوراک مصرف نمودند عرض پرز کمتری در ناحیه ایلئوم در مقایسه با جوجه‌های گروه شاهد داشتند ($P<۰/۰۵$).

نتایج تحقیق حاضر در مورد انتکس (حاوی سیر، دارچین و اکالیپتوس) با گزارشی که استفاده از پودر سیر در جیره را سبب کاهش عرض پرزها در دئودنوم و ایلئوم اعلام کرده است، مطابقت دارد (Shams Shargh *et al*., 2012). مصرف گیاهی با نام تجاری تکناروما که حاوی اسانس‌های گیاهی ریحان، زیره، برگ بو، پونه کوهی، مریم گلی، چای و آویشن بود اثری بر طول پرز، عرض پرز، عمق کریپت و مساحت پرز نداشت (Khattak *et al*., 2014). هرچه ارتفاع پرزهای روده بیشتر و عمق آن‌ها کمتر باشد ظرفیت جذبی روده کوچک بیشتر می‌شود، پرز بلندتر سبب ممانعت از عبور سریع‌تر خوراک و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شود (Khattak *et al*., 2014). لامینا پروپریا یکی از اجزای اصلی بافت لنفاوی مرتبط با روده است که یک بافت پیوندی بوده و زیر اپیتلیوم روده قرار دارد، دارای رگ‌های خونی فراوانی است و در قسمت زیرین سرشار از سیستم عصبی روده است. پوشش مخاط حاوی جمعیت قابل ملاحظه‌ای از سلول‌های ایمنی مانند لنفوسیت‌های T و B، ایمونوگلوبولین‌ها، ماکروفاژها، ماست‌سل‌ها و پلاسماسل‌ها است، به‌علاوه، لنفوسیت‌های درون بافت پوششی در داخل لایه اپیتلیال روده مستقر هستند و سیتوکین‌های متعددی را تولید می‌کنند که پاسخ‌های ایمنی را سبب می‌شوند (Daneshyar and Sabzi, 2011). در مورد گیاهان دارویی، گزارشات مختلفی مبنی بر افزایش، عدم تغییر و همچنین کاهش در طول و عمق پرزهای روده در قسمت ژژنوم و روده بزرگ جوجه‌های گوشتی در زمان استفاده از گیاهان دارویی وجود دارد (Demir *et al*., 2005). تغییرات ریخت‌شناسی ایجاد شده در روده می‌تواند بیانگر تاثیر محرک‌های رشد در میزان سطح جذب روده و در نتیجه عملکرد رشد جوجه‌ها باشد. طول و قطر پرزهای روده از شاخص‌های هیستومورفولوژیکی هستند که هر افزایشی در آن‌ها سبب افزایش سطح جذب مواد غذایی می‌شود. سلول‌های پوششی روده به‌طور پیوسته دستخوش تغییر می‌شوند و با تزاید و بلوغ در کریپت‌ها و رشد پرزها جبران می‌شود. عمق کریپت‌ها با میزان جایگزینی سلول‌های روده‌ای وابسته بوده و افزایش عمق کریپت نشان‌دهنده افزایش نیاز به جایگزینی سلول‌های روده‌ای است. این افزایش نیاز به جایگزینی سلول‌های روده‌ای می‌تواند در اثر افزایش ابعاد پرزها و یا حفظ ابعاد پرزها در نتیجه ازدیاد تخریب آن‌ها باشد. از طرف دیگر، افزایش میکروفلور مفید روده شرایط بهتری را برای افزایش عمر سلول‌های روده‌ای و نیاز کمتر به جایگزینی سلولی فراهم می‌سازد و در نتیجه، عمق کریپت‌ها تغییر نیافته یا کاهش می‌یابد (Markovic *et al*., 2009).

نتایج مربوط به اثر افزودنی‌های گیاهی مختلف بر جمعیت برخی باکتری‌های ایلئوم جوجه‌های گوشتی در روز ۴۲ پرورش در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد جمعیت باکتری‌های *اشریشیاکلی* در ایلئوم جوجه‌هایی که افزودنی اوایکس پلنت و انتکس در خوراک دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). جمعیت باکتری‌های *اشریشیاکلی* تیمار انتکس در خوراک نسبت به تیمار کوکسان در خوراک نیز کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). همچنین جمعیت باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* در ایلئوم جوجه‌هایی که کوکسان در آب، اوایکس پلنت در خوراک و آب و انتکس در خوراک دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری در جمعیت باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *لاکتوباسیلوس* تیمارهایی که افزودنی گیاهی را چه در خوراک و چه در آب دریافت کردند مشاهده نشد.

گزارش شده است مصرف اسانس برگ اکالیپتوس در جوجه‌های گوشتی، شمار لاکتوباسیل‌ها را در روده افزایش داد (Shams Shargh *et al*., 2012). از آنجایی که در افزودنی تجاری انتکس، اکالیپتوس وجود دارد می‌توان بیان کرد که نتایج تحقیق حاضر با گزارش‌های قبلی مطابقت دارد. همچنین افزودن پودر برگ اکالیپتوس در سطح یک و دو درصد به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی سبب کاهش شمار باکتری *اشریشیاکلی* شد (Shams Shargh *et al*., 2012).

جدول ۴- اثر افزودنی‌های گیاهی کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس در آب و خوراک بر ریخت‌شناسی ایلئوم جوجه‌های گوشتی

Table 4. Effect of phytogenic additives of Coxan, O.X.Plant, and Entex in water and feed on morphology of ileum in broilers

Treatments	Villus length (µm)	Villus width (µm)	Villus surface area (µm^2)	Crypt depth (µm)	Lamina propria thickness (µm)	Muscle layer thickness (µm)	Advantis layer thickness (µm)	Villi length / Crypt depth
Control	655	233 ^{a}	477522	177	36	263 ^{ab}	44	3.75
Coxsan in feed	773	162 ^{ab}	390026	165	34	188 ^{a}	36	4.80
Coxsan in water	716	178 ^{ab}	404774	172	31	258 ^{ab}	39	4.27
O.X.Plant in feed	901	177 ^{ab}	491457	196	29	266 ^{ab}	37	4.60
O.X.Plant in water	638	175 ^{ab}	351746	215	36	296 ^{ab}	45	3.02
Entex in feed	817	154 ^{b}	398736	260	22	354 ^{a}	40	3.60
Entex in water	816	176 ^{ab}	440143	185	26	280 ^{ab}	32	4.57
SEM	29.02	6.95	17857.11	10.19	1.75	13.97	2.02	0.228
P-value	0.146	0.050	0.362	0.163	0.204	0.05	0.615	0.340
Phytogenics in water	723	176	398887	190	31	278	38	3.95
Phytogenics in feed	830	164	426739	207	28	269	37	4.33
SEM	16.85	4.01	10309.8	5.88	1.01	8.06	1.16	0.131
P-value	0.089	0.402	0.483	0.453	0.472	0.760	0.800	0.467

$^{a-b}$ Different superscripts in each column indicate a significant difference (P<0.05).

جدول ۵- اثر افزودنی‌های گیاهی کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس در آب و خوراک بر میکروفلور ایلئوم جوجه‌های گوشتی (۱۰^{۳} CFU/g)

Table 5. Effect of phytogenic additives of Coxan, O.X. Plant, and Entex in water and feed on ileal microflora of broilers (10^3 CFU/g)

Treatments	*Escherichia coli*	Lactobacillus
Control	7.2 ^{a}	6.4^{b}
Coxsan in feed	7.1^{ab}	6.8^{ab}
Coxsan in water	6.8 ^{abc}	7.1 ^{a}
O.X.Plant in feed	6.6 ^{bc}	7.0 ^{a}
O.X.Plant in water	6.9 ^{abc}	7.1 ^{a}
Entex in feed	6.5 ^{c}	7.0 ^{a}
Entex in water	7.0 ^{abc}	6.9 ^{ab}
SEM	0.04	0.05
P-value	0.001	0.005
Phytogenics in water	6.9	7.03
Phytogenics in feed	6.7	6.9
SEM	0.02	0.02
P-value	0.178	0.511

$^{a-c}$ Different superscripts in each column indicate a significant difference (P<0.05).

استفاده از افزودنی گیاهی تجاری اکسترکت که حاوی مخلوطی از کارواکرول، سینماآلدئید و کاپسایسین است سبب افزایش شمار *لاکتوباسیل‌ها* در جوجه‌های گوشتی شده است (Jamroz *et al*., 2005). تیمول و کارواکرول سبب متلاشی شدن غشای بیرونی باکتری و آزادسازی مواد غشایی از سلول‌ها به محیط خارجی می‌شوند. استفاده از اسانس‌های گیاهی در جیره طیور، ضمن بهبود جمعیت میکروبی از راه افزایش تعداد *لاکتوباسیل‌ها*، با بهبود صفات ریخت‌شناسی روده، احتمالاً سبب بهبود توانایی هضم و جذب دستگاه گوارش و ارتقاء بازده رشد جوجه‌های گوشتی می‌شود (Ghazanfari *et al*., 2015). از معایب وجود میکروب‌های مضر در دستگاه گوارش، افزایش تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه مواد هضمی، فعالیت دی آمیناسیونی پروتئین و اسیدهای آمینه مصرفی و نیز افزایش سرعت تجزیه آن‌ها در اثر ترشح موادی از قبیل آنزیم اوره‌آز به وسیله میکروب‌ها است و با توجه به اینکه کاربرد گیاهان دارویی سبب کاهش جمعیت میکروبی مضر دستگاه گوارش می‌شود، بنابراین

سرعت تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه مواد گوارشی کاهش یافته و مقادیر بیشتری از آن‌ها جذب و در بدن ذخیره می‌شوند و منجر به بهبود بازده لاشه و کاهش تبدیل پروتئین به چربی شده و مقادیر کمتری چربی نیز می‌تواند در بدن تجمع یابد (Ghazanfari *et al*., 2015).

نتایج مربوط به اثر افزودنی‌های گیاهی تجاری بر میانگین عیار آنتی‌بادی کل، IgG و IgM علیه SRBC، در روزهای ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی دوره پرورش در جدول ۶ نشان داده شده است. میانگین عیار آنتی‌بادی کل، IgG و IgM علیه SRBC در ۲۸ روزگی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد با سایر تیمارها وجود نداشت. عیار آنتی-بادی کل علیه SRBC افزودنی کوکسان در آب نسبت به افزودنی انتکس در خوراک افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). عیار آنتی‌بادی IgM افزودنی کوکسان در آب نسبت به افزودنی کوکسان در خوراک، اوایکس پلنت در خوراک و انتکس در خوراک و آب افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). اختلاف معنی-داری در میانگین عیار آنتی‌بادی کل علیه SRBC و IgG تیمارهایی که افزودنی گیاهی را چه در خوراک و چه در آب دریافت کردند مشاهده نشد. میانگین عیار آنتی‌بادی IgM تیمارهایی که افزودنی گیاهی را در آب دریافت کردند نسبت به تیمارهایی که همین افزودنی‌ها را در خوراک دریافت کردند افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

میانگین عیار آنتی‌بادی کل علیه SRBC در ۳۵ روزگی در جوجه‌هایی که کوکسان و اوایکس پلنت در آب، انتکس در خوراک و آب دریافت کردند نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). همچنین میانگین عیار آنتی‌بادی IgG در جوجه‌هایی که افزودنی گیاهی کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس در آب دریافت کردند نسبت به گروه شاهد بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری در میانگین عیار آنتی‌بادی IgM تیمارهایی که افزودنی گیاهی را چه در خوراک و چه در آب دریافت کردند مشاهده نشد. میانگین عیار آنتی‌بادی کل علیه SRBC و IgG در تیمارهایی که افزودنی گیاهی را در آب دریافت کردند نسبت به تیمارهایی که همین افزودنی‌ها را در خوراک دریافت کردند افزایش یافت ($P<۰/۰۵$).

میانگین عیار آنتی‌بادی کل علیهSRBC در ۴۲ روزگی در جوجه‌هایی که کوکسان و اوایکس پلنت در آب و انتکس در خوراک یا آب دریافت کرده بودند نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). میانگین عیار IgG در جوجه-هایی که افزودنی‌های گیاهی کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس را در آب دریافت کرده بودند، نسبت به شاهد افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری در میانگین عیار آنتی‌بادی IgM تیمارهایی که افزودنی گیاهی را چه در خوراک و چه در آب دریافت کردند مشاهده نشد. میانگین عیار آنتی‌بادی کل علیه SRBC و IgG تیمارهایی که افزودنی گیاهی را در آب دریافت کردند نسبت به تیمارهایی که همین افزودنی‌ها را در خوراک دریافت کردند افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). مصرف افزودنی-های گیاهی مختلف در آب و خوراک در ۴۲ روزگی اثری بر میانگین عیار آنتی‌بادی علیه واکسن نیوکاسل نداشت (جدول ۶).

گزارش شده است افزودنی گیاهی (تیمول و کارواکرول)، پاسخ در برابر آنتی‌ژن گلبول قرمز گوسفند را به‌طور خطی در جوجه‌های گوشتی افزایش داد و هچنین موجب افزایش IgG شد (Hashemipour *et al*., 2013). تقویت سیستم ایمنی بدن به وسیله عصاره اکالیپتوس در آزمایش‌های مختلف گزارش شده است که در نتایج مطالعه حاضر نیز تایید شد (Karimi *et al*., 2015). استفاده از ۰/۱ درصد پودر سیر، فلفل سیاه و فلفل قرمز سبب افزایش عیار آنتی‌بادی نسبت به گروه شاهد در جوجه‌های گوشتی شد. بالا رفتن عیار آنتی‌بادی می‌تواند شاخصی از افزایش فعالیت پاسخ سیستم ایمنی خونی در جوجه‌های دریافت کننده ۰/۲ درصد پودر فلفل قرمز باشد (Puvaca *et al*., 2015). فلفل قرمز به دلیل داشتن ویتامین C سبب کاهش تنش و افزایش ایمنی در بدن شده و نقش مهمی در افزایش تجزیه و توانایی و رسوب کلسترول و چربی در بدن دارد (Puvaca *et al*., 2015). استفاده از پودر مرزه اثری بر غلظت آنتی‌بادی ضد ویروس نیوکاسل نداشت (Nobakht *et al*., 2012).

عملکرد حیوانات به‌صورت قابل توجهی تحت تاثیر وضعیت سلامتی و ایمنی حیوان است. سیستم ایمنی ضعیف یا در شرایط تنش، هنگام درگیر شدن با بیماری‌های عفونی سبب کاهش وزن می‌شود، بنابراین کاربرد مواد محرک سیستم ایمنی با بهبود وضعیت ایمنی می‌تواند سبب افزایش عملکرد شود. تقویت سیستم ایمنی در پرورش طیور برای پیشگیری از بروز بیماری‌ها مهم است.

جدول ۶- اثر افزودنی‌های گیاهی کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس در آب و خوراک بر عیار آنتی‌بادی کل، IgG و IgM علیه SRBC و عیار آنتی‌بادی علیه واکسن نیوکاسل

Table 6. Effect of phytogenic additives of Coxan, O.X.Plant, and Entex in water and feed on total antibody titer, IgG, and IgM against SRBC and antibody titer against Newcastle disease vaccine

Treatment	Day 28			Day 35			Day 42			Newcastle titer
	Anti-SRBC	IgG	IgM	Anti-SRBC	IgG	IgM	Anti-SRBC	IgG	IgM	
Control	1.5 ^{ab}	0.2	1.2 ^{ab}	5.6 ^{b}	3.6 ^{b}	2.0	4.3 ^{c}	2.8 ^{c}	1.5	6.0
Coxsan in feed	2.1 ^{ab}	1.0	1.1 ^{b}	7.6 ^{ab}	6.6 ^{ab}	1.0	5.6 ^{bc}	3.8 ^{bc}	1.7	4.0
Coxsan in water	2.6 ^{a}	0.7	1.8 ^{a}	9.6 ^{a}	8.2 ^{a}	1.3	7.0 ^{ab}	5.2 ^{ab}	1.7	5.0
O.X.Plant in feed	1.5 ^{ab}	0.5	1.0 ^{b}	7.3 ^{ab}	5.5 ^{ab}	1.8	5.7 ^{bc}	4.2 ^{abc}	1.5	4.2
O.X.Plant in water	1.6 ^{ab}	0.3	1.2 ^{ab}	9.2 ^{a}	7.5 ^{a}	1.7	7.2 ^{ab}	5.5 ^{ab}	1.7	5.8
Entex in feed	1.1 ^{b}	0.1	1.0 ^{b}	8.5 ^{a}	6.5 ^{ab}	2.0	7.0 ^{ab}	5.0 ^{abc}	2.0	5.3
Entex in water	1.5 ^{ab}	0.3	1.1 ^{b}	9.3 ^{a}	7.1 ^{a}	2.2	8.1 ^{a}	6.5 ^{a}	1.6	4.7
SEM	0.11	0.08	0.06	0.29	0.31	0.13	0.24	0.24	0.08	0.26
P-value	0.012	0.080	0.004	0.001	0.001	0.158	0.001	0.001	0.739	0.303
Phytogenics in water	1.9	0.4	1.3^{a}	9.3^{a}	7.6^{a}	1.7	7.4^{a}	5.7^{a}	1.6	5.1
Phytogenics in feed	1.5	0.5	1.03^{b}	7.8^{b}	6.2^{b}	1.6	6.1^{b}	4.3^{b}	1.7	4.5
SEM	0.06	0.04	0.03	0.16	0.17	0.07	0.13	0.13	0.04	0.15
P-value	0.175	0.816	0.005	0.005	0.023	0.496	0.004	0.004	0.818	0.259

$^{a-c}$ Different superscripts in each column indicate a significant difference (P<0.05).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد افزودنی‌های گیاهی تجاری کوکسان، اوایکس پلنت و انتکس بر عملکرد رشد، طول نسبی و ریخت‌شناسی روده اثر معنی‌داری نداشت. جمعیت باکتری فرصت‌طلب *اشریشیا کلی* با افزودن اوایکس پلنت و انتکس در جیره کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت. به‌طور کلی، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که اضافه کردن افزودنی‌های گیاهی مورد آزمایش نه تنها اثر منفی بر مصرف آب آشامیدنی جوجه های گوشتی ندارد، بلکه استفاده از آنها در آب سبب ارتقای بیشتر پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی نسبت به افزودن آنها در خوراک می‌شود.

تشکر و قدردانی

از سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان بابت حمایت مـالی از این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود.

فهرست منابع

Barreto, M. S. R., Menten, J. F. M., Racanicci, A. M. C., Pereira, P. W. Z., & Rizzo, P. V. (2008). Plant extracts used as growth promoters in broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science, 10*, 109-115. doi: 10.1590/s1516-635x2008000200006

Bedford, M. R. (2000). Exogenous enzymes in monogastric nutrition-their current value and future benefits. *Animal Feed Science and Technology, 86*(1), 1-13. doi: 10.1016/s0377-8401(00)00155-3

Cross, D. E., Mc Devitt, R. M., 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*, 496-506. doi: 10.1080/00071660701463221

Dahal, I. M., & Farran, M. T. (2010). Effects of dried crops on the performance and carcass flavor of broilers. *International Journal of Poultry Science, 10*, 152-156. doi: 10.3923/ijps.2011.152.156

Daneshyar, M., & Sabzi, B. (2011). Phytogenic in animal nutrition: Natural solutions to optimize gastrointestinal health and Function. Urmia University Press. [In Persian]

Demir, E., Sarica, S., Ozcan, M. A., & Suicmez, M. (2005). The use of natural feed additives as alternatives to an antibiotic growth promoter in broiler diets. *Archiv fur Geflugelkunde, 69*(3), 110-116. doi: 10.1080/00071660301944

Ghazanfari, S. H., Adib Moradi, M., & Rahimi Niat, F. (2015). Effects of different levels of *Artemisia sieberi* essential oil on intestinal morphology characteristics, microflora population and immune system in broiler chickens. *Journal of Veterinary Research, 70*(2), 195-202. doi: 10.22059/jvr.2015.53747

Gholamrezaie Sani, L., Mohammadi, M., Jalali Sendi, J., Abolghasemi, S. A., & Roostaie Ali-Mehr, M. (2012). Extract and leaf powder effect of *Artemisia annua* on performance, cellular and humoral immunity in broilers. *Iranian Journal of Veterinary Research, 14*, 15-20. doi: 10.22099/ijvr.2013.1384

Giannenas, I., Florou-Panceri, P., Papazahariadou, M., Christaki, E., Botsoglou, N. A., & Spais, A. B. (2003). Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Archives of Animal Nutrition, 57*, 99-106. doi: 10.1080/0003942031000107299

Grashorn, M. A. (2010). Use of phytobiotics in broiler nutrition- an alternative to infeed antibiotics. *Journal of Animal and Feed Science, 19*, 338-347. doi: 10.22358/jafs/66297/2010

Griggs, J. P., & Jacob, J. P. (2005). Alternatives to antibiotics for organic poultry production. *Journal of Applied Poultry Research, 14*, 750-756. doi: 10.1093/japr/14.4.750

Hashemi, S. R., & Davoodi H. (2010). Phytogenics as new class of feed additive in poultry industry. *Journal of Animal and Veterinary Advances, 9*, 2295-2304. doi: 10.3923/javaa.2010.2295.2304

Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A., & Veldkamp, T. (2013). Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. *Poultry Science, 92*, 2059-2069. doi: 10.3382/ps.2012-02685

Hernandez, F., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J., & Megias, M. D. (2004). Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility and digestive organ size. *Poultry Science, 83*, 169-174. doi: 10.1093/ps/83.2.169

Hernandez-Coronado, A., Vazquez, R., Nava, Z., Hernandez-Martınez, C., Kawas-Garza, J., Hume, M., & Zamora, G. (2019). Mexican oregano essential oils given in drinking water on performance, carcass traits, and meat quality of broilers. *Poultry Science, 98*, 3050-3058. doi: 10.3382/ps/pez094

Iji, P. A., Saki, A., & Tivey, D. R. (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. doi: 10.1080/00071660120073151

Jamroz, D., Wiliczkiewicz, A., Wertelecki, T., Orda, J., & Skorupińska, J. (2005). Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *British Poultry Science, 46*(4), 485-493. doi: 10.1080/00071660500191056

Jang, I. S., Ko, Y. H., Kahn, S. Y., & Lee, C. Y. (2007). Effect of commerical essential oils on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler ckickens. *Animal Feed Science and Technology, 134*, 304-315. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.06.009

Karimi, B., Rahimi, S. H., & Karimi Torshizi, M. A. (2015). Comparing the effects of six herbal extracts and antibiotic virginiamycin on immune response and serum lipids in broiler chickens. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 31*(1), 177-184. doi: 10.22092/ijmapr.2015.12682

Khattak, F., Ronchi, A., Castelli, P., & Sparks, N. (2014). Effects of natural blend of essential oil on growth performance, blood biochemistry, cecal morphology and carcass quality of broiler chickens. *Poultry Science, 93*, 132-137. doi: 10.3382/ps.2013-03387

Lee, K. W., Everts, H., Kappert, H. J., Losa, R., & Beynen, A. C. (2004). Growth performance of broiler chicken fed a carboxymethyl cellulose containing diet with supplemental carvacrol and/or cinamaldehyde. *International Journal of Poultry Science, 9*, 619-622. doi: 10.3923/ijps.2004.619.622

Markovic, R., Sefer, D., Krstic, M., & Petrujkic, B. (2009). Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Archivos de Medicina Veterinaria, 41*, 163-169. doi: 10.4067/s0301-732x2009000200010

Nobakht, A., Nobakht, M., & Safamehr, A. (2012). The effect of different levels of savory medicinal plant (Satureja hortensis L.) on growth performance, carcass traits, immune cells and blood biochemical parameters of broilers. *African Journal of Agricultural research, 7*(10), 1456-1461. doi: 10.5897/AJAR11.2120

Mohiti-Asli, M., Hosseini, S. A., Meimandipour, A., & Mahdavi, A. (2010). Phytogenics in animal nutrition. Iranian Animal Science Research Institute. [In Persian]

Nemati, M. H., Amanlou, F., & Shahir, M. H. (2022). Effect of adding Mentha piperita powder on performance, immune system, and blood parameters of broilers under ascites induction conditions. *Animal Production Research*, *11*(1), 27-38. doi: 10.22124/ar.2022.19209.1603 [In Persian]

Puvaca, N., Kostadinovic, L., Ljubojevic, D., Lukac, D., Levic, J., Popovic, S., & Duragic, O. (2015). Effect of garlic, black pepper and hot red pepper on productive performances and blood lipid profile of broiler chickens. *European Poultry Science, 79*, 1-13. doi: 10.1399/eps.2015.73

Rostami, F., Taherpour, K., Akbari Gharaei, M., Ghasemi, H. A., & Shirzadi, H. (2022). Effects of Scrophularia striata extract, vitamin E, vitamin C, and selenium on performance, immune response, and blood parameters of broilers under heat stress conditions. *Animal Production Research*, *10*(4), 93-107. doi: 10.22124/ar.2022.19243.1605 [In Persian]

Shams Shargh, M., Dastar, B., Zerehdaran, S., Khomeiri, M., & Moradi, A. (2012). Effects of using plant extracts and a probiotic on performance, intestinal morphology, and microflora population in broilers. *Journal of Applied Poultry Research, 21*, 201-208. doi: 10.3382/japr.2010-00145

Varmaghany, S., Karimi Torshizi, M., Rahimi, S. H., Lotfollahian, H., & Hassanzadeh, M. (2015). The effects of increasing levels of dietary garlic bulb on growth performance, systolic blood pressure, hematology and ascites syndrome in broiler chickens. *Poultry Science, 94*, 1812-1820. doi: 10.3382/ps/pev148