



Original Research Paper

Effects of a combination of butyric acid glycerides and clove oil on immune response and ileal morphology of broilers

Seyyede Azam Khatami, Mir Daryoush Shakouri *, Nemat Hedayat Ivrih

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran

Key Words

Broilers
Butyric acid glycerides
Clove oil
Morphology of ileum

Abstract

Introduction: This study was conducted to investigate the effect of different levels of butyric acid glycerides and clove oil on growth performance, immune response and ileum morphology of broiler chickens

Materials & Methods: A total of 300 mixed broiler chickens of the Ross 308 strain (150 male and 150 female) with a factorial arrangement of 2x3 with two levels of butyric acid glycerides (0 and 0.2%) and three levels of clove oil (0, 500 and 1000 mg/kg) were used in a completely randomized design with 6 treatments, 5 replications, and 10 birds per replication.

Results: The result showed that use of 0.2% butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens reduced the feed intake and the weight of chickens ($p < 0.05$). The feed intake and weight of chickens showed a significant decrease by adding 1000 mg/kg clove oil to the diet ($p < 0.05$). Using a diet without butyric acid glycerides and supplemented with 500 ppm clove oil increased the weight of broilers compared to other experimental treatments ($p < 0.05$). Chickens that were fed with a diet without butyric acid glycerides and 500 mg/kg clove oil, as well as a diet containing 0.2% butyric acid glycerides and without clove oil, showed the best feed conversion ratio compared to other groups. ($p < 0.05$). The use of experimental treatments did not affect any of the parameters related to the immune response of broilers ($p > 0.05$). The use of experimental treatments had no significant effect on any of the parameters related to the morphology of broiler ileum ($p > 0.05$).

Conclusion: In general, the results of this experiment showed that not only no synergistic effect was observed between butyric acid glycerides and clove oil on the growth performance of chickens, but also adding levels of 1000 mg/kg of clove oil with 0.2 butyric acid glycerides had a negative effect on growth performance.

* Corresponding Author's email: mdshakouri@uma.ac.ir

Received: 22 September 2024; Reviewed: 22 October 2024; Revised: 22 December 2024; Accepted: 22 January 2025

(DOI): [10.22034/AEJ.2024.432325.3082](https://doi.org/10.22034/AEJ.2024.432325.3082)

مقاله پژوهشی

اثرات استفاده هم زمان از گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر پاسخ ایمنی و مورفولوژی ایلئوم جوجه های گوشتی

سیده/عظم خاتمی، دکتر میرداریوش شکوری*، دکتر نعمت هدایت/ایوریک

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

جوجه گوشتی
گلیسریدهای اسید بوتیریک
روغن میخک
مورفولوژی ایلئوم

مقدمه: هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و مورفولوژی ایلئوم جوجه های گوشتی بود.

مواد و روش ها: بدین منظور، تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی مخلوط دو جنس (۱۵۰ قطعه نر و ۱۵۰ قطعه ماده) سویه راس ۳۰۸ با آرایش فاکتوریل ۲×۳ با دو سطح گلیسریدهای اسید بوتیریک (سطح صفر و ۰/۲ درصد) و سه سطح روغن میخک (سطح صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار ۵ تکرار و ۱۰ قطعه پرند در هر تکرار انتخاب شدند.

نتایج: نتایج نشان داد که استفاده از ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه های گوشتی مصرف خوراک و وزن جوجه ها را کاهش داد ($p<0/05$). مصرف خوراک و وزن جوجه ها با افزودن ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک به جیره کاهش معنی داری نشان داد ($p<0/05$). استفاده از جیره بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک و مکمل شده با ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک سبب افزایش وزن جوجه های گوشتی نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی گردید ($p<0/05$). جوجه هایی که از جیره بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک و ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک و هم چنین جیره حاوی ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک و فاقد روغن میخک تغذیه کرده بودند بهترین ضریب تبدیل خوراک را نسبت به سایر گروه ها نشان دادند ($p<0/05$). استفاده از تیمارهای آزمایشی هیچ کدام از پارامترهای مربوط به سیستم ایمنی جوجه های گوشتی را تحت تأثیر قرار نداد ($p>0/05$). استفاده از تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی داری روی هیچ کدام از پارامترهای مربوط به ریخت سنجی ایلئوم جوجه های گوشتی نداشت ($p>0/05$).

بحث و نتیجه گیری: به طور کلی نتایج آزمایش حاضر نشان داد که بین گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر صفات عملکرد رشد جوجه ها نه تنها اثر سینرژیک مشاهده نشد، بلکه افزودن سطوح ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک به همراه ۰/۲ گلیسریدهای اسید بوتیریک تأثیر منفی بر عملکرد رشد داشت.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mdshakouri@uma.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱ مهر ۱۴۰۳؛ تاریخ داوری: ۱ آبان ۱۴۰۳؛ تاریخ اصلاح: ۲ دی ۱۴۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۳ بهمن ۱۴۰۳

(DOI): 10.22034/AEJ.2024.432325.3082

مقدمه

یکی از روش‌هایی که جهت بهینه‌سازی وضعیت دستگاه گوارش طیور مورد استفاده قرار می‌گیرد، گنجاندن افزودنی‌های خوراکی در جیره است. این افزودنی‌ها معمولاً در مزارع تجاری به شکل آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شوند، که هدف آن‌ها حمایت از رشد، افزایش عملکرد، بهره‌وری و کارایی خوراک است. آنتی‌بیوتیک‌هایی که به عنوان محرک رشد در دوزهای غیردرمانی استفاده می‌شوند، پیامد ناخواسته مقاومت ضد میکروبی در دام و طیور و به دنبال آن در انسان را ایجاد می‌کنند (۱). از این رو در سال ۲۰۰۶ استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها توسط اتحادیه اروپا به طور رسمی ممنوع اعلام شده و سپس کشورهای دیگر نیز همین رویه را دنبال و اجرا کردند (۲). بنابراین، اقدام فوری جهت کشف مواد افزودنی خوراکی که بتواند به عنوان یک جایگزین آنتی‌بیوتیک در تولید طیور عمل کند ضروری به نظر می‌رسد. در نتیجه، بسیاری از افزودنی‌های خوراکی از جمله آنزیم‌ها، پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، روغن‌های فرار و اسیدهای آلی و غیره جهت این کار مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. همه این ترکیبات می‌توانند تولید پرندگان و سلامت دستگاه گوارش آن‌ها را افزایش داده و ممکن است جایگزین‌های برتری برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد باشند (۳). اسیدهای آلی یکی از این جایگزین‌ها هستند که به دلیل اثر ضد باکتریایی خود در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای مختلف مورد توجه قرار گرفته‌اند. اسیدهای آلی با کاهش pH در دستگاه گوارش تأثیر گذاشته و منجر به بهبود استفاده از مواد مغذی در پرندگان گوشتی می‌شوند (۴). علاوه بر این، اسیدهای آلی قابلیت هضم پروتئین و ترشح پانکراس را افزایش داده و با بهبود مورفولوژی روده فعالیت میکروب‌های مضر روده را کاهش می‌دهند (۵). اسید بوتیریک یک منبع انرژی برای یاخته‌های روده‌ای بوده و با اثرات ضدباکتریایی، به عنوان یک مکمل غذایی جهت حفظ یا افزایش سلامت روده در جوجه‌های گوشتی مورد استفاده قرار گرفته است (۶). با این حال، اسید بوتیریک آزاد، به عنوان یک اسید چرب با زنجیره کوتاه، به طور طبیعی فرار بوده و با بوی نامطبوع مشخص می‌شود، و هم‌چنین به سرعت در دستگاه گوارش جذب می‌گردد (۷). بنابراین جهت آزادسازی آهسته و تدریجی اسید بوتیریک در سراسر دستگاه گوارش و افزایش در دسترس بودن آن از روش پوشش‌دار کردن استفاده می‌شود (۸). رایج‌ترین مواد محافظ مورد استفاده جهت این کار بر پایه لیپیدها هستند (۹). پوشش اسیدهای آلی با منو، دی و تری گلیسریدها، بوی نامطبوع اسید بوتیریک را کاهش داده و جهت بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی سطوح پایین‌تری از آن نسبت به فرم آزاد نیاز است (۱۰). گزارش شده که افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای

اسید بوتیریک به جیره جوجه‌های گوشتی تا سن ۲۱ روزگی وزن آن‌ها را در پایان دوره پرورشی ۵۷ گرم بهبود بخشید (۱۱). روغن‌های فرار از گیاهان دارویی مختلف استخراج شده و دارای فعالیت‌های ضدباکتری، ضدویروسی و ضدقارچی هستند. هم‌چنین اثرات تعدیل‌کننده ایمنی، کاهش چربی خون و محرک سیستم گوارشی دارند که برای کاهش استرس گرمایی در تولید طیور اعمال می‌شود (۱۲). هم‌چنین روغن‌های فرار سبب بهبود فرآیند هضم و افزایش عملکرد رشد در طیور می‌گردند (۱۳). روغن‌های فرار به عنوان ترکیبات فنلی دارای خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی هستند زیرا فنل‌ها نفوذپذیری سلولی را افزایش داده که منجر به عدم تعادل آب و مرگ سلولی می‌شوند. به همین دلیل، مقاومت باکتری‌ها در برابر فنل‌ها نمی‌تواند ایجاد شود (۱۴). میخک (*Syzygium aromaticum*) یکی از گیاهان دارویی بوده که در پرورش طیور بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۵). اوژنول یا همان روغن میخک، روغن معطری است که عمدتاً از میخک به دست می‌آید. دومین جزء فعال اصلی روغن میخک بتاکاریوفیلین یا اوژنول استات بوده که درصد آن‌ها بستگی به قسمت‌های خاص گیاه (جوانه، برگ یا ساقه) دارد که روغن از آن استخراج می‌شود (۱۶). روغن میخک و اوژنول هر دو دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدباکتریایی هستند (۱۵، ۱۷، ۱۸). علاوه بر این، نشان داده شده که روغن میخک و اوژنول به عنوان محرک‌های اشتها و هضم عمل کرده و هم‌چنین بر جمعیت میکروبی و یکپارچگی سد مخاطی روده و عملکرد ایمنی در طیور تأثیر مثبتی دارند (۱۵، ۱۸). در سال‌های اخیر، ترکیب اسیدهای آلی با روغن‌های فرار به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته و اثرات قابل توجهی را به همراه داشته است (۱۹). طرح ترکیب اسیدهای آلی و روغن‌های فرار موثر به نظر می‌رسد زیرا یک اثر سینرژیک ترکیبی بین این دو وجود دارد. به طوری که روغن‌های فرار به دلیل دارا بودن خاصیت آبرگریزی آنیون‌های اسیدهای آلی را قادر می‌سازند تا به دیواره سلولی باکتری نفوذ کرده و فرآیندهای متابولیک در سلول باکتری را مختل کنند (۵). اگرچه مطالعات متعددی وجود دارد که اثرات اسیدآلی و روغن فرار را بر عملکرد رشد و سلامت روده جوجه‌های گوشتی نشان می‌دهد، ترکیب محصول از نظر نوع و کمیت ترکیبات فعال و شکل ارائه شده ممکن است دلیل نتایج متغیر یافت شده در منابع باشد. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثرات ترکیبی گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و مورفولوژی ایلئوم جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سالن مرغداری گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی واقع در شهر اردبیل، استان اردبیل اجرا گردید. بدین منظور تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ (۱۵۰) نر و ۱۵۰ ماده) با آرایش فاکتوریل (۲×۳) در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح اسید بوتیریک (صفر و ۰/۲ درصد) و سه سطح اوژنول (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) با ۶ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه پرند در هر تکرار استفاده شد. جیره‌های آزمایشی حاوی (۱) جیره پایه بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک (شاهد)، (۲) جیره پایه بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک + ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک، (۳) جیره پایه بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک + ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک، (۴) جیره پایه حاوی ۰/۲ درصد اسید بوتیریک + بدون روغن میخک، (۵) جیره پایه حاوی ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک + ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک و (۶) جیره پایه حاوی ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک + ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک بودند. جیره‌ها براساس جدول احتیاجات غذایی سویه راس ۳۰۸ به صورت آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) تنظیم شدند (جدول ۱). نام تجاری محصول گلیسریدهای اسید بوتیریک مورد استفاده در این بررسی C4-BaBy بود که از شرکت سنا دام پارس تهیه گردید و حاوی مونو گلیسرید اسید بوتیریک (۳۰ درصد)، دی گلیسرید اسید بوتیریک (۵۰ درصد) و تری گلیسرید اسید بوتیریک (۲۰ درصد) بود. روغن میخک مورد استفاده نیز از شرکت دارویی و بازرگانی آباتاژ (آیت اسانس) تهیه شد که حاوی ۸۶ درصد اوژنول خالص بود. واکسیناسیون طبق برنامه اداره کل دامپزشکی استان اردبیل انجام گرفت. دسترسی به آب و دان از یک روزگی تا پایان دوره آزمایشی به صورت آزاد بود. شرایط محیطی شامل دما، رطوبت و نور براساس توصیه کاتالوگ سویه راس ۳۰۸ رعایت شد. برای محاسبه عملکرد رشد، مصرف خوراک و افزایش وزن جوجه‌ها در پایان هر دوره اندازه‌گیری شده و براساس آن‌ها ضریب تبدیل خوراک محاسبه گردید. تعداد مرگ و میر نیز به صورت روزانه ثبت شد. به منظور ایمن سازی پرندگان علیه گلبول‌های قرمز گوسفند (SRBC: Sheep Red Blood Cell)، در روز ۲۷ پرورشی به عضله سینه دو قطعه جوجه از هر تکرار یک میلی لیتر از سوسپانسیون ۳ درصد گلبول قرمز گوسفندی تزریق شد. در روز ۳۵ دوره پرورشی (هفت روز بعد از تزریق)، از سیاهرگ بال پرندگان نمونه‌های خون جمع‌آوری و سرم خون جدا گردید و تا انجام آزمایش‌های مربوطه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تعیین تیترا آنتی‌بادی

کل وایمونوگلوبولین G علیه گلبول قرمز گوسفندی، باروش هماگلوتیناسیون انجام شد. هماگلوتیناسیون یکی از روش‌های انجام آزمایش‌های سرم شناسی است که به بررسی پادتن‌های موجود در سرم خون می‌پردازد.

جدول ۱: اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در دوره‌های مختلف

مواد خوراکی (درصد)	جیره آغازین	جیره رشد	جیره پایانی
ذرت	۵۲/۸۳	۵۶/۴۰	۶۰/۲۸
کنجاله سویا	۳۹/۰۲	۳۵/۵۴	۳۱/۶۷
روغن گیاهی	۳/۴۶	۳/۸۸	۳/۹۸
پودر صدف	۱/۲۷	۱/۰۶	۱/۰۷
دی کلسیم فسفات	۱/۸۷	۱/۶۹	۱/۶۸
نمک	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۳۸
مکمل ویتامینی ^۱	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل مواد معدنی ^۲	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی ال - متیونین	۰/۳۶	۰/۲۷	۰/۲۵
ال - لیزین هیدروکلرید	۰/۲۸	۰/۲۵	۰/۱۹
کل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۷۵	۳۰۵۰	۳۱۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۲/۱۲	۲۰/۸۱	۱۹/۳۷
لیزی (درصد)	۱/۴۱	۱/۳۰	۱/۱۶
متیونین (درصد)	۰/۶۹	۰/۵۹	۰/۵۵
متیونین + سیستین (درصد)	۱/۰۵	۰/۹۳	۰/۸۷
آرژنین (درصد)	۱/۴۲	۰/۳۲	۱/۲۲
کلسیم (درصد)	۱/۰۴	۰/۹۱	۰/۹۰
فسفر در دسترس (درصد)	۰/۴۹	۰/۴۵	۰/۴۴
سدیم (درصد)	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۷

^۱ تأمین شده به ازای هر کیلوگرم جیره: ویتامین A: ۹۰۰۰ IU، ویتامین D3: ۲۰۰۰ IU، ویتامین E: ۳۶ میلی گرم، ویتامین K3: ۲ میلی گرم، ویتامین B1: ۱/۷۵ میلی گرم، ویتامین B2: ۶/۶ میلی گرم، پانتوتنات کلسیم: ۹/۸ میلی گرم، نیاسین: ۲۹/۶۵ میلی گرم، ویتامین B6: ۲/۹۴ میلی گرم، ویتامین B9: ۱ میلی گرم، ویتامین B12: ۰/۱۵ میلی گرم، کلرید کولین: ۲۵۰ میلی گرم و آنتی‌اکسیدان ۱ میلی گرم. ^۲ تأمین شده به ازای هر کیلوگرم جیره: منگنز ۹۹/۲ میلی گرم، روی: ۸۴/۷ میلی گرم، آهن: ۵۰ میلی گرم، مس: ۱۰ میلی گرم، ید ۰/۹۹ میلی گرم و سلنیوم: ۰/۲ میلی گرم

هماگلوتیناسیون یکی از انواع آگلوتینه شدن است. به طور خلاصه پس از یخ‌گشایی، سرم‌ها جهت غیرفعال کردن آنزیم‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تعیین تیترا آنتی‌بادی کل، به میزان ۵۰ میکرولیتر سرم خون در ردیف اول

تا ضمن خشک شدن، پارافین اضافی هم ذوب شود. رنگ آمیزی بافت پایدار شده روی لام، پس از پارافین گیری با زایلول و آب دهی با درجات نزولی الکل اتیلیک و با استفاده از همتوکسیلین و ائوزین انجام گرفت. برای بررسی بافت های تهیه شده از میکروسکوپ نوری (Olympus BX51، ساخت ژاپن) متصل به کامپیوتر استفاده گردید. سپس با کمک دوربین نصب شده روی میکروسکوپ، عکس هایی از محل های دلخواه گرفته شده و با استفاده از نرم افزار مربوطه، فراسنجه های مورد نظر اندازه گیری شد. ارتفاع پرز (از نوک پرز تا محل اتصال کریپت)، عمق کریپت و عرض پرز مربوط به حداقل ۹ پرز مستقیم و مجاور هم، با استفاده از نرم افزار آنالیز تصویر (SPOT 3.1; Diagnostic Instruments, Sterling Heights, MI, USA) اندازه گیری شد. فراسنجه های ریخت شناختی شامل ارتفاع پرز، عرض پرز، عمق کریپت، ضخامت لایه ماهیچه ای، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و سطح پرز بودند. سطح پرز با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (۲۱). هم چنین نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت از روی داده های مربوط به ارتفاع پرز و عمق کریپت محاسبه شد. رابطه (۱): $\text{نسف ضخامت پرز} \times \text{طول پرز} \times (2\pi) = \text{سطح پرز}$ داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SAS (2003) و با استفاده از رویه مدل خط عمومی (GLM) تجزیه و تحلیل شدند. معادله مدل آماری آزمایش مطابق رابطه زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

که در آن Y_{ijk} بیانگر مقدار عددی هر مشاهده، μ میانگین جمعیت، A_i اثر گلیسریدهای اسید بوتیریک (صفر و ۰/۲ درصد)، B_j اثر روغن میخک (۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)، $(AB)_{ij}$ اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک و e_{ijk} خطای آزمایشی بود.

نتایج

عملکرد رشد: نتایج مربوط به عملکرد رشد جوجه ها شامل مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در کل دوره پرورشی (۱ تا ۴۲ روزگی) در جداول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که استفاده از ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسید بوتیریک در جیره جوجه های گوشتی مصرف خوراک و وزن جوجه ها را کاهش داد ($p < 0.05$). ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک قرار نگرفت. مصرف خوراک و وزن جوجه ها با افزودن ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک به جیره کاهش معنی داری نشان داد ($p < 0.05$). اثر سطوح روغن میخک بر ضریب تبدیل خوراک معنی دار نبود. استفاده از جیره بدون گلیسریدهای اسید بوتیریک و مکمل شده با ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن میخک سبب افزایش

چاهک های یک صفحه دارای ۹۶ چاهک با ته U ریخته شد و ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات نیز به آن ها اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. با استفاده از بافر فسفات رقیق سازی های ۱/۱ متوالی انجام شده و به دنبال آن، ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون ۲ درصد گلبول قرمز گوسفندی به هر چاهک اضافه گردید. سپس نمونه ها دوباره به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری و پس از وارد کردن چند تکان ملایم به صفحه، شماره نخستین چاهک بلافاصله قبل از چاهک دارای گلبول قرمز نگینی شده به عنوان تیتیر نقطه پایانی آگلوتیناسیون یادداشت شد و تیتیر آنتی بادی کل به صورت لگاریتم ۲ حداکثر رقت سرم آگلوتینه کننده گلبول قرمز گوسفندی تعیین شد. از محلول ۰/۰۱ مولار ۲-مرکاپتواناتول در بافر فسفات برای اندازه گیری تیتیر ایمونوگلوبولین G استفاده شده و باقی مانده مراحل همانند تعیین تیتیر آنتی بادی کل انجام شد. تیتیر ایمونوگلوبولین M نیز از تفاضل بین آنتی بادی کل و ایمونوگلوبولین G محاسبه شد (۲۰). لازم به ذکر است ایمونوگلوبولین ها که به عنوان آنتی بادی نیز شناخته می شوند، مولکول های گلیکوپروتئینی هستند که توسط پلاسما سل ها (یک نوع گلبول سفید خون) تولید می شوند. آن ها به عنوان بخش مهمی از پاسخ ایمنی، با شناسایی و اتصال بسیار اختصاصی به آنتی ژن موجودات خارجی مانند باکتری ها، انگل ها و ویروس ها در کمک به تخریب آن ها عمل می کنند. جهت ریخت سنجی مخاط ایلئوم، پس از کشتار دو قطعه جوجه از هر تکرار در روز ۴۲ پرورشی بلافاصله حدود ۲ سانتی متر از وسط ایلئوم جدا شده و داخل محلول فرمالین (۱۰٪) نگهداری شد. نمونه های پایدار شده از داخل محلول فرمالین خارج و با استفاده از تیغ اسکالپل قطعات بافتی با ابعاد حدود ۵/۵×۵/۵ سانتی متر تهیه شد. سپس مراحل فرآوری نمونه ها توسط دستگاه خودکار طی سه مرحله شامل آب گیری، شفاف سازی و پارافینه شدن انجام شد. مرحله آبگیری از نمونه های بافتی با قراردادن آن ها در داخل محلول الکل اتیلیک با درجات صعودی صورت گرفت. از زایلول برای شفاف سازی نمونه ها و گرفتن الکل استفاده شد. در مرحله پارافینه کردن جهت اشباع سازی نمونه ها با پارافین قالب گیری صورت گرفت. از دستگاه میکروتوم چرخان (مدل Leica ۱۵۱۲، ساخت اتریش) استفاده و برش های با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. دستگاه میکروتوم به عنوان یکی از کاربردی ترین دستگاه های موجود در آزمایشگاه پاتولوژی (بافت شناسی) جهت برش بافت های گیاهی، جانوری، انسانی با ضخامت در حد میکرون با کمک تیغ میکروتوم استفاده می شود. برش های تهیه شده داخل آب ۶۰ درجه سانتی گراد شناور گردید تا پس از صاف شدن چروک های احتمالی آن ها، به راحتی روی لام قرار گیرند. لام های مربوطه روی یک صفحه گرم (۴۰ تا ۴۵ درجه سانتی گراد) قرار گرفت

کیلوگرم روغن میخک و هم چنین جیره حاوی ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسیدبوتیریک و فاقد روغن میخک تغذیه کرده بودند بهترین ضریب تبدیل خوراک را نسبت به سایر گروه ها نشان دادند ($p < 0.05$).

وزن جوجه های گوشتی نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی گردید ($p < 0.05$). اثر متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک روی مصرف خوراک جوجه های گوشتی معنی دار نبود. جوجه هایی که از جیره فاقد گلیسریدهای اسید بوتیریک و ۵۰۰ میلی گرم در

جدول ۲: اثر گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و سطوح مختلف روغن میخک (میلی گرم در کیلوگرم) بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی طی کل دوره پرورشی (۱ تا ۴۲ روزگی)

تیمار	مصرف خوراک (گرم)	افزایش وزن (گرم)	ضریب تبدیل خوراک
گلیسریدهای اسید بوتیریک			
صفر	۳۴۵۹/۲۵ ^a	۱۹۰۰/۹۱ ^a	۱/۸۲
۰/۲	۳۲۹۵/۹۲ ^b	۱۸۱۹/۰۶ ^b	۱/۸۱
SEM	۳۰/۸۳۷	۱۹/۱۶۱	۰/۰۱۵
روغن میخک			
صفر	۳۴۰۷/۱۱ ^a	۱۸۷۸/۲۰ ^a	۱/۸۱
۵۰۰	۳۴۶۵/۱۳ ^a	۱۹۳۸/۰۰ ^a	۱/۷۹
۱۰۰۰	۳۲۶۰/۴۵ ^b	۱۷۶۳/۷۶ ^b	۱/۸۵
SEM	۳۷/۷۶۸	۲۳/۴۶۷	۰/۰۱۸
گلیسریدهای اسید بوتیریک × روغن میخک			
صفر	۳۴۶۳/۷۳	۱۸۲۲/۹۸ ^{bc}	۱/۹۰ ^a
۵۰۰	۳۵۷۳/۵۷	۲۰۵۰/۴۳ ^a	۱/۷۴ ^b
۱۰۰۰	۳۳۴۰/۳۱	۱۸۲۹/۳۳ ^{bc}	۱/۸۲ ^{a,b}
صفر	۳۳۵۰/۴۸	۱۹۳۳/۴۱ ^{ab}	۱/۷۳ ^b
۵۰۰	۳۳۵۶/۷۰	۱۸۲۵/۵۸ ^{bc}	۱/۸۳ ^{a,b}
۱۰۰۰	۳۱۸۰/۵۹	۱۶۹۸/۱۸ ^c	۱/۸۷ ^a
SEM	۵۳/۴۱۲	۳۱/۱۸۷	۰/۰۲۶
منابع تغییر			
ارزش P			
گلیسریدهای اسید بوتیریک	۰/۰۰۱۰	۰/۰۰۵۹	۰/۶۶۴۴
روغن میخک	۰/۰۰۲۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۸۴۱
گلیسریدهای اسید بوتیریک × روغن میخک	۰/۶۲۹۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

abcd: تفاوت میانگین ها در هر ستون با حروف غیر مشابه، معنی دار است ($P \leq 0.05$). SEM: اشتباه استاندارد میانگین ها

است. همان طور که مشاهده می شود افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسیدبوتیریک در جیره جوجه های گوشتی تاثیر معنی داری بر ارتفاع پرز، عرض پرز، عمق کریپت، ضخامت لایه ماهیچه ای، نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و مساحت پرز ایجاد نکرد. هم چنین استفاده از سطوح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم در جیره نتوانست مورفولوژی ایلئوم را به طور معنی داری تحت تاثیر قرار دهد. عامل متقابل گلیسریدهای اسید بوتیریک و روغن میخک نیز مورفولوژی ایلئوم را تغییر معنی داری نداد.

پاسخ ایمنی: نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی جوجه های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود گلیسریدهای اسید بوتیریک، روغن میخک و اثر متقابل آن ها تاثیر معنی داری بر SRBC، ایمونوگلوبولین G و M ایجاد نکرد. اما گلیسریدهای اسیدبوتیریک سطوح SRBC و ایمونو گلوبولین M و روغن میخک سطوح SRBC، ایمونوگلوبولین G و M را از نظر عددی افزایش داد.

مورفولوژی ایلئوم: نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر مورفولوژی ایلئوم جوجه های گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده

جدول ۳: اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی گرم در کیلوگرم) بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی در روز ۳۵ دوره پرورشی

تیمارهای آزمایشی			
IgM	IgG	SRBC	
گلیسریدهای اسید بوتیریک			
۵/۱۰	۳/۸۳	۶/۹۳	صفر
۵/۳۰	۳/۸۰	۷/۳۰	۰/۲
۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۸	SEM
روغن میخک			
۳/۲۰	۳/۶۵	۶/۸۵	صفر
۳/۳۰	۳/۸۵	۷/۷۲	۵۰۰
۳/۴۰	۳/۹۵	۷/۲۵	۱۰۰۰
۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۲۲	SEM
گلیسریدهای اسید بوتیریک × روغن میخک			
۳/۱۰	۳/۵۰	۶/۶۰	صفر
۳/۱۰	۳/۹۰	۷/۰۰	۵۰۰
۳/۱۰	۴/۱۰	۷/۲۰	۱۰۰۰
۳/۳۰	۳/۸۰	۷/۱۰	صفر
۳/۵۰	۴/۰۰	۷/۵۰	۵۰۰
۳/۷۰	۳/۶۰	۷/۳۰	۱۰۰۰
۰/۲۴	۰/۲۵	۰/۳۲	SEM
منابع تغییر			
ارزش P			
۰/۰۵	۰/۸۷	۰/۱۶	گلیسریدهای اسید بوتیریک
۰/۷۲	۰/۴۸	۰/۳۶	روغن میخک
۰/۷۲	۰/۲۶	۰/۷۷	گلیسریدهای اسید بوتیریک × روغن میخک

SEM: اشتباه استاندارد میانگین‌ها

جدول ۴: اثر سطوح مختلف گلیسریدهای اسید بوتیریک (درصد جیره) و روغن میخک (میلی گرم در کیلوگرم) بر مورفولوژی مخاط ایلئوم جوجه‌های گوشتی (در سن ۴۲ روزگی)

تیمارهای آزمایشی					
VS	VH/CD	ML	CD	VW	VH
(میلی‌متر به توان دو)		(میکرومتر)	(میکرومتر)	(میکرومتر)	(میکرومتر)
گلیسریدهای اسید بوتیریک					
۰/۱۳۴۰	۵/۲۵۱	۲۳۳/۰۳	۲۲۱/۴۳	۱۱۵/۲۸	۱۱۶۲/۳۱
۰/۱۳۵۳	۵/۳۶۷	۲۲۷/۱۵	۲۱۹/۴۲	۱۱۵/۰۲	۱۱۷۶/۷۴
۰/۰۰۱۰	۰/۰۴۲۹	۲/۵۲۹۵	۱/۸۲۸۶	۰/۸۱۴۳	۵/۴۶۱۸
روغن میخک					
۰/۱۳۵۲	۵/۲۸۴	۲۲۶/۷۶	۲۲۱/۶۰	۱۱۵/۵۴	۱۱۷۰/۲۷
۰/۱۳۵۸	۵/۳۱۱	۲۲۹/۲۵	۲۲۰/۹۵	۱۱۵/۸۶	۱۱۷۲/۷۱
۰/۱۳۲۹	۵/۳۳۳	۲۳۴/۲۵	۲۱۸/۷۳	۱۱۴/۰۵	۱۱۶۵/۶۰
۰/۰۰۱۲	۰/۰۵۲۵	۳/۰۹۸۰	۲/۲۳۹۶	۰/۹۹۷۳	۰/۶۸۹۳
گلیسریدهای اسید بوتیریک × روغن میخک					
۰/۱۳۶۵	۵/۲۲۶۰	۲۳۱/۲۴	۲۲۳/۰۴	۱۱۷/۰۶	۱۱۶۵/۹۳
۰/۱۳۴۱	۵/۲۷۰۰	۲۲۸/۹۳	۲۲۰/۸۴	۱۱۵/۲۸	۱۱۶۳/۲۷
۰/۱۳۱۴	۵/۲۵۸۰	۲۳۸/۹۱	۲۲۰/۴۰	۱۱۳/۵۱	۱۱۵۷/۷۳
۰/۱۳۳۸	۵/۳۴۲۰	۲۲۲/۲۹	۲۲۰/۱۵	۱۱۴/۰۲	۱۱۷۴/۶۲
۰/۱۳۷۶	۵/۳۵۲۰	۲۲۹/۵۸	۲۲۱/۰۶	۱۱۶/۴۴	۱۱۸۲/۱۶
۰/۱۳۴۴	۵/۴۰۸۰	۲۲۹/۵۹	۲۱۷/۰۶	۱۱۴/۶۰	۱۱۷۳/۴۷
۰/۰۰۱۷	۰/۰۷۴۳	۴/۳۸۱۲	۳/۱۶۷۳	۱/۴۱۰۴	۹/۴۶۰۱
منابع تغییر					
ارزش P					
۰/۳۶۵۹	۰/۰۶۸۱	۰/۱۱۳۶	۰/۴۴۶۴	۰/۸۱۹۳	۰/۰۷۳۸
۰/۲۳۵۸	۰/۸۰۵۸	۰/۲۴۰۱	۰/۶۴۲۶	۰/۴۰۶۰	۰/۷۴۹۵
۰/۱۷۰۲	۰/۹۰۱۲	۰/۴۴۷۴	۰/۸۳۰۶	۰/۲۵۳۳	۰/۸۵۹۵

SEM: اشتباه استاندارد میانگین‌ها، VH: ارتفاع پرز، VW: عرض پرز، CD: عمق کریپت، ML: ضخامت لایه ماهیچه‌ای، VH/CD: نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، VS: مساحت پرز

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسیدبوتیریک سبب کاهش مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی گردید. اطلاعات متناقضی در مورد اثر اسیدبوتیریک بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی وجود دارد. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که اسیدبوتیریک می‌تواند عملکرد جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشد (۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵)، درحالی‌که سایر مطالعات نتایج قابل توجهی را گزارش نکرده‌اند (۲۶، ۲۷، ۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰). هرچند گزارش شده که برخلاف پروپیونات‌ها و استات‌ها، اسیدبوتیریک و اشکال گلیسرید آن باعث کاهش مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی می‌شوند (۳۱). Momenizadeh و همکاران با استفاده از سطح ۰/۲ درصد گلیسریدهای اسیدبوتیریک تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک، وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در مراحل آغازین، رشد و پایدانی جوجه‌های گوشتی مشاهده نکردند (۳۲). اما تأثیر منفی اسیدبوتیریک بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تاکنون گزارش نشده است. توضیح اصلی برای این تفاوت‌ها ناهمگونی شرایط انجام هر آزمایش است. هم‌چنین تفاوت در وضعیت سلامتی، قابلیت هضم مواد مغذی، شرایط پرورش جوجه‌ها، مدل‌های عفونت تجربی و غلظت بوتیرات در خوراک نیز از دلایل اختلاف نتایج به‌شمار می‌رود (۳۳). با این حال، محرک‌های رشد روده که از طریق تعدیل جمعیت میکروبی روده عمل می‌کنند، در حضور برخی از محرک‌های استرس‌زا بهتر عمل می‌کنند (۳۴). بنابراین می‌توان گفت در مطالعه حاضر گلیسریدهای اسید بوتیریک به‌عنوان یک محرک رشد نتوانست نتایج مفیدی را تحت شرایط مدیریت بهینه و عدم وجود محرک‌های استرس‌زا ارائه دهد. هم‌چنین گزارش شده است که کارایی اسیدهای آلی عمدتاً به ترتیب به حلالیت و ظرفیت جذب اسیدی (Acid Binding Capacity: ABC) آب و مواد خوراکی بستگی دارد (۳۵). از طرف دیگر، اثر بی‌اشتهایی ناشی از بوتیرات و سایر اسیدهای چرب زنجیر کوتاه در پستانداران به اثبات رسیده است. به گونه‌ای که این اثر توسط سلول‌های L کولون تولید کننده پپتید YY و پپتید ۱ شبه گلوکاگون (GLP-1) تعدیل می‌شود (۳۶). هضم پپتید ۱ شبه گلوکاگون در حضور پروتئین سبب تولید اسیدهای چرب آزاد می‌شود. پپتید YY نیز با اثر روی هیپوتالاموس سبب تحریک کوله سیستوکینین (CCK) شده که از طریق عصب واگ سبب ایجاد حس سیری و کاهش اشتها می‌گردد (۳۷). علی‌رغم این که چنین مکانیسمی در گونه‌های پرندگان مورد بررسی قرار نگرفته، اما سلول‌های L در امتداد روده کوچک جوجه‌ها توزیع شده است (۳۸). بنابراین احتمالاً در مطالعه حاضر استفاده از گلیسریدهای اسید بوتیریک سبب کاهش اشتها و مصرف خوراک گردیده و در پی آن

وزن جوجه‌ها کاهش یافته است. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم در جیره تأثیر مثبتی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی ایجاد نکرد اما افزایش سطوح روغن میخک به ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه را کاهش داد. در رابطه با اثرات روغن میخک بر عملکرد رشد نشان دادند که افزودن ۵/۵ تا ۱/۵ درصد اوژنول در جیره جوجه‌های گوشتی به‌طور قابل توجهی مصرف خوراک را در مقایسه با شاهد کاهش داد به طوری که با افزایش میزان استفاده از اوژنول در جیره مصرف خوراک نیز کم‌تر شد. ترکیب تند اوژنول باعث کاهش طعم و مزه می‌شود. بنابراین، استفاده بیش‌تر از اوژنول در خوراک منجر به کاهش خوش‌خوراکی شده که بر کاهش مصرف خوراک تأثیر می‌گذارد (۳۹). گزارش شده که وزن نهایی، افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک روزانه در جوجه‌های گوشتی مصرف‌کننده درصدهای مختلف (۵/۰ و ۱ درصد) پودر بذر میخک به‌طور معنی‌داری کاهش و ضریب تبدیل غذایی افزایش نشان داد. این مشاهدات به سطوح بالای تانن در بذر میخک نسبت داده شد (۴۰). اما Al-Mufarrej و همکاران دریافتند که استفاده از ۱۰ گرم به ازای هر کیلوگرم پودر میخک در جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند سرعت رشد را بدون تأثیر بر سلامت کبد و روده جوجه‌های گوشتی افزایش دهد (۴۱). مطالعه دیگری نشان داد که جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده ۴۵۰ میلی گرم در کیلوگرم اسانس میخک، مصرف خوراک و افزایش وزن بیش‌تری در مقایسه با گروه شاهد در سن ۴۲ روزگی داشتند (۴۲). استفاده از سطوح ۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانوامولسیون اوژنول در جیره جوجه‌های گوشتی به چالش کشیده شده با باکتری ایشریشیا کلای سبب افزایش وزن بدن و مصرف خوراک و هم‌چنین بهبود ضریب تبدیل خوراک در کل دوره پرورشی گردید (۱۸). اگرچه اثرات روغن‌های فرار بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی به‌وضوح در منابع گیاهی متغیر است، اثرات مفید ظاهراً در بین منابع و انواع مختلف یکسان بوده و وابسته به دوز می‌باشد (۴۳). به طوری که عملکرد پایین جوجه‌هایی که سطح بیش‌تری از اسانس دریافت کرده‌اند را می‌توان با تحریک پذیری احتمالی مخاط روده، کاهش سطح روده و در نتیجه ناحیه جذب کم‌تر، مرتبط دانست (۴۴). هم‌چنین گزارش شده که استفاده از اوژنول و سینامالدئید با غلظت‌های ۸۵۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در جیره موش سبب کاهش جذب آلانین از روده شد. بنابراین نتیجه گرفته شد که دوز بیش از حد اسانس‌ها برای حیوانات سمی بوده یا باعث ایجاد واکنش منفی می‌شود (۴۵). از طرفی دیگر گزارش شده که اثر روغن‌های فرار بسته به سطح، نوع و سن پرنده می‌تواند باعث تحریک یا کاهش خوش‌خوراکی جیره شود (۴۶). بنابراین احتمال بر این است در مطالعه حاضر نیز کاهش

عملکرد جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن میخک ناشی از دوز بالاتر آن در جیره باشد. استفاده هم‌زمان از اسید آلی و روغن فرار اثرات هم‌افزایی در بهبود عملکرد رشد و سلامت روده حیوانات دارد، به طوری که Yang و همکاران، نشان دادند که مخلوطی از اسیدسوربیک، اسیدفوماریک و تیمول با تعدیل جمعیت میکروبی و افزایش فعالیت‌های ساکاراز و مالتاز در مخاط ژنوم و بیان ژن‌های پروتئین بخش سخت، در نهایت سبب راندمان غذایی بهتر در جوجه‌های گوشتی گردید (۴۷). نتایج مطالعه حاضر نشان داد روغن میخک و گلیسریدهای اسید بوتیریک نتوانست تأثیر معنی‌داری بر پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی ایجاد کند اما گلیسریدهای اسید بوتیریک سطوح SRBC و ایمونوگلوبولین M و روغن میخک سطوح SRBC، ایمونوگلوبولین G و M را به لحاظ عددی افزایش داد. مطالعات اندکی در مورد تأثیر اسیدبوتیریک روی پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شده است. با این وجود گزارش شده که سطوح ایمونوگلوبولین‌های سرم شامل A، Y و M در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سدیم بوتیرات و سدیم بوتیرات آهسته‌رشد افزایش یافت (۴۸). پاسخ ایمنی افزایش‌یافته جوجه‌های گوشتی در حضور سدیم بوتیرات به توانایی آن در مهار فعال‌سازی NF-kB (Nuclear factor kappa B) (فاکتور هسته‌ای تقویت‌کننده زنجیره سبک کاپا از لنفوسیت‌های بی‌فعال‌شده) نسبت داده شده است (۴۹). روش‌هایی که اسیدهای آلی ایمنی را تنظیم می‌کنند ناشناخته است، اگرچه فرض بر این است که اسید آلی باعث فعال شدن سلول‌های T تنظیم‌کننده سیستمیک و کاهش سیگنال پاسخ التهابی آلفا-۱-اسید گلیکوپروتئین یا اوروسوموکوئید در جوجه‌های گوشتی می‌شود (۵۰). ایمنی مرتبط با روده در پاسخ به مکمل اسید آلی نیز به باکتری‌های خاص دستگاه گوارش و ارتباط آن‌ها با بافت لنفاوی مرتبط با روده بستگی دارد (۵۱). در رابطه با اثرات روغن میخک بر پاسخ ایمنی، Mohammadi و همکاران با استفاده از سطوح مختلف اسانس میخک (۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) هیچ تأثیری روی تیتراژ آنتی‌بادی جوجه‌های گوشتی مشاهده نشد (۵۲). مطابق مطالعه حاضر Rahimi و همکاران گزارش کردند که اثر روغن‌های فرار بر عملکرد ایمنی جوجه‌های گوشتی در مقایسه با اثرات آن به عنوان تعدیل‌کننده روده، محرک آنزیم و محرک رشد ضعیف‌تر است. این امر با این واقعیت تأیید می‌شود که غلظت IgG تحت تأثیر استفاده از ۰/۱ درصد مخلوط روغن فرار (آویشن، سیر و گل مخروط) در این مطالعه قرار نگرفت (۵۳). اما Su و همکاران عنوان کردند که افزودن روغن‌های فرار نه تنها تولید ایمونوگلوبولین، بلکه توانایی آنتی‌اکسیدانی سرم را نیز افزایش می‌دهد (۵۴). Tork و همکاران گزارش کردند که استفاده از ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در

کیلوگرم اسانس‌ها تأثیری بر عیار آنتی‌بادی ایمونوگلوبولین‌های G و M در جوجه‌های گوشتی نداشت (۵۵). در تحقیق دیگری، گزارش شد که افزودن ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره اتانولی درمنه خزری به جیره جوجه‌های گوشتی با افزایش ایمنی سلولی، سبب افزایش آنتی‌بادی کل و IgG علیه SRBC گردید (۵۶). گیاهان دارویی به دلیل وجود ترکیبات فنلی با افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل و کاهش کلی‌فرم‌ها سبب تقویت سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌گردند (۵۷). مطالعه ما نشان داد که افزودن گلیسریدهای اسید بوتیریک و سطوح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن میخک تأثیری بر مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی ایجاد نکرد. در این راستا Zhao و همکاران نشان دادند که مکمل سدیم بوتیرات محافظت شده در جیره جوجه‌های گوشتی به طور قابل توجهی ارتفاع ویلی و نسبت ارتفاع ویلی به عمق کریپت را در ۲۱ روزگی افزایش داد که نشان‌دهنده توانایی سدیم بوتیرات محافظت شده در بهبود رشد اولیه پرزهای روده کوچک و عملکرد جذب است (۵۸). به طور مشابه، بسیاری از مطالعات اثرات مفید سدیم بوتیرات و اشکال پوشش‌دار آن را روی ارتفاع ویلی، عمق کریپت و نسبت بین ارتفاع ویلی و عمق کریپت را در مراحل مختلف رشد جوجه‌های گوشتی نشان داده‌اند (۵۹، ۶۰، ۶۱). Panda و همکاران گزارش کردند که مکمل کردن جیره جوجه‌های گوشتی با سطوح مختلف بوتیرات (۲، ۴ و ۶ گرم بر کیلوگرم) باعث بهبود ارتفاع پرزهای دوازدهه و عمق کریپت شد (۶۲). استفاده از ۲، ۴ و ۶ گرم بر کیلوگرم اسیدبوتیریک در جیره جوجه‌های گوشتی بهبود ارتفاع پرزهای دوازدهه و عمق کریپت را موجب شد (۶۳). علاوه بر این، Adil و همکاران نشان دادند که ارتفاع پرز در دوازدهه، ژنوم و ایلئوم جوجه‌های گوشتی به دنبال مکمل کردن ۳۰ گرم بر کیلوگرم اسیدبوتیریک، ۲۰ و ۳۰ گرم بر کیلوگرم اسید فوماریک افزایش یافت (۶۴). با این حال مطالعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد استفاده از اسیدهای آلی هم‌چون اسید بوتیریک تأثیری بر سلامت روده جوجه‌های گوشتی ندارد (۶۵، ۶۶). اختلاف در نتایج ممکن است به این واقعیت مرتبط باشد که بخشی از دستگاه گوارش که در آن سدیم بوتیرات و اشکال محافظت شده در آن آزاد می‌شوند، متفاوت است. در طیور، بوتیرات به راحتی در دستگاه گوارش فوقانی (معدده) جذب می‌شود، در حالی که بوتیرات پوشش‌دار اجازه می‌دهد تا بوتیرات به انتهای دستگاه گوارش (سکوم) برسد (۶۷). انتشار زودتر بوتیرات در قسمت ابتدایی روده (ژنوم، ایلئوم) می‌تواند با بهبود رشد پرزها قابلیت هضم مواد مغذی را افزایش داده و زمان آزاد شدن دیرتر در سکوم می‌تواند باکتری‌های بیماری‌زا را مهار کند (۶۸). لذا از مطالعات ذکر شده می‌توان نتیجه گرفت که چرا گلیسریدهای اسید بوتیرات (فرم پوشش دار) نتوانست

4. Kim, J.W., Kim, J.H. and Kil, D.Y., 2015. Dietary organic acids for broiler chickens: a review. *Rev Colomb Cienc Pec.* 28(2): 109-123. doi: 10.17533/udea.rccp.v28n2a01
5. Liu, Y., Yang, X., Xin, H., Chen, S., Yang, C., Duan, Y. and Yang, X., 2017. Effects of a protected inclusion of organic acids and essential oils as antibiotic growth promoter alternative on growth performance, intestinal morphology and gut microflora in broilers. *Anim. Sci. J.* 88(9): 1414-1424. doi: 10.1111/asj.12782
6. Bortoluzzi, C., Pedrosa, A.A., Mallo, J.J., Puyalto, M., Kim, W.K. and Applegate, T.J., 2017. Sodium butyrate improved performance while modulating the cecal microbiota and regulating the expression of intestinal immune-related genes of broiler chickens. *Poult. Sci.* 96(11): 3981-3993. doi: 10.3382/ps/pex218
7. Wu, W., Xiao, Z., An, W., Dong, Y. and Zhang, B., 2018. Dietary sodium butyrate improves intestinal development and function by modulating the microbial community in broilers. *PloS one.* 13(5): e0197762. doi: 10.1371/journal.pone.0197762
8. Ventura, G., Lima, G.A., Barbosa, B.F.S., Polycarpo, G.V., Denadai, J.C., Costa, V.E. and Cruz-Polycarpo, V.C., 2021. Microencapsulated and uncoated butyric acid as alternative additives to the regeneration of intestinal mucosa in broilers challenged with *Eimeria* spp. *Br. Poult. Sci.* 62(5): 717-725. doi: 10.1080/00071668.2021.1900541
9. Pontes-Quero, G.M., Esteban-Rubio, S., Pérez Cano, J., Aguilar, M.R. and Vázquez-Lasa, B., 2021. Oregano essential oil micro-and nanoencapsulation with bioactive properties for biotechnological and biomedical applications. *Front. bioeng. biotechnol.* 9: 703684. doi: 10.3389/fbioe.2021.703684
10. Gheisari, A.A., Heidari, M., Kermanshahi, R.K., Togani, M. and Saraeian, S., 2007. Effect of dietary supplementation of protected organic acids on ileal microflora and protein digestibility in broiler chickens. In *Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition*. Strasbourg, France. 519-522.
11. Antongiovanni, M., Buccioni, A., Petacchi, F., Leeson, S., Minieri, S., Martini, A. and Cecchi, R., 2007. Butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens: effects on gut histology and carcass composition. *Ital. J. Anim. Sci.* 6(1): 19-25. doi: 10.4081/ijas.2007.19
12. Micciche, A.C., Foley, S.L., Pavlidis, H.O., McIntyre, D.R. and Ricke, S.C., 2018. A review of prebiotics against *Salmonella* in poultry: current and future potential for microbiome research applications. *Front. vet. sci.* 5: 191. doi: 10.3389/fvets.2018.00191
13. Torki, M., Mohebbifar, A. and Mohammadi, H., 2021. Effects of supplementing hen diet with *Lavandula angustifolia* and/or *Mentha spicata* essential oils on production performance, egg quality and blood variables of laying hens. *Vet. Med. Sci.* 7(1): 184-193. doi: 10.1002/vms3.343
14. Bouhaddouda, N., Aouadi, S. and Labiod, R., 2016. Evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanolic extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (DESF.) Ietswaart from Algeria. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem.* 8: 104-112.
15. Mandey, J.S., 2022. Clove (*Syzygium aromaticum*) in poultry feed. In *Clove (Syzygium Aromaticum)*. Academic Press. 235-255. doi: 10.1016/b978.0.323.85177.0.00015.x
16. Tarhan, İ., 2021. A robust method for simultaneous quantification of eugenol, eugenyl acetate and β -caryophyllene

سبب بهبود مورفولوژی ابتدای روده شود. در رابطه با اثرات روغن میخک بر مورفولوژی روده گزارش‌های شده است که افزودن پودر بذر میخک در سطوح ۰/۵ و ۱ درصد سبب افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ژژنوم جوجه‌های گوشتی گردید (۴۰). مطابق آزمایش حاضر Hamedی و همکاران گزارش کردند که ترکیب روغن‌های فرار نعنای فلفلی و آویشن هیچ تأثیری بر ارتفاع پرز و عمق کریپت روده کوچک جوجه‌های گوشتی نداشت (۶۹). استفاده از اسانس ۰/۱ گرم بر کیلوگرم و اسیدآلی ۱ گرم بر کیلوگرم به‌صورت ترکیبی ارتفاع پرز را افزایش داد اما تأثیری روی عرض پرز و عمق کریپت در ایلئوم جوجه‌های گوشتی نداشت (۱۹). Mohammadi و همکاران، گزارش کردند که افزودن اسانس میخک در جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش طول پرز در دوازدهم و ژژنوم نسبت به تیمار شاهد شد. به کار بردن دو سطح اسیدفرمیک (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به همراه دو سطح مخلوط عصاره گیاهی (۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره جوجه‌های گوشتی ارتفاع پرز ژژنوم را بهبود بخشید و گروهی که ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسیدفرمیک را تغذیه کرده بودند نیز بیش‌ترین عمق کریپت را داشتند با این حال، سطح پرز تحت تأثیر قرار نگرفت (۳۴). استفاده از ۰/۳ گرم بر کیلوگرم مخلوط اسیدسوربیک، اسیدفوماریک و تیمول سبب ارتفاع پرزهای دوازدهم و ژژنوم و لایه‌های عضلانی دوازدهم و ایلئوم جوجه‌های گوشتی گردید (۳). اگرچه اثر سینرژیسم از ترکیب اسید آلی و روغن فرار انتظار می‌رفت، نتایج به‌دست آمده این هدف را تأیید نکرد. وقوع اثر سینرژیسم واقعی به استفاده از دوز ترکیبی مناسب بستگی دارد. به‌همین دلیل مطالعات بیش‌تری جهت بررسی فعالیت سطوح مختلف روغن‌های فرار، اسیدهای آلی و ترکیب آن‌ها با یکدیگر مورد نیاز است.

منابع

1. Robinson, K., Becker, S., Xiao, Y., Lyu, W., Yang, Q., Zhu, H. and Zhang, G., 2019. Differential impact of subtherapeutic antibiotics and ionophores on intestinal microbiota of broilers. *Microorganisms.* 7(9): 282. doi: 10.3390/microorganisms7090282.
2. Abudabos, A.M., Alyemni, A.H., Dafalla, Y.M. and Khan, R.U., 2017. Effect of organic acid blend and *Bacillus subtilis* alone or in combination on growth traits, blood biochemical and antioxidant status in broilers exposed to *Salmonella typhimurium* challenge during the starter phase. *J. Appl. Anim. Res.* 45(1): 538-542. doi: 10.1080/09712119.2016.1219665
3. Yang, X., Xin, H., Yang, C. and Yang, X., 2018. Impact of essential oils and organic acids on the growth performance, digestive functions and immunity of broiler chickens. *Anim Nutr.* 4(4): 388-393. doi: 10.1016/j.aninu.2018.04.005

28. Araujo, R.G., Polycarpo, G.V., Barbieri, A., Silva, K. M., Ventura, G. and Polycarpo, V.C.C., 2019. Performance and economic viability of broiler chickens fed with probiotic and organic acids in an attempt to replace growth-promoting antibiotics. *Braz. J. Poult. Sci.* 21. doi: 10.1590/1806-9061-2018-0912.
29. Makled, M.N., Abouelezz, K.F.M., Gad-Elkareem, A.E.G. and Sayed, A.M., 2019. Comparative influence of dietary probiotic, yoghurt and sodium butyrate on growth performance, intestinal microbiota, blood hematology and immune response of meat-type chickens. *Trop. Anim. Health Prod.* 51: 2333-2342. doi: 10.1007/s11250-019-01945-8
30. Isroli, I., Murwani, R., Yudiarti, T., Widiastuti, E., Wahyuni, H.I., Sartono, T.A. and Sugiharto, S., 2020. Body weight, haematological indices and intestinal morphometric of broilers provided with diets containing formic acid, butyric acid or their blends. *J. Indones. Trop. Anim. Agric.* 45(1): 37-46. doi: 10.14710/jitaa.45.1.37.46
31. Pinchasov, Y. and Jensen, L.S., 1989. Effect of short chain fatty acids on voluntary feed of broiler chicks. *Poult. Sci.* 68(12): 1612-1618. doi: 10.3382/ps.0681612
32. Momenizadeh, Z., Maghsoudlou, S.H., Koohsar, J.B. and Ghanbari F., 2020. Evaluation of probiotics and butyric acid glycerides through feed and drinking water on growth performance, carcass characteristics and gut microflora in broiler chickens. *Journal of Animal Environment.* 12 (4): 231-244. (In Persian)
33. Ogwuegbu, M., Oyeagu, C., Edeh, H., Dim, C., Ani, A. and Lewu, F., 2021. Effects of Sodium Butyrate and Rosemary Leaf Meal on General Performance, Carcass Traits, Organ Sizes and Nutrient Digestibility of Broiler Chickens. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* 11(2): 365-379. doi: 10.1001.1.2251628.2021.11.2.18.2
34. Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M.D. and Madrid, J., 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 16(4): 555-562. doi: 10.3382/japr.2006-00116
35. Mohammadpour, A.A., Kermanshahi, H., Golian, A., Gholizadeh, M. and Gilani, A., 2014. Evaluation of varying levels of acid-binding capacity of diets formulated with various acidifiers on physical and histological characteristics of leg bones in broiler chickens. *Comp. Clin. Path.* 23: 1409-1420. doi: 10.1007/s00580-013-1798-1
36. Chambers, E.S., Morrison, D.J. and Frost, G., 2015. Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? *Proc. Nutr. Soc.* 74(3): 328-336. doi: 10.1017/S0029665114001657
37. Furness, J.B., Rivera, L.R., Cho, H.J., Bravo, D.M., and Callaghan, B., 2013. The gut as a sensory organ. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 10(12): 729-740. doi: 10.1038/nrgastro.2013.18
38. Monir, M.M., Hiramatsu, K., Nishimura, K., Takemoto, C. and Watanabe, T., 2014. Distribution of glucagon-like peptide (GLP)-2-immunoreactive cells in the chicken small intestine: antigen retrieval immuno histochemistry. *J. Vet. Med. Sci.* 76(4): 565-568. doi: 10.1292/jvms.13-0513
39. Tahir, M., Chuzaemi, S. and Widodo, E., 2019. The performance of broilers given eugenol of clove leaf essential oil as a feed additive. *Russ. j. agric. soc. econ. sci.* 95(11): 200-205. doi: 10.18551/rjoas.2019.11.28
40. Othman, S.M., Naser, K.M.B., Kanoun, A.H., Salim, A.A., Sherif, B.M. and Asheg, A.A., 2022. Effect of in clove essential oil by vibrational spectroscopy. *Phytochem.* 191: 112928. doi: 10.1016/j.phytochem.2021.112928
17. Mohammadi, F., 2021. Effect of different levels of clove (*Syzygium aromaticum* L.) essential oil on growth performance and oxidative/nitrosative stress biomarkers in broilers under heat stress. *Trop. Anim. Health Prod.* 53(1): 84. doi: 10.1007/s11250-020-02517-x
18. Ibrahim, D., Eldemery, F., Metwally, A.S., Abd-Allah, E.M., Mohamed, D.T., Ismail, T.A. and Marwa, I., 2022. Dietary eugenol nanoemulsion potentiated performance of broiler chickens: Orchestration of digestive enzymes, intestinal barrier functions and cytokines related gene expression with a consequence of attenuating the severity of *E. coli* O78 infection. *Front. vet. sci.* 9: 847580. doi: 10.3389/fvets.2022.847580
19. Iqbal, H., Rahman, A., Khanum, S., Arshad, M., Badar, I.H., Asif, A.R. and Iqbal, M.A., 2021. Effect of essential oil and organic acid on performance, gut health, bacterial count and serological parameters in broiler. *Braz. J. Poult. Sci.* 23. doi:10.1590/1806-9061-2021-1443
20. Cheema, M.A., Qureshi, M.A. and Havenstein, G.B., 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poult. Sci.* 82(10): 1519-1529. doi: 10.1093/ps/82.10.1519
21. Sakamoto, K., Hirose, H., Onizuka, A., Hayashi, M., Futamura, N., Kawamura, Y. and Ezaki, T., 2000. Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats. *J. Surg. Res.* 94(2): 99-106. doi: 10.1006/jsre.2000.5937
22. Song, B., Li, H., Wu, Y., Zhen, W., Wang, Z., Xia, Z. and Guo, Y., 2017. Effect of microencapsulated sodium butyrate dietary supplementation on growth performance and intestinal barrier function of broiler chickens infected with necrotic enteritis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 232: 6-15. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.07.009
23. Jazi, V., Foroozandeh, A.D., Toghyani, M., Dastar, B. and Koochaksaraie, R.R., 2018. Effects of *Pediococcus acidilactici*, mannan-oligosaccharide, butyric acid and their combination on growth performance and intestinal health in young broiler chickens challenged with *Salmonella typhimurium*. *Poult. Sci.* 97(6): 2034-2043. doi: 10.3382/ps/pey035
24. Saki, A.A., Khoramabadi, V., Nourian, A.R. and Zamani, P., 2018. Immune response, blood parameters and growth performance in broiler fed reduced protein diet supplemented with β -hydroxy- β -methyl butyrate and conjugated linoleic acid. *Acta Sci. Anim. Sci.* 40(1). doi: 10.4025/actascianimsci.v40i1.38000
25. Raza, M., Biswas, A., Mir, N.A. and Mandal, A.B., 2019. Butyric acid as a promising alternative to antibiotic growth promoters in broiler chicken production. *J. Agric. Sci.* 157(1): 55-62. doi: 10.1017/S0021859619000212
26. Sayrafi, R., Soltanilinejad, F., Shahrooz, R. and Rahimi, S., 2011. Effects of butyric acid glycerides and antibiotic growth promoter on the performance and intestinal histomorphometry of broiler chickens. *J. Food. Agric. Environ.* 9(3): 285-288.
27. Barbieri, A., do Valle Polycarpo, G., Cardoso, R.G.A., da Silva, K.M., Dadalt, J.C., Madeira, A.M.B.N. and Cruz-Polycarpo, V.C., 2015. Effect of probiotic and organic acids in an attempt to replace the antibiotics in diets of broiler chickens challenged with *Eimeria* spp. *Int. J. Poult. Sci.* 14(11): 606. doi: 10.3923/ijps.2015.606.614.

53. **Rahimi, S., Teymori Zadeh, Z., Torshizi, K., Omidbaigi, R. and Rokni, H., 2011.** Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. *J. Agric. Sci. Technol.* 13(4): 527-539.
54. **Su, G., Wang, L., Zhou, X., Wu, X., Chen, D., Yu, B. and He, J., 2021.** Effects of essential oil on growth performance, digestibility, immunity, and intestinal health in broilers. *Poult. Sci.* 100(8): 101242. doi: 10.1016/j.psj.2021.101242
55. **Tork, A., Khatibjoo, A., Gharaei, M.A., Taherpour, K. and Soltani, M., 2022.** Effect of different levels *Tanacetum balsamita* hydroalcoholic essential oil on broiler chicken's performance and humoral and cell mediated immunity. *Journal of Animal Environment.* 14(3): 155-162. (In Persian)
56. **Gholamrezaiesani, S.L., Mohammadi, M., Jalali, S.J., Abolghasemi, S.A. and Roostaei, A.M., 2013.** Effect of *Artemisia annua* leaf powder and ethanolic extract on broiler chicken performance, cell mediated and humoral immunity. *Iran. J. Vet. Res.* 14(1): 15-20 (In Persian)
57. **Khoobani, M., Hasheminezhad, S.H., Javandel, F., Nosrati, M., Seidavi, A., Kadim, I.T., Laudadio, V. and Tufarelli, V., 2019.** Effects of dietary chicory (*Chicorium intybus* L.) and probiotic blend as natural feed additives on performance traits, blood biochemistry, and gut microbiota of broiler chickens. *Antibiotics.* 9 (5): 24-32. doi: 10.3390/antibiotics9010005.
58. **Zhao, H., Bai, H., Deng, F., Zhong, R., Liu, L., Chen, L. and Zhang, H., 2022.** Chemically Protected Sodium Butyrate Improves Growth Performance and Early Development and Function of Small Intestine in Broilers as One Effective Substitute for Antibiotics. *Antibiotics.* 11: 132. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020132>.
59. **Memon, M.A., Dai, H., Wang, Y., Xu, T., ul Aabdin, Z., Bilal, M.S. and Chandra, R.A., 2019.** Shen, X. Efficacy of Sodium Butyrate in Alleviating Mammary Oxidative Stress Induced by Sub-Acute Ruminant Acidosis in Lactating Goats. *Microb. Pathog.* 137: 103781.
60. **Wu, W., Xiao, Z., An, W., Dong, Y. and Zhang, B., 2018.** Dietary Sodium Butyrate Improves Intestinal Development and Function by Modulating the Microbial Community in Broilers. *PLoS ONE.* 13: e0197762.
61. **González-Ortiz, G., Dos Santos, T.T., Vienola, K., Vartiainen, S., Apajalahti, J. and Bedford, M.R., 2019.** Response of Broiler Chickens to Xylanase and Butyrate Supplementation. *Poult. Sci.* 98: 3914-3925.
62. **Panda, A.K., Rama Rao, S.V., Raju, M.V.L.N. and Shyam Sunder, G., 2009.** Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 22(7): 1026-1031. doi: 10.5713/ajas.2009.8 0298.
63. **Rodríguez-Lecompte, J.C., Yitbarek, A., Brady, J., Sharif, S., Cavanagh, M.D., Crow, G. and Camelo Jaimes, G., 2012.** The effect of microbial-nutrient interaction on the immune system of young chicks after early probiotic and organic acid administration. *J. Anim. Sci.* 90(7): 2246-2254. doi: 10.2527/jas.2011-4184.
64. **Adil, S., Banday, T., Bhat, G.A., Mir, M.S. and Rehman, M., 2010.** Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Vet. Med. Int.* doi: 10.4061/2010/479485.
41. **Al-Mufarrej, S.I., Al-Baadani, H.H. and Fazea, E.H., 2019.** Effect of level of inclusion of clove (*Syzygium aromaticum*) powder in the diet on growth and histological changes in the intestines and livers of broiler chickens. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 49(1): 166-175. doi: 10.4314/sajas.v49i1.19
42. **Azadegan, M.M., Hassanabadi, A., NASIRI, M.H. and Kermanshahi, H., 2014.** Supplementation of clove essential oils and probiotic on blood components, lymphoid organs and immune response in broiler chickens. *Anim. Vet. Sci.* 4(4): 218-223.
43. **Irawan, A., Hidayat, C., Jayanegara, A. and Ratriyanto, A., 2021.** Essential oils as growth-promoting additives on performance, nutrient digestibility, cecal microbes, and serum metabolites of broiler chickens: a meta-analysis. *Anim. Biosci.* 34(9): 1499-1513. doi: 10.5713/ab.20.0668
44. **Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, Ch. and Kroismayr, A., 2008.** Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *J. Anim. Sci.* 86(14): 140-148. doi: 10.2527/jas.2007-0459
45. **Jouany, J.P. and Morgavi, D.P., 2007.** Use of natural products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal.* 1(10): 1443-1466. doi: 10.1017/S1751731107000742
46. **Altop, A., Erener, G., Duru, M.E. and Isik, K., 2018.** Effects of essential oils from *Liquidambar orientalis* Mill. leaves on growth performance, carcass and some organ traits, some blood metabolites and intestinal microbiota in broilers. *Br. Poult. Sci.* 59(1): 121-127. doi: 10.1080/000 71668.2017.1400657
47. **Yang, X., Liu, Y., Yan, F., Yang, C. and Yang, X., 2019.** Effects of encapsulated organic acids and essential oils on intestinal barrier, microbial count, and bacterial metabolites in broiler chickens. *Poult. Sci.* 98(7): 2858-2865. doi: 10.3382/ps/pez031
48. **Dai, Z., Wang, X., Liu, Y., Liu, J., Xiao, S., Yang, C. and Zhong, Y., 2023.** Effects of Dietary Microcapsule Sustained-Release Sodium Butyrate on the Growth Performance, Immunity, and Gut Microbiota of Yellow Broilers. *Animals.* 13(23): 3598. doi: 10.3390/ani132335 98
49. **Zhang, W.H., Jiang, Y., Zhu, Q.F., Gao, F., Dai, S.F., Chen, J. and Zhou, G.H., 2011.** Sodium butyrate maintains growth performance by regulating the immune response in broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 52(3): 292-301. doi: 10.1080/00071668.2011.578121.
50. **Lee, K.W., Lillehoj, H.S., Jeong, W., Jeoung, H.Y. and An, D.J., 2011.** Avian necrotic enteritis: experimental models, host immunity, pathogenesis, risk factors, and vaccine development. *Poult. Sci.* 90(7): 1381-1390. doi: 10.3382/ps.2010-01319
51. **Emami, N.K., Daneshmand, A., Naeini, S.Z., Graystone, E.N. and Broom, L.J., 2017.** Effects of commercial organic acid blends on male broilers challenged with *E. coli* K88: Performance, microbiology, intestinal morphology, and immune response. *Poult. Sci.* 96(9): 3254-3263. doi: 10.3382/ps/pex106
52. **Mohammadi, Z., Ghazanfari, S. and Adibmoradi, M., 2014.** Effects of clove essential oil on growth performance, carcass characteristics and immune system in broiler chicken. *Vet. Res.* 27(1): 67-76. (In Persian) doi: 10.22092/VJ.2014.101005

65. **Milbradt, E.L., Okamoto, A.S., Rodrigues, J.C.Z., Garcia, E.A., Sanfelice, C., Centenaro, L.P. and Andreatti Filho, R.L., 2014.** Use of organic acids and competitive exclusion product as an alternative to antibiotic as a growth promoter in the raising of commercial turkeys. *Poult. Sci.* 93(7): 1855-1861. doi: 10.3382/ps.2013-03593
66. **Levy, A.W., Kessler, J.W., Fuller, L., Williams, S., Mathis, G.F., Lumpkins, B. and Valdez, F., 2015.** Effect of feeding an encapsulated source of butyric acid (ButiPEARL) on the performance of male Cobb broilers reared to 42 d of age. *Poult. Sci.* 94(8): 1864-1870. doi: 10.3382/ps/pev130
67. **Moquet, P.C.A., Onrust, L., Van Immerseel, F., Ducatelle, R., Hendriks, W.H. and Kwakkel, R.P., 2016.** Importance of Release Location on the Mode of Action of Butyrate Derivatives in the Avian Gastrointestinal Tract. *Worlds Poult. Sci. J.* 72: 61-80.
68. **Elnesr, S.S., Alagawany, M., Elwan, H.A.M., Fathi, M.A. and Farag, M.R., 2020.** Effect of Sodium Butyrate on Intestinal Health of Poultry-A Review. *Ann. Anim. Sci.* 20: 29-41.
69. **Hamed, S., Shomali, T. and Ghaderi, H., 2017.** Effect of dietary inclusion of *Mentha piperita* L. on histological and histomorphometrical parameters of the small intestine in broiler chickens. *Org. Agric.* 7: 105-110. doi: 10.1007/s13165-016-0153-7