

اثر روغن فرار میخک (*Syzygium aromaticum*) و ویتامین C بر بازده رشد، مورفولوژی پرزهای روده و پاسخ ایمنی به واکسن زنده نیوکاسل به‌دنبال مصرف کادمیوم در آب آشامیدنی بلدرچین ژاپنی

شهاب بهادران^{۱*}، میلاد بابااحمدی میلانی^۲، حسین حسن پور^۳، عزیزالله فلاح مهرجردی^۴

۱- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲- دانش‌آموخته دکترای تخصصی بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳- استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۴- دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: bahadoran4@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۶/۸/۱۴ پذیرش نهایی: ۹۸/۲/۲۳)

چکیده

آلودگی محیط زیست و مواجهه شغلی با فلزات سمی مانند جیوه، کادمیوم و سرب موجب ایجاد بیماری‌های مزمن و بدخیم با عوارض قابل ملاحظه‌ای در اکثر بافت‌های بدن می‌شود. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش توان آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان اصلی‌ترین عامل بروز ضایعات ناشی از مسمومیت با کادمیوم مطرح است. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر روغن فرار میخک و ویتامین C بر بازده رشد، مورفولوژی پرزهای روده و پاسخ ایمنی به واکسن زنده نیوکاسل در بلدرچین‌های مواجهه داده‌شده با کادمیوم بود. تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی یک‌روزه به ۸ گروه ۳۰ قطعه‌ای با ۳ تکرار ۱۰ قطعه‌ای تقسیم‌بندی گردید. گروه‌های ۱ و ۸ جیره پایه، گروه‌های ۲ و ۷ جیره پایه به‌علاوه ۵۰۰ ppm ویتامین C در جیره، گروه‌های ۳ و ۵ جیره پایه به‌علاوه ۱۵۰ میلی‌گرم فرار میخک به‌ازای هر کیلوگرم جیره، گروه‌های ۴ و ۶ جیره پایه به‌علاوه ۴۵۰ میلی‌گرم فرار میخک به‌ازای هر کیلوگرم جیره، گروه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ در کل دوره آزمایش (۳۵-۷ روزگی) ۴۰ ppm کلرید کادمیوم اضافه شد. در سن ۲۱ روزگی از هر گروه، تعداد ۹ نمونه خون گرفته شده و در سن ۳۵ روزگی هم، از سه قسمت روده (دئودنوم، ژژونوم و ایلئوم) تعداد ۹ قطعه جوجه از هر گروه، نمونه‌گیری شد. نتایج نشان داد که جوجه‌های گروه‌های ۶ و ۷ وزن بدنی، اندازه پرز و سطح جذب بیشتری نسبت به گروه کنترل داشتند ($p < 0/05$). همچنین جوجه‌های گروه‌های ۲، ۴ و ۸ نسبت به گروه ۱، دارای اندازه و سطح جذب پرز بیشتری در قسمت‌های مختلف روده بودند ($p < 0/05$). به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن ویتامین C و روغن فرار میخک به جیره غذایی بلدرچین ژاپنی، بر شاخص‌های رشد و سطح جذب پرزهای روده تاثیر مثبت داشته و سبب کاهش اثرات منفی کادمیوم بر وزن بدن و سطح جذب پرزهای روده در پرندگان مذکور می‌شود.

کلیدواژه‌ها: میخک، ویتامین C، کادمیوم، مورفولوژی روده، بلدرچین.

مقدمه

بیماری‌های مزمن و بدخیم با عوارض قابل ملاحظه‌ای در اکثر بافت‌های بدن می‌شود. این عوارض که متعاقب مسمومیت با فلزات سمی رخ می‌دهد شامل سرطان‌زایی، ایمونوتوکسیسیته (immunotoxicity) و مسمومیت عصبی (neurotoxicity) است که در پی ایجاد رادیکال‌های اکسیژن که عامل ایجاد استرس اکسیداتیو (oxidative stress) و تغییر در خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیکی بافت‌های بدن می‌باشند، رخ می‌دهد (Nwokocha et al., 2012).

کادمیوم فلز سنگین دو ظرفیتی با عدد اتمی ۴۸، پراکنده در محیط و از آلاینده‌های معمول آن می‌باشد. راه‌های اصلی قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین، شامل هوا، آب، خاک و مواد غذایی آلوده می‌باشد. کادمیوم آلاینده محیطی و صنعتی می‌باشد که توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer) در گروه ۱ مواد سرطان‌زا طبقه‌بندی می‌شود (Davies, 1980). افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش توان آنتی‌اکسیدانی به عنوان اصلی‌ترین عامل بروز ضایعات ناشی از مسمومیت با کادمیوم مطرح است (Pari and Murugavel, 2005).

استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل در واکنش اکسیدشدن و احیا و مرگ سلولی متعاقب آن می‌باشد. این اتفاق زمانی رخ می‌دهد که گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول غلبه کنند (Gao et al., 2014). آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که عملکرد رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و مانع از تخریب سلول‌های بدن می‌شوند. در واقع آنتی‌اکسیدان‌ها با

طی ۵۰ سال گذشته صنعت طیور گام‌های بلندی در زمینه‌های تغذیه، ژنتیک، مهندسی، مدیریت و ارتباطات برداشته است تا به موجب آن حداکثر راندمان عملکرد رشد و تولید گوشت حاصل شود. امروزه در صنعت پرورش طیور، بلدرچین جایگاه خاصی پیدا کرده است و با توجه به افزایش تقاضای مردم، پرورش آن رو به گسترش است. کوتاه بودن دوره پرورش، مقاومت بیشتر علیه بیماری‌ها و خوشمزه بودن گوشت آن، اهمیت پرورش بلدرچین را دوچندان می‌کند (Cakir et al., 2008).

ارزش تغذیه‌ای جیره‌ای که به جوجه‌ها داده می‌شود از نظر تجاری به وسیله میزان هضم و جذب مواد مغذی و بازده رشد ارزیابی می‌شود. روده محل جذب مواد مغذی است و نظر بر این‌که بیش از ۷۰ درصد از هزینه‌های پرورش جوجه‌های گوشتی مربوط به خوراک می‌باشد، اهمیت حفظ سلامت سلول‌های پوششی (epithelial cell) و مخاط روده در جهت بازده بیشتر و کاهش هزینه‌های تولید مشخص می‌گردد (Lee et al., 2004). با توجه به مطالعات انجام شده تکامل مخاط روده شامل افزایش ارتفاع و تراکم پرزهاست که این افزایش بستگی به افزایش تعداد سلول‌های اپی‌تلیال دارد و همچنین ارزش غذایی متفاوت جیره نه تنها می‌تواند بر وزن بدنی تأثیر بگذارد، بلکه می‌تواند سبب ایجاد تغییرات آناتومیکی ماکروسکوپی و همچنین میکروسکوپی در روده و مخاط آن شود (Yamauchi, 2002).

آلودگی محیط زیست و مواجهه شغلی با فلزات سمی مانند جیوه، کادمیوم و سرب موجب ایجاد

با توجه به خواص مفید ذکر شده برای میخک و ویتامین C، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر روغن فرار میخک و ویتامین C بر اندازه و سطح جذب پرزهای روده و همچنین تیترا آنتی‌بادی تولیدشده علیه بیماری نیوکاسل به دنبال مصرف فلز سمی و اکسیدان کادمیوم در جیره غذایی بلدرچین ژاپنی بود.

مواد و روش‌ها

محل انجام مطالعه حاضر، سالن تحقیقاتی پرورش طیور دانشگاه شهرکرد بود. قبل از ورود جوجه‌ها به سالن، مراحل آماده‌سازی سالن شامل شستشو، ضدعفونی و تنظیم دما و نور انجام شد. تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی یک روزه خریداری شده و تا ۷ روزگی با جیره پایه تغذیه شدند. در ۷ روزگی پس از وزن‌کشی، پرنده‌ها در ۸ گروه که هر گروه متشکل از ۳۰ قطعه با ۳ تکرار ۱۰ قطعه‌ای بود، تقسیم‌بندی شدند، به طوری که میانگین وزن همه پن‌ها مشابه (±۱ گرم) باشد. دمای سالن روی ۳۸ درجه سلسیوس تنظیم شد و این دما هر هفته حدود ۳ درجه کاهش پیدا کرد تا در هفته پنجم به ۲۵ درجه سلسیوس رسید. تهویه با استفاده از فن‌ها انجام گرفت. آب و دان در طول دوره به صورت آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت. جیره پایه با توجه به نیازهای بلدرچین ژاپنی (NRC, 1994) و مطابق با جدول ۱ فرموله شد. همچنین در سن ۷ روزگی از واکسن نیوکاسل سویه B₁ (Hipraviar B1) اسپانیا) به طریق آشامیدنی در آب استفاده شد.

تأخیر یا توقف اکسیداسیون، پیش‌ماده‌های قابل اکسیدشدن را محافظت می‌کنند (Kohen, and Nyska, 2002).

گیاه میخک یا Clove با نام علمی *Syzygium aromaticum*، بومی جزائر اندونزی و اقیانوسیه می‌باشد و به علت زیبایی خاصی که دارد امروزه در بیشتر نقاط دنیا به عنوان درخت زینتی پرورش داده می‌شود. غنچه باز نشده گل میخک بخش دارویی این گیاه می‌باشد. از نظر ترکیبات شیمیایی، میخک دارای مقدار قابل ملاحظه‌ای (۱۵ تا ۲۰ درصد) روغن فرار است. اوژنول که ماده اصلی میخک می‌باشد، آرام‌کننده و ضد عفونی کننده بوده و از آن در دندانپزشکی برای آرام کردن درد دندان استفاده می‌شود (Fazel et al., 2010). همچنین اوژنول دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد تب، ضد ویروسی، ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد آسمی، ضد تشنجی، ادرارآوری و شل‌کنندگی عضلانی نیز می‌باشد (Abdel-Wahhab and Aly, 2005). گزارش شده که استفاده از اسانس میخک با توجه به تاثیر مثبت آن بر سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها و نیز قابلیت هضم و فلور میکروبی روده، باعث بهبود مکانیسم‌های عملکردی و ایمنی می‌شود (Agostini and Sola-Oriol, 2012).

ویتامین C نیز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده طبیعی که دارای اثرات مثبت بر کاهش اکسیداسیون و همچنین سلامت دستگاه گوارش است، مطرح می‌باشد (Zamani Moghaddam et al., 2009).

جدول ۱- درصد ترکیبات جیره (۱-۳۵ روزگی)

میزان استفاده (بر حسب کیلوگرم در هر تن دان)	نام مواد و ترکیبات
۴۸۴/۳	ذرت
۴۳۴/۱	کنجاله سویا (۴۳ درصد)
۴۶/۵	روغن سویا
۱۳/۷	دی کلسیم فسفات
۱۰	کربنات کلسیم
۱/۳	متیونین
۲/۵	مکمل ویتامینه
۲/۵	مکمل معدنی
۳/۱	نمک
۱/۵	ویتامین E
۰/۵	ویتامین D ₃

ترکیبات شیمیایی جیره	
۳۰۰۰	انرژی قابل متابولیسم (Kcal/Kg)
۲۳	پروتئین خام (درصد)
۰/۸	کلسیم (درصد)
۰/۴	فسفر قابل استفاده (درصد)
۰/۱۵	سدیم (درصد)
۰/۵	متیونین (درصد)
۰/۸۷	متیونین + سیستئین (درصد)
۱/۳۸	لیزین (درصد)
۰/۹۷	ترئونین (درصد)
۱/۶۶	آرژنین (درصد)
۰/۳۱	تریپتوفان (درصد)

طی دوره پرورش همه پن‌ها به صورت هفتگی وزن‌کشی شده و پس از تعیین میزان دان مصرفی هریک از آن‌ها، ضریب تبدیل غذایی هر پن محاسبه می‌گردید. همچنین برای بررسی وضعیت پرزهای روده، ابتدا نمونه برداری در سن ۳۵ روزگی از همه گروه‌ها انجام گرفت، به طوری که تعداد ۹ قطعه جوجه از هر گروه (از هر پن ۳ قطعه) به طور اتفاقی انتخاب و توزین شده و پس از کشتار، از سه قسمت روده (قسمت میانی دوازدهه، ژژونوم و ایلئوم) به اندازه ۳ سانتی‌متر نمونه برداری شده و با محلول فسفات بافر با pH=۷، شستشو داده شد. سپس دو انتهای روده بسته شده و محلول کلارک به داخل لومن روده تزریق گردید و پس از آن در اتیل الکل ۵۰ درصد قرار داده شده و جهت بررسی مورفولوژی میکروسکوپی روده به آزمایشگاه هیستوپاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد ارسال شد (Teshfam et al., 2005).

لازم به ذکر است که در سن ۲۱ روزگی هم از هر گروه به طور تصادفی ۹ نمونه خون (از هر تکرار ۳ نمونه) از ورید گردن اخذ شده و پس از جدا نمودن سرم، تا موقع آزمایش‌های سرولوژی در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید.

وضعیت پرزهای روده با اندازه‌گیری ابعاد پرزها (ارتفاع، پهنا و سطح) و ضخامت لایه لامینا پروپریا (lamina propria) بررسی گردید. بدین منظور هرکدام از نمونه‌های روده برای رنگ گرفتن در محلول PAS (periodic acid schiff) قرار داده شده، سپس با برش دادن، مقطع عمقی از دیواره کامل روده تهیه می‌گردید به طوری که پرزها و لایه عضلانی به صورت کامل قابل اندازه‌گیری باشند. سپس هر نمونه تهیه شده به طور

روغن فرار گیاه میخک استفاده شده در این مطالعه از شرکت باریج اسانس (Eugenol، کاشان، ایران) خریداری شد. ۲ میلی‌لیتر از این اسانس به آزمایشگاه ارسال و با استفاده از تجزیه (GC/MS) توسط دستگاه (Agilent 5975 C) ترکیبات آن اندازه‌گیری و تعیین شد که در جدول ۸ نمایش داده شده است.

همچنین گروه‌های آزمایشی به شرح زیر در نظر گرفته شد:

گروه اول (کنترل مثبت کادمیوم) دریافت‌کننده جیره پایه به علاوه ۴۰ ppm کلرید کادمیوم در آب آشامیدنی در کل دوره آزمایش (از ۷ تا ۳۵ روزگی).

گروه دوم دریافت‌کننده جیره پایه به علاوه ۱۵۰ میلی‌گرم روغن فرار میخک به ازای هر کیلوگرم جیره به علاوه ۴۰ ppm کلرید کادمیوم در آب آشامیدنی.

گروه سوم دریافت‌کننده جیره پایه به علاوه ۴۵۰ میلی‌گرم روغن فرار میخک به ازای هر کیلوگرم جیره به علاوه ۴۰ ppm کلرید کادمیوم در آب آشامیدنی.

گروه چهارم دریافت‌کننده جیره پایه به علاوه ۵۰۰ ppm ویتامین C در جیره به علاوه ۴۰ ppm کلرید کادمیوم در آب آشامیدنی.

گروه پنجم دریافت‌کننده جیره پایه به علاوه ۱۵۰ میلی‌گرم روغن فرار میخک به ازای هر کیلوگرم جیره.

گروه ششم دریافت‌کننده جیره پایه به علاوه ۴۵۰ میلی‌گرم روغن فرار میخک به ازای هر کیلوگرم جیره.

گروه هفتم دریافت‌کننده جیره پایه به علاوه ۵۰۰ ppm ویتامین C در جیره.

گروه هشتم دریافت‌کننده فقط جیره پایه (کنترل منفی یا گروه شاهد).

- تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار SIGMA STAT 3.5 و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one way ANOVA) در سطح معنی داری $p < 0/05$ مورد واکاوی آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

- نتایج مربوط به شاخص‌های رشد و بازده: داده‌های مربوط به وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی هر گروه در هفته‌های اول تا پنجم و کل دوره پرورشی در جدول ۳ ارائه شده است. به طور کلی وزن بدن در انتهای ۳۵ روزگی در گروه‌های دریافت کننده روغن میخک با مقادیر ۱۵۰ و ۴۵۰ میلی گرم و ویتامین C نسبت به گروه‌های کنترل و کادمیوم افزایش معنی داری داشت ($p < 0/05$). همچنین ضریب تبدیل غذایی در سنین ۷-۳۵ روزگی در همه گروه‌ها نسبت به گروه کادمیوم کاهش یافت، اما این اختلاف فقط بین گروه دریافت کننده روغن میخک به میزان ۴۵۰ میلی گرم و کادمیوم معنی دار بود ($p < 0/05$).

جداگانه بر روی لام قرار داده شده و به وسیله میکروسکوپ نوری (LEICA، ژاپن) با یک عدسی چشمی مدرج و درشت‌نمایی شیئی ۱۰× مورد بررسی قرار می‌گرفت. ارتفاع پرزهای روده از سطح بالایی آن تا قسمت بالای لایه لامینا پروپریا محاسبه می‌گردید و برای اندازه‌گیری عرض پرز هم قسمت میانی پرز اندازه‌گیری می‌شد. همچنین ضخامت لایه لامینا پروپریا هم از فاصله بین پایه پرز تا سطح بالایی لایه عضلانی اندازه‌گیری می‌گردید.

در نهایت هم مساحت هر پرز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

مساحت پرز بر حسب میلی‌متر = عرض پرز (میلی متر) \times (π)

- تعیین تیترا آنتی‌بادی بر علیه واکسن نیوکاسل: اندازه‌گیری میزان آنتی‌بادی تولید شده علیه واکسن نیوکاسل B₁ در سرم پرندگان مورد آزمایش هم، با استفاده از آزمایش مهار هماگلوتیناسیون (haemagglutination inhibition; HI) انجام گرفت.

جدول ۳- پارامترهای رشد وزن بدن (گرم)، دریافت غذا (گرم) و ضریب تبدیل خوراک در گروه‌های دریافت‌کننده مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

گروه	کادمیوم ۴۰ ppm	میخک ۱۵۰ mg +	میخک ۴۵۰ mg +	ویتامین C ۵۰۰ ppm + کادمیوم ۴۰ ppm	میخک ۱۵۰ mg	میخک ۴۵۰ mg	ویتامین C ۵۰۰ ppm	کنترل
فراسنجه								
وزن بدن								
۷ روزگی	۳۳/۰۰۸±۱/۹۰۸	۳۳/۷۵۰±۰/۶۷۵	۳۴/۷۷۶±۰/۴۰۲	۳۳/۷۱۱±۰/۹۷۷	۳۳/۸۳۳±۱/۲۳۲	۳۳/۳۳۳±۰/۳۸۱	۳۴/۱۵۴±۰/۸۱۵	۳۲/۸۵۰±۰/۵۱۳
۱۴ روزگی	۵۸/۸۱۸±۰/۷۸۶	۶۱/۶۸۲±۲/۴۵۶	۶۱/۴۰۶±۰/۸۳۵	۶۶/۲۰۸±۰/۹۶۳	۶۷/۷۱۷±۳/۲۱۸	۶۵/۳۷۳±۴/۱۳۸	۶۹/۶۰۹±۳/۴۱۶	۶۶/۶۹۶±۰/۷۴۳
۲۱ روزگی	۱۰۴/۲۷۶±۲/۷۴۰ ^a	۱۰۹/۷۶۹±۱/۹۲۷ ^{ab}	۱۰۷/۹۳۰±۱/۲۱۲ ^{ab}	۱۱۳/۵۴۷±۱/۱۰۹ ^{abd}	۱۲۵/۳۸۶±۳/۴۶۲ ^{cd}	۱۲۵/۱۸۱±۴/۱۴۹ ^{cd}	۱۲۸/۵۴۵±۱/۶۷۸ ^c	۱۱۲/۰۳۳±۲/۹۰۲ ^{ab}
۲۸ روزگی	۱۴۱/۲۷۴±۳/۰۷۳ ^a	۱۵۲/۷۹۶±۲/۶۱۶ ^{ab}	۱۵۳/۰۹۵±۶/۹۱۰ ^{ab}	۱۵۸/۹۴۵±۱/۸۳۰ ^{abc}	۱۷۰/۴۶۵±۱/۸۶۶ ^{bc}	۱۷۲/۷۹۷±۴/۶۹۳ ^{bc}	۱۷۴/۳۰۴±۵/۲۵۳ ^c	۱۶۲/۵۱۸±۱/۶۰۶ ^{bc}
۳۵ روزگی	۱۶۵/۸۰۲±۴/۸۴۵ ^a	۱۸۲/۱۲۷±۵/۲۷۵ ^{ab}	۱۸۱/۰۲۷±۶/۶۴۱ ^{ab}	۱۸۵/۸۳۴±۲/۸۷۰ ^{ab}	۲۰۲/۴۱۰±۴/۰۰۳ ^b	۲۰۲/۹۰۷±۲/۸۵۹ ^b	۲۰۴/۰۱۲±۶/۴۲۲ ^b	۱۹۲/۹۲۲±۳/۰۸۵ ^b
دریافت غذا								
۱۴-۷	۶۷/۴۲۸±۲/۶۶۴	۶۹/۰۰۰±۱/۶۲۶	۶۹/۱۰۲±۰/۹۴۸	۸۰/۱۳۴±۵/۸۶۳	۸۴/۵۵۰±۴/۹۷۱	۷۲/۵۸۹±۸/۸۷۶	۸۵/۱۱۰±۰/۷۱۱	۸۴/۹۵۷±۵/۴۹۱
۱۴-۲۱	۱۲۰/۰۰۷±۴/۶۷۱	۱۱۴/۶۰۵±۷/۵۵۵	۱۱۵/۲۶۰±۹/۳۷۰	۱۱۴/۵۷۵±۲/۶۵۶	۱۳۴/۸۲۷±۰/۲۲۵	۱۳۵/۳۹۳±۴/۵۳۴	۱۳۶/۰۵۹±۳/۶۷۹	۱۱۴/۶۷۷±۵/۵۶۳
۲۱-۲۸	۱۴۷/۰۴۶±۴/۲۵۸	۱۵۰/۰۸۶±۶/۳۰۰	۱۵۹/۷۰۷±۵/۹۵۱	۱۶۳/۰۳۷±۱/۲۴۹	۱۵۶/۰۷۱±۷/۷۶۷	۱۶۳/۸۰۹±۱۳/۹۲۶	۱۵۸/۶۷۴±۱۱/۵۷۷	۱۷۸/۱۱۷±۱/۷۰۴
۲۸-۳۵	۱۴۸/۳۲۹±۶/۵۱۳	۱۵۵/۹۷۸±۱۶/۹۰۰	۱۴۷/۲۳۵±۲/۳۲۷	۱۴۸/۲۶۷±۷/۲۳۹	۱۵۲/۱۶۷±۳/۱۵۵	۱۴۸/۴۲۶±۵/۲۴۲	۱۶۱/۸۰۱±۵/۱۶۹	۱۵۳/۸۴۶±۲/۷۶۵
۷-۳۵	۴۸۲/۸۰۹±۶/۴۶۱	۴۸۹/۶۶۹±۲۱/۹۷۶	۴۹۱/۳۰۵±۱۴/۱۹۰	۵۰۶/۰۱۲±۱۲/۵۰۰	۵۳۲/۶۱۵±۵/۱۷۲	۵۲۰/۲۱۶±۱۷/۱۵۲	۵۴۱/۶۴۳±۱۱/۴۸۰	۵۳۱/۵۹۷±۲/۸۸۵
ضریب تبدیل غذایی								
۱۴-۷	۲/۴۷۸±۰/۱۹۸	۲/۳۵۲±۰/۱۸۲	۲/۴۳۲±۰/۰۶۸	۲/۳۲۱±۰/۱۲۸	۲/۳۵۷±۰/۰۷۴	۲/۱۶۴±۰/۲۳۷	۲/۳۲۶±۰/۲۸۰	۲/۳۷۱±۰/۱۴۸
۱۴-۲۱	۲/۷۸۱±۰/۲۸۱	۲/۴۹۳±۰/۰۸۰	۲/۵۷۶±۰/۱۸۷	۲/۵۳۴±۰/۱۲۱	۲/۴۲۵±۰/۰۴۶	۲/۳۷۴±۰/۲۲۸	۲/۴۰۸±۰/۱۲۲	۲/۶۱۸±۰/۰۵۹
۲۱-۲۸	۳/۹۷۳±۰/۰۸۰	۳/۵۶۶±۰/۳۸۷	۳/۶۱۰±۰/۲۹۵	۳/۵۹۴±۰/۰۸۷	۳/۴۶۰±۰/۰۳۵	۳/۴۶۶±۰/۱۹۵	۳/۵۱۶±۰/۱۸۵	۳/۵۴۰±۰/۱۳۶
۲۸-۳۵	۶/۱۰۵±۰/۳۹۰	۵/۶۳۶±۰/۶۵۳	۵/۳۹۳±۰/۵۵۹	۵/۵۳۸±۰/۲۷۲	۴/۹۸۵±۰/۴۷۳	۵/۲۰۱±۰/۸۳۵	۵/۴۵۷±۰/۱۸۷	۵/۱۲۲±۰/۳۵۹
۷-۳۵	۳/۶۴۹±۰/۱۳۰ ^a	۳/۳۰۳±۰/۱۲۴ ^{ab}	۳/۳۶۷±۰/۱۰۴ ^{ab}	۳/۳۳۱±۰/۱۲۶ ^{ab}	۳/۱۶۴±۰/۰۹۷ ^{ab}	۳/۰۶۸±۰/۰۹۸ ^b	۳/۱۹۵±۰/۰۸۰ ^{ab}	۳/۳۲۳±۰/۰۶۲ ^{ab}

abc: حروف غیرمتشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد (p < 0.05).

- مورفولوژی پرزهای روده: نتایج مربوط به مورفولوژی پرزهای روده به صورت میانگین ارتفاع، عرض، لامینا پروپریا و مساحت پرزها (میانگین \pm انحراف معیار) در دئودنوم، ژژونوم و ایلئوم جوجه‌های گروه‌های مختلف در سن ۳۵ روزگی به ترتیب در جداول ۴، ۵ و ۶ ذکر شده است.

جدول ۴- میانگین ارتفاع، عرض، لامینا پروپریا و مساحت پرزهای دئودنوم در جوجه‌های گروه‌های مختلف در ۳۵ روزگی بر حسب میلی‌متر (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه	فراسنجه	ارتفاع (mm)	عرض (mm)	لامینا پروپریا (mm)	مساحت (mm) ²
میخک (۱۵۰ mg) + کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۴۷۵ \pm ۰/۰۳۰ bcf	۰/۱۱۴ \pm ۰/۰۱۰ cf	۰/۱۹۸ \pm ۰/۰۱۹ bc	۰/۱۷۰ \pm ۰/۰۱۷ bcd	
میخک (۴۵۰ mg) + کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۵۷۴ \pm ۰/۰۳۴ abef	۰/۱۲۰ \pm ۰/۰۰۹ cf	۰/۲۱۹ \pm ۰/۰۱۹ bcf	۰/۲۲۰ \pm ۰/۰۲۲ bdf	
ویتامین C (۵۰۰ ppm) + کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۵۶۹ \pm ۰/۰۳۰ abc	۰/۱۲۷ \pm ۰/۰۱۰ acf	۰/۲۰۶ \pm ۰/۰۱۷ bc	۰/۲۳۱ \pm ۰/۰۲۴ bef	
کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۳۸۷ \pm ۰/۰۲۶ c	۰/۰۸۹ \pm ۰/۰۰۸ c	۰/۱۳۸ \pm ۰/۰۰۸ c	۰/۱۱۰ \pm ۰/۰۱۵ c	
میخک (۴۵۰ mg)	۰/۷۳۱ \pm ۰/۰۴۹ eh	۰/۱۸۶ \pm ۰/۰۰۹ eh	۰/۳۸۵ \pm ۰/۰۳۴ eh	۰/۴۲۷ \pm ۰/۰۳۳ eh	
میخک (۱۵۰ mg)	۰/۶۴۹ \pm ۰/۰۴۰ aef	۰/۱۶۲ \pm ۰/۰۱۲ aef	۰/۳۶۳ \pm ۰/۰۳۹ f	۰/۳۴۱ \pm ۰/۰۳۹ aef	
ویتامین C (۵۰۰ ppm)	۰/۷۹۸ \pm ۰/۰۳۵ ah	۰/۱۸۲ \pm ۰/۰۱۰ ah	۰/۳۷۷ \pm ۰/۰۲۵ ah	۰/۴۶۰ \pm ۰/۰۳۳ ah	
جیره پایه (کنترل)	۰/۵۸۸ \pm ۰/۰۳۸ bf	۰/۱۳۰ \pm ۰/۰۱۴ bf	۰/۲۱۷ \pm ۰/۰۰۹ bf	۰/۲۴۶ \pm ۰/۰۳۲ bf	

abc: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد ($p < 0.05$).

جدول ۵- میانگین ارتفاع، عرض، لامینا پروپریا و مساحت پرزهای ژژونوم در جوجه‌های گروه‌های مختلف در ۳۵ روزگی بر حسب میلی‌متر (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه	فراسنجه	ارتفاع (mm)	عرض (mm)	لامینا پروپریا (mm)	مساحت (mm) ²
میخک (۱۵۰ mg) + کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۳۳۳ \pm ۰/۰۲۰ bcd	۰/۰۸۰ \pm ۰/۰۰۶ bcd	۰/۲۰۱ \pm ۰/۰۲۲ abce	۰/۰۸۶ \pm ۰/۰۱۰ bcd	
میخک (۴۵۰ mg) + کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۳۹۰ \pm ۰/۰۲۳ bdf	۰/۰۹۳ \pm ۰/۰۰۸ bcd	۰/۱۹۸ \pm ۰/۰۱۳ abe	۰/۱۱۵ \pm ۰/۰۱۲ bdf	
ویتامین C (۵۰۰ ppm) + کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۳۷۵ \pm ۰/۰۱۹ bf	۰/۰۹۷ \pm ۰/۰۰۹ bcd	۰/۱۸۵ \pm ۰/۰۱۴ bce	۰/۱۱۷ \pm ۰/۰۱۴ bd	
کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۲۶۲ \pm ۰/۰۱۴ ck	۰/۰۶۸ \pm ۰/۰۱۰ c	۰/۱۲۷ \pm ۰/۰۰۹ ck	۰/۰۵۳ \pm ۰/۰۰۶ ck	
میخک (۴۵۰ mg)	۰/۶۲۰ \pm ۰/۰۳۳ eh	۰/۱۵۲ \pm ۰/۰۱۲ eh	۰/۲۸۰ \pm ۰/۰۲۴ eh	۰/۳۰۳ \pm ۰/۰۲۹ eh	
میخک (۱۵۰ mg)	۰/۴۳۷ \pm ۰/۰۳۷ bfe	۰/۱۲۱ \pm ۰/۰۱۲ aef	۰/۲۷۴ \pm ۰/۰۲۲ ah	۰/۱۷۳ \pm ۰/۰۲۵ bf	
ویتامین C (۵۰۰ ppm)	۰/۶۴۵ \pm ۰/۰۳۳ ah	۰/۱۶۰ \pm ۰/۰۱۰ ah	۰/۲۷۶ \pm ۰/۰۱۹ ah	۰/۳۱۴ \pm ۰/۰۱۸ ah	
جیره پایه (کنترل)	۰/۴۰۰ \pm ۰/۰۲۴ b	۰/۰۹۸ \pm ۰/۰۰۹ bcde	۰/۱۷۰ \pm ۰/۰۱۱ bk	۰/۱۲۰ \pm ۰/۰۱۲ b	

abc: حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد ($p < 0.05$).

جدول ۶- میانگین ارتفاع، عرض، لامینا پروپریا و مساحت پرزهای ایلتوم در جوجه‌های گروه‌های مختلف در ۳۵ روزگی بر حسب میلی‌متر (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه	فراسنجه	ارتفاع (mm)	عرض (mm)	لامینا پروپریا (mm)	مساحت (mm ²)
میخک (۱۵۰ mg) + کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۲۹۳ \pm ۰/۰۱۰ abde	۰/۰۷۰ \pm ۰/۰۰۵ bcdf	۰/۱۸۱ \pm ۰/۰۱۳ ade	۰/۰۶۵ \pm ۰/۰۰۵ cdf	
میخک (۴۵۰ mg) + کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۲۷۱ \pm ۰/۰۱۲ abde	۰/۰۷۷ \pm ۰/۰۰۷ bcdf	۰/۱۷۴ \pm ۰/۰۱۶ ade	۰/۰۶۵ \pm ۰/۰۰۶ cdf	
ویتامین C (۵۰۰ ppm) + کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۲۸۹ \pm ۰/۰۱۳ abde	۰/۰۷۵ \pm ۰/۰۰۴ bcdf	۰/۱۷۱ \pm ۰/۰۰۹ ade	۰/۰۶۸ \pm ۰/۰۰۵ df	
کادمیوم (۴۰ ppm)	۰/۱۶۹ \pm ۰/۰۱۲ cm	۰/۰۵۶ \pm ۰/۰۰۸ c	۰/۱۰۲ \pm ۰/۰۰۹ c	۰/۰۳۲ \pm ۰/۰۰۶ c	
میخک (۴۵۰ mg)	۰/۳۲۰ \pm ۰/۰۱۵ ek	۰/۱۲۱ \pm ۰/۰۰۹ ek	۰/۱۹۲ \pm ۰/۰۱۱ ek	۰/۱۲۰ \pm ۰/۰۰۹ ek	
میخک (۱۵۰ mg)	۰/۲۸۹ \pm ۰/۰۱۵ fk	۰/۱۰۶ \pm ۰/۰۰۸ fk	۰/۱۶۱ \pm ۰/۰۱۱ fk	۰/۰۹۹ \pm ۰/۰۱۰ fk	
ویتامین C (۵۰۰ ppm)	۰/۲۹۵ \pm ۰/۰۱۷ ahk	۰/۱۳۳ \pm ۰/۰۱۰ ak	۰/۱۹۰ \pm ۰/۰۱۵ ak	۰/۱۲۸ \pm ۰/۰۱۴ ak	
جیره پایه (کنترل)	۰/۲۶۳ \pm ۰/۰۲۱ bhk	۰/۰۸۵ \pm ۰/۰۰۷ bcdefh	۰/۱۳۰ \pm ۰/۰۱۳ bcdf	۰/۰۷۴ \pm ۰/۰۱۲ bhf	

abc: در هر ستون حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد ($p < 0.05$).

C نیز دارای مساحت پرز بیشتری نسبت به گروه کنترل بودند ($p < 0.05$).

- نتایج مربوط به تعیین تیترا آنتی‌بادی بر علیه واکسن نیوکاسل: یافته‌های حاصل از تعیین تیترا آنتی‌بادی‌های تولید شده علیه واکسن نیوکاسل B1 با استفاده از آزمایش HI (مهار هم‌گلو تیناسیون) در سرم خون پرندگان گروه‌های مورد مطالعه در سن ۲۱ روزگی، به شکل میانگین \pm انحراف معیار در جدول ۷ مشاهده می‌شود. نتایج بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است، هر چند که بیشترین عیار آنتی‌بادی مربوط به گروه‌های دریافت کننده ویتامین C و میخک به مقدار ۴۵۰ میلی‌گرم بود.

نتایج ثبت شده در سه جدول بالا نشان داد که به طور کلی مساحت پرزهای دئودنوم و ژرزنوم در گروه‌های دریافت کننده ویتامین C و میخک به مقدار ۴۵۰ میلی‌گرم نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است ($p < 0.05$). همچنین گروه‌های دریافت کننده کادمیوم به علاوه میخک به مقدار ۴۵۰ میلی‌گرم و ویتامین C به علاوه کادمیوم نسبت به گروه کنترل مثبت کادمیوم، مساحت پرز بیشتری داشتند ($p < 0.05$). در قسمت ایلتوم نیز گروه دریافت کننده ویتامین C به علاوه کادمیوم دارای مساحت پرز بیشتری نسبت به گروه کنترل مثبت کادمیوم داشت ($p < 0.05$). گروه‌های دریافت کننده میخک به مقدار ۴۵۰ میلی‌گرم و ویتامین

جدول ۷- میانگین تیترا آنتی‌بادی تولیدشده علیه واکسن نیوکاسل B1 در سرم خون جوجه‌های گروه‌های مختلف در ۲۱ روزگی (میانگین \pm انحراف معیار)

تیترا آنتی‌بادی	پارامتر مورد سنجش	گروه دریافت کننده
۱/۸۷۵ \pm ۰/۳۵۰	(۴۰ ppm)	میخک (۱۵۰ mg) + کادمیوم (۴۰ ppm)
۱/۷۵۰ \pm ۰/۲۵۰	(۴۰ ppm)	میخک (۴۵۰ mg) + کادمیوم (۴۰ ppm)
۱/۷۵۰ \pm ۰/۴۱۲	(۴۰ ppm)	ویتامین C (۵۰۰ ppm) + کادمیوم (۴۰ ppm)
۱/۰۰۰ \pm ۰/۲۶۷	(۴۰ ppm)	کادمیوم (۴۰ ppm)
۲/۱۲۵ \pm ۰/۳۹۸	(۴۵۰ mg)	میخک (۴۵۰ mg)
۱/۸۷۵ \pm ۰/۳۵۰	(۱۵۰ mg)	میخک (۱۵۰ mg)
۲/۳۷۵ \pm ۰/۳۷۵	(۵۰۰ ppm)	ویتامین C (۵۰۰ ppm)
۱/۸۷۵ \pm ۰/۳۵۰	(کنترل)	جیره پایه (کنترل)

abc حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد ($p < 0.05$).

جدول ۸- نتایج شناسایی شده در ترکیبات فرار گیاه میخک با استفاده از روش GC/MS

ترکیب	میزان به درصد	(شاخص بازداری)	زمان بازداری ترکیب
اوزنول	۷۷/۶۳	۱۳۶۵/۳۳۵	۱۸/۱۷۵
ایزو اوزنول	۰/۶۵	۱۳۸۷/۰۶	۱۸/۸۶
بنا کاروفیلین	۹/۵۴	۱۴۲۱/۹۳۴	۱۹/۹۳۷
آلفا هیومولین	۱/۳۳	۱۴۵۶/۲۶۲	۲۰/۹۸۴
دلتا کادینین	۰/۲	۱۵۲۴/۶۵۶	۲۳/۰۷
اوزنول استات	۰/۰۷	۱۵۸۷/۰۱۹	۲۴/۸۵۲
کاروفیلین اکسید	۰/۲۸	۱۵۸۷/۰۱۹	۲۴/۸۵۲

شدن کریپت‌ها در حضور مواد سمی می‌تواند حاصل شود (Viveros et al., 2011). نشان داده شده است که ترکیبات اکسیدان و همچنین استرس‌های تغذیه‌ای می‌توانند منجر به اثر منفی بر سلامت دستگاه گوارش و ارتفاع پرزهای روده گردند. در این بین فلزات سنگین با ایجاد رادیکال‌های آزاد سبب ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی می‌شوند (Burkholder et al., 2008; Kaminski et al., 2007).

در تحقیق حاضر، گروه دریافت کننده ۴۰ ppm کادمیوم در جیره غذایی روزانه، به‌طور معنی‌داری

بحث و نتیجه‌گیری

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مخاط روده پرندگان در محافظت از دیواره روده در برابر فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن با منشأ غذایی، متابولیسم مخاط و پاسخ‌های التهابی به میکروب‌ها بسیار با اهمیت می‌باشد (McLean et al., 2005). وضعیت مخاط و ساختار میکروسکوپی آن شاخص خوبی از پاسخ روده به مواد فعال در خوراک می‌باشد و تغییرات مورفولوژیک روده مانند ایجاد پرزهای کوتاه‌تر و عمیق

سال ۲۰۱۴ طی مطالعه خود گزارش کردند که استفاده از 300 mg/kg روغن فرار میخک در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به بهبود دریافت غذا، افزایش وزن و بازده رشد می‌شود (Ghazanfari *et al.*, 2014). ارتاس و همکاران نیز در سال ۲۰۰۵ با استفاده از ترکیب سه روغن فرار میخک، پونه کوهی و رازیانه با غلظت 200 ppm در جیره جوجه‌های گوشتی، افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی را گزارش کردند (Ertas *et al.*, 2005).

از طرف دیگر نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر بیانگر اثرات مخرب کادمیوم بر ریخت‌شناسی روده به صورت کاهش معنی‌دار در ارتفاع و سطح جذب پرزهای قسمت‌های مختلف روده است ($p < 0/05$)، که این یافته‌ها در مشابهنه با نتایج مطالعه ویرا و همکاران در سال ۲۰۱۰ می‌باشد که طی تحقیق خود دریافتند کادمیوم باعث نکروز رأس پرزهای روده، افزایش فاصله بین آنتروسیت‌ها و کنده‌شدن برخی از آن‌ها در قسمت دوازدهه روده بلدرچین ژاپنی شده اما تأثیری بر ساختار سلول‌های جامی شکل نداشته است (Viera *et al.*, 2010). همچنین مطالعه کامینسکی و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان داد که تجمع کادمیوم در آنتروسیت‌ها باعث پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود که نتیجه آن آسیب به مخاط روده در اثر آپوپتوز سلول‌ها است (Kaminski *et al.*, 2007). کرسپو و همکاران نیز در سال ۲۰۰۶ گزارش کرده‌اند که استفاده از کادمیوم در جیره ماهی قزل‌آلا باعث اختلال در مورفولوژی پرزهای روده میانی و خلفی و اختلال در جذب یون‌ها می‌گردد (Crespo *et al.*, 1986). همچنین گزارش شده که کادمیوم می‌تواند به اندامک‌های سلولی از جمله میتوکندری و شبکه

($p < 0/05$) وزن بدن کمتری نسبت به گروه کنترل داشت که نشان دهنده اثر منفی کادمیوم بر وزن بدن می‌باشد. همچنین گروه کنترل نسبت به گروه دریافت‌کننده فقط کادمیوم (گروه کنترل کادمیوم) ضریب تبدیل غذایی بهتری داشت، هر چند اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). همچنین گروه‌های دریافت‌کننده مقادیر ۱۰۰ و 450 میلی گرم از روغن فرار گیاه میخک و گروه دریافت‌کننده 500 ppm ویتامین C در سن ۲۱ روزگی به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) وزن بدنی بالاتری از گروه کنترل داشتند که نشان‌دهنده اثر مثبت این ترکیبات بر وزن بدن پرندگان مورد آزمایش می‌باشد. علاوه بر این گروه‌های دریافت‌کننده میخک و ویتامین C نسبت به گروه کنترل ضریب تبدیل غذایی بهتری داشتند هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). گروه‌های مواجهه‌شده با کادمیوم که روغن فرار میخک را به مقدار 450 میلی گرم و یا ویتامین C را به مقدار 500 ppm در جیره روزانه دریافت کرده بودند، نسبت به گروه دریافت‌کننده فقط کادمیوم (گروه کنترل کادمیوم)، وزن بدنی بالاتری داشتند هر چند این اختلاف هم از نظر آماری معنی‌دار نبود. اما گروه دریافت‌کننده میخک به مقدار 450 میلی گرم نسبت به گروه کنترل کادمیوم به طور معنی‌داری ضریب تبدیل غذایی بهتری داشت ($p < 0/05$). در پایان دوره پرورش بیشترین وزن بدنی و بهترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده مقادیر 500 ppm ویتامین C و 450 و 100 میلی گرم روغن فرار میخک و کمترین وزن بدنی و ضعیف‌ترین ضریب تبدیل خوراک هم مربوط به گروه دریافت‌کننده فقط کادمیوم (گروه کنترل کادمیوم) بود. غضنفری و همکاران در

کادمیوم به تنهایی، کمتر تحت اثرات منفی این فلز بر پرزهای روده قرار گرفته‌اند و به طور معنی‌داری اندازه و مساحت جذب بیشتری داشتند ($p < 0/05$). این اثرات مثبت روغن فرار میخک بر مورفولوژی پرزهای روده و به دنبال آن بر پارامترهای رشد بلدرچین ژاپنی را می‌توان به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی موجود در روغن فرار میخک مانند فلاونوئیدها و مونوتروپن‌ها نسبت داد، چرا که ترکیبات فنولی روغن‌های فرار عامل مؤثری در به تأخیر انداختن روند مرگ برنامه‌ریزی شده سلول (apoptosis) و نکروز ناشی از استرس اکسیداتیو در بافت‌ها می‌باشند (Bakkali *et al.*, 2008). همچنین این ترکیبات می‌توانند با افزایش کارایی آنزیم‌های دخیل در سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن همانند گلوکوتاتیون ردوکتاز، برای سلامتی مصرف‌کننده مناسب باشند (Bahrami *et al.*, 2011). همچنین ویژگی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی به دلیل قابلیت احیاء‌کنندگی آن‌ها می‌باشد که اجازه می‌دهد به‌عنوان عامل احیاء‌کنندگی دنا توره‌های هیدروژن و کلات‌کننده‌های آهن عمل نمایند (Miller *et al.*, 2000). گزارش شده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، سلول‌های اپیتلیال روده را در مقابل آپوپتوز ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت کرده و در نتیجه باعث افزایش رشد سلول‌های بافت اپیتلیال روده می‌شوند (Miller *et al.*, 2001). دورمان و همکاران در سال ۲۰۰۰ طی تحقیقی در شرایط آزمایشگاهی، با اضافه کردن اسانس گل میخک به زرده تخم مرغ و اندازه‌گیری TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) در زمان‌های مختلف نشان دادند که گل میخک دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی خوبی است (Dorman *et al.*, 2000). همچنین ارزیابی

آندوپلاسمی آسیب برساند (Viera *et al.*, 2010). ماتوویچ و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که مصرف خوراکی کلرید کادمیوم در جیره موش‌های صحرائی باعث افزایش معنی‌داری در مقادیر رادیکال سوپر اکسید (O_2^-) و سطوح مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde) اندازه‌گیری شده در کبد شده و نیز به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را کاهش می‌دهد (Matovic *et al.*, 2012). عبدالجلیل و شوهاییم در سال ۲۰۱۳ گزارش دادند که اضافه کردن کادمیوم با مقادیر ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ ppm به جیره ماکیان، بر وزن کلی بدن و وزن‌گیری ارگان‌ها تاثیر منفی دارد (Abduljaleel and Shuhaimi, 2013). همچنین سانت‌آنا و همکاران در سال ۲۰۰۵ دریافتند که تماس با کادمیوم کلراید به مدت ۲۸ روز به صورت معنی‌داری باعث کاهش وزن بدن در بلدرچین ژاپنی می‌گردد (Sant'Ana *et al.*, 2005). به‌نظر می‌رسد که بخشی از اثرات منفی کادمیوم بر عملکرد رشد را می‌توان به تأثیر منفی این فلز بر جذب عناصر معدنی ضروری برای رشد پرنده نسبت داد، به‌طوری‌که ویرا و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که کادمیوم با جذب روی، آهن و مس تداخل نموده و باعث بروز کمبود این فلزات می‌شود (Viera *et al.*, 2010).

اما یافته‌های به دست آمده از مطالعه حاضر، به‌طور کلی نشان‌دهنده اثرات مثبت معنی‌دار روغن فرار میخک بر اندازه و سطح جذب پرزهای روده در قسمت‌های دئودنوم، ژژونوم و ایلئوم نسبت به گروه کنترل می‌باشد ($p < 0/05$). همچنین گروه‌های مواجهه‌شده با کادمیوم که عصاره میخک را در جیره دریافت کرده‌اند، نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده

گرمایی گزارش کرد که استفاده از ویتامین C در جیره باعث افزایش دریافت مواد غذایی، وزن و نیز بهبود ضریب تبدیل می‌گردد (Motasem, 2012). ساهین و همکاران در سال ۲۰۰۳ نیز دریافتند که استفاده از ویتامین C در جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند دریافت مواد غذایی، میزان افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی را بهبود بخشد (Sahin et al., 2003). از طرف دیگر در تحقیق حاضر، بلدرچین‌های گروه دریافت‌کننده ویتامین C به طور معنی‌داری ارتفاع، عرض و مساحت پرز بیشتری نسبت به گروه کنترل ($p < 0.05$) و از طرفی هم پرندگان گروه دریافت‌کننده ویتامین C همراه با کادمیوم به طور معنی‌داری مساحت پرز بیشتری نسبت به گروه دریافت‌کننده فقط کادمیوم (گروه کنترل کادمیوم) داشتند ($p < 0.05$). این نتایج که با بهبود پارامترهای رشد در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین C مرتبط است، در توافق با نتایج به دست آمده توسط میلر و همکاران در سال ۲۰۰۱ می‌باشد که نشان دادند کاربرد آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین C در جیره غذایی، از سلول‌های اپیتلیال روده در برابر عوامل اکسیدان ناشی از استرس محافظت کرده و منجر به افزایش رشد سلول‌های اپیتلیال می‌شود (Miller et al., 2001). در تحقیق زمانی مقدم و همکاران در سال ۲۰۰۹ نیز افزایش معنی‌دار طول، عرض و سطح پرزهای روده کوچک (دئودنوم و ژژونوم) جوجه‌های گوشتی مبتلا به هیپرتانسیون ریوی که با سطوح مختلف ویتامین C به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان تغذیه شدند، در مقایسه با جیره شاهد مشاهده شد (Zamani Moghaddam et al., 2009). اردوگان و همکاران نیز در سال ۲۰۰۵ طی مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که استفاده از ویتامین C در جیره

اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس گل میخک در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است که توانایی این اسانس در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد همچون DPPH (α, α -2,2-ABTS) و (diphenyl- β -picryl-hydrazyl azino-bis; 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) قابل مقایسه و حتی در برخی موارد بیش از ترکیبات آنتی‌اکسیدان استاندارد همچون آلفا-توکوفرول (α -tocopherol)، ترلوکس (trolox)، BHT (butylated hydroxyanisole) و BHA (butylated hydroxytoluene) بوده است (Jirovetz et al., 2006; et al., 2012). عبدالوهاب و همکاران در سال ۲۰۰۵ در تحقیق خود دریافتند که روغن میخک می‌تواند اثرات آنتی‌اکسیدانی مناسبی به دنبال مصرف آفلاتوکسین در موش‌های صحرایی داشته باشد (Abdel-Wahhab and Aly, 2005). مختار در سال ۲۰۱۱ طی بررسی اسانس میخک در جیره جوجه‌های گوشتی، بهبود در مصرف خوراک و عملکرد را در جوجه‌های گوشتی مشاهده کرد، که این بهبود را مربوط به اثرات مثبت اسانس میخک در دستگاه گوارش دانست (Mukhtar, 2011).

همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده اثرات مثبت ویتامین C بر شاخص‌های رشد، اندازه و سطح جذب پرزهای روده در بلدرچین ژاپنی می‌باشد (جدول ۴، ۵ و ۶). به طوری که یافته‌های این مطالعه نشان داد، افزودن ویتامین C هم به میزان ۵۰۰ ppm در جیره غذایی روزانه می‌تواند اثرات منفی کادمیوم بر پرزهای روده را کاهش داده و سبب بهبود وزن نهایی در بلدرچین ژاپنی شود. در این ارتباط موتاسم در سال ۲۰۱۲ با بررسی اثر ویتامین C بر عملکرد و ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط استرس

در این مطالعه در مورد وضعیت ایمنی گروه‌های تحت آزمایش، هیچ‌گونه اختلاف آماری مشاهده نگردید. عدم تاثیر مثبت ترکیبات گیاهی دیگر بر تیترا آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل توسط برخی محققین دیگر نیز گزارش شده است که می‌تواند با مطالعه حاضر مطابقت داشته باشد. بهادران و همکاران در سال ۲۰۱۴ در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که استفاده از پودر سیر در جیره جوجه‌های گوشتی هیچ تأثیری بر تیترا آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل ندارد (Bahadoran *et al.*, 2014). صفدر و همکاران در سال ۲۰۱۶، با استفاده از زنجبیل، سیر، آلوئه‌ورا و زردچوبه در جیره جوجه‌های گوشتی، تفاوت معنی‌داری را در تیترا آنتی‌بادی ضد ویروس نیوکاسل بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده نکردند (Safdar *et al.*, 2016).

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد و پرسنل محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد که در این پژوهش همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

جوجه‌های گوشتی می‌تواند اثرات تخریب ناشی از استرس اکسیداتیو به دنبال مصرف کادمیوم را کاهش دهد (Erdogan *et al.*, 2005).

از طرف دیگر اثرات مثبت روغن میخک بر اندازه و سطح جذب پرزهای روده که در تحقیق حاضر مشاهده گردید را می‌توان به بهبود فلور طبیعی روده در گروه‌های دریافت‌کننده روغن میخک نسبت داد. در این خصوص محمدی و همکاران گزارش نموده‌اند که اسانس میخک دارای ترکیبات ضد میکروبی مانند مونوترپن‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد که ضمن بهبود عملکرد رشد و فلور موجود در دستگاه گوارش، همانند آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد سبب سلامتی دستگاه گوارش پرنده و همچنین تقویت سیستم ایمنی می‌شود (Mohammadi *et al.*, 2013). عقیده بر این است که فلور میکروبی طبیعی دستگاه گوارش می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر سلامتی و بهره‌وری طیور گوشتی داشته باشد. بدین ترتیب هرگونه اختلال در فلور مذکور می‌تواند به علت استقرار عوامل بیماری‌زا یا باکتری‌های کاهش‌دهنده رشد، با اثرات مضر همراه گردد. در واقع میکروفلور روده نه تنها باعث افزایش توده روده می‌گردد، بلکه در حضور میکروب‌های آن، سرعت جایگزینی سلول‌های بافت روده تا ۴۰ درصد افزایش می‌یابد (Visek, 1978).

منابع

- Abdel-Wahhab, M.A. and Aly, S.E. (2005). Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *Journal of Applied Toxicology*, 25(3): 218-223.
- Abduljaleel, S.A. and Shuhaimi-Othman, M. (2013). Toxicity of cadmium and lead in *Gallus gallus domesticus* assessment of body weight and metal content in tissues after metal dietary supplements. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16(22): 1551-1556.
- Agostini, P.S. and Sola-Oriol, D. (2012). Role of infeed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology, and morphology in broiler chicken. *Livestock Science*, 147(1-3): 113-118.
- Al-Masad, M. (2012). Effect of vitamin C and zinc on broilers performance of immunocompetence under heat stress. *Asian Journal of Animal Sciences*, 6(2): 76-84.
- Anderson, W.G., McKinley, R.S. and Colavecchia, M. (1997). The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effect on swimming performance. *North American Journal of Fisheries Management*, 17(2): 301-307.
- Bahadoran, S., Hassanpour, H. and Mirpurian, S. (2014). Effect of garlic on growth performance, intestinal villus morphology and serum antibody titers against Newcastle and Avian Influenza vaccine in broiler chickens. *Iranian Journal of Veterinary Clinical Science*, 8(1): 27-36. [In Persian]
- Bahrami, M., shariatmadari, F. and Karimi Torshizi, M.A. (2011). Effect of dietary extract of Thyme and Peppermint and vitamin E supplementation on immune responses of laying hen in heat stress and content of peroxidation egg during storage. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27(2): 326-337. [In Persian]
- Bakkali, F., Averbeck, S. and Averbeck, D. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 446-475.
- Burkholder, K.M., Thompson, K.L., Einstein, M.E., Applegate, T.J. and Patterson, J.A. (2008). Influence of stressors on normal intestinal microbiota, intestinal morphology, and susceptibility to salmonella enteritidis colonization in broilers. *Poultry Science*, 87(9): 1734-1741.
- Cakir, S., Midilli, M., Erol, H., Simsek, N., Cinar, M., Altintas, A., *et al.* (2008). Use of combined probiotic-prebiotic, organic acid and avilamycin in diets of Japanese quails. *International Journal of Animal Science*, 11(1): 565-569.
- Crespo, S., Nonnotte, G., Colin, D.A., Leray, C., Nonnotte, L. and Aubree, A. (1986). Morphological and functional alterations induced in trout intestine by dietary cadmium and lead. *Journal of Fish Biology*, 28(1): 69-80.
- Dale, N. (1994). National research council nutrient requirements of poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 3(1): 101-101.
- Davies, N.T. (1980). Studies on the absorption of zinc by rat intestine. *British Journal of Nutrition*, 43(1): 189-203.
- Dorman, H.J., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G. and Deans, S.G. (2000). In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 15(1): 12-16.
- Erdogan, Z., Erdogan, S., Celik, S. and Unlu, A. (2005). Effects of ascorbic acid on cadmium-induced oxidative stress and performance of broilers. *Biological Trace Element Research*, 104(1): 19-31.
- Ertas, O.N., Guler, T., Çiftçi, M., Dalkılıç, B. and Simsek, U.G. (2005). The effect of an essential oil mix derived from oregano, clove and anise on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*, 4(11): 879-884.
- Fazel, M., Omidbeigi, M., Barzegariforouei, M. and Naghdi Badi, H. (2010). Effect of heat on anti-radical activity of essential oil of Thyme, Squids and Clove by method 2, 2 diphenyl-1-picrylhydrazine (DPPH). *Medicinal Plants*, 6(22): 43-54. [In Persian]

- Gao, H.M., Zhou, H. and Hong, J.S. (2014). Oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegeneration. In: Neuroinflammation and neurodegeneration, New York: Springer, pp: 81-104.
- Gülçin, İ., Elmastaş, M. and Aboul-Enein, H.Y. (2012). Antioxidant activity of clove oil—A powerful antioxidant source. *Arabian Journal of Chemistry*, 5(4): 489-499.
- Ghazanfari, S., Mohammadi, Z. and Adibmoradi, M. (2014). Effects of clove essential oil on growth performance, carcass characteristics and immune system in broiler chicken. *Veterinary Journal*, 70(2): 195-202. [In Persian]
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoilova, I., Stoyanova, A., Krastanov, A. and Schmidt, E. (2006). Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17): 6303-6307.
- Kamiński, P., Kurhalyuk, N. and Szady-Grad, M. (2007). Heavy metal-induced oxidative stress and changes in physiological process of free radicals in the blood of white stork (*Ciconia ciconia*) chicks in Polluted areas. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16(4): 555-562.
- Kohen, R. and Nyska A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6): 620-650.
- Lee, K.W., Everts, H., Kappert, H.J., Frehner, M., Losa, R. and Beynen, A.C. (2003). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British Poultry Science*, 44(3): 450-457.
- Matović, V., Buha, A., Bulat, Z., Đukić-Ćosić, D., Miljković, M., Ivanišević, J., *et al.* (2012). Route-dependent effects of cadmium/cadmium and magnesium acute treatment on parameters of oxidative stress in rat liver. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3): 552-557.
- McLean, J.A., Karadas, F., Surai, P.F., McDevitt, R.M. and Speake, B.K. (2005). Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 141(3): 366-372.
- Miller, H. E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A. and Kanter, M. (2000). Antioxidant content of whole grain breakfastcereals, fruits and vegetables. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(3): 1-8.
- Miller, M.J., Angeles, F.M., Reuter, B.K., Bobrowski, P. and Sandoval, M. (2001). Dietary antioxidants protect gut epithelial cells from oxidant-induced apoptosis. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 1(1): 1-10.
- Mohammadi, Z., Ghazanfari, Sh. and Adibmoradi, M. (2013). Effects of clove essential oil on growth performance, carcass characteristics and immune system in broiler chicken. *Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 27(1): 67-76. [In Persian]
- Mukhtar, A.M. (2011). The effect of dietary clove oil on broiler performance. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5(7): 49-51.
- Nwokocha, C.R., Owu, D.U., Nwokocha, M.I., Ufearo, C.S. and Iwuala, M.O. (2012). Comparative study on the efficacy of *Allium sativum* (garlic) in reducing some heavy metal accumulation in liver of wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 50(2): 222-226.
- Pari, L. and Murugavel, P. (2005). Role of diallyl tetrasulfide in ameliorating the cadmium induced biochemical changes in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20(3): 493-500.
- Sadr Daneshpour, A., Shariatmadari, F. and Karimi, M.A. (2009). The effect of essential oil, prebiotic, probiotic and antibiotic on performance and immune response of broilers chickens. *Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 87(2): 10-14. [In Persian]
- Safdar, K., Muhammad, K. and Naz, R. (2016). Effect of Herbal Extracts on Serum Minerals, Lipid Profile and Anti-NDV-HI Antibody Levels of Vaccinated Broiler Chicks. *Pakistan Journal of Zoology*. 48(6): 1715-1719.

- Sahin, K., Sahin, N. and Kucuk, O. (2003). Effects of chromium, and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high ambient temperature (32°C). *Nutrition Research*, 23(2): 225-238.
- Sant'Ana, M., Moraes, R. and Bernardi, M. (2005). Toxicity of cadmium in Japanese quail: Evaluation of body weight, hepatic and renal function, and cellular immune response. *Environmental Research*, 99(2): 273-277.
- Teshfam, M., Nodeh, H. and Hassanzadeh, M. (2005). Alterations in the intestinal mucosal structure following oral administration of tri iodo thyronine (T3) in broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 27(2): 105-108.
- Van Boven, M., Bouma, A., Fabri, T.H., Katsma, E., Hartog, L. and Koch, G. (2008). Herd immunity to Newcastle disease virus in poultry by vaccination. *Journal of Avian Pathology*, 37(1): 1-5.
- Viera, C., Viera, A. and Katarina, H. (2010). Morphological changes in duodenal epithelium of Japanese quail after chronic cadmium exposure. *Polish Journal of Environmental Study*, 19(2): 275-282.
- Visek, W.J. (1978). The mode of Growth Promotion by Antibiotics. *Journal of Animal Science*, 46(5): 1447-1469.
- Viveros, A., Chamorro, S., Pizarro, M., Arija, I., Centeno, C. and Brenes, A. (2011). Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. *Poultry Science*, 90(3): 566-578.
- Wu, G. (1998). Intestinal mucosal amino acid catabolism. *The Journal of Nutrition*, 128(8): 1249-1252.
- Yamauchi, K. (2002). Review on chicken intestinal villus histological alteration related with intestinal function. *Journal of Poultry Science*, 39(4): 229-242.
- Zamani Moghaddam, A.K., Hassanpour, H. and Mokhtari A. (2009). Oral supplementation with vitamin C improves intestinal mucosa morphology in the pulmonary hypertensive broiler chicken. *British Poultry Science*, 50(2): 175-180.

Effect of Clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil and vitamin C on growth performance, intestinal villi morphology and immune response to Newcastle live vaccine following in water administration of Cadmium in Japanese quail

Bahadoran, Sh.^{1*}, Babaahmadi Milani, M.², Hassanpour, H.³, Fallah Mehrjerdi, A.A.⁴

1- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

2- DVSc of Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

3- Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

4- Associate Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

*Corresponding author's email: bahadoran4@yahoo.com

(Received: 2017/11/5 Accepted: 2019/5/13)

Abstract

Environmental pollution and occupational exposure to toxic metals, such as mercury, cadmium and lead, causes chronic and malignant diseases with significant complications in the majority of body tissues. Increased production of free radicals and reduced antioxidant activity is considered as the main factor for the incidence of lesions resulting from cadmium poisoning. The aim of this study was to evaluate the effect of clove essential oil and vitamin C on growth performance, intestinal villi morphology and immune response to Newcastle live vaccine of Japanese quails challenged with cadmium. A total of 240 one-day old quails were divided into 8 groups with 30 quails in each group (3 replicates with 10 birds). Groups 1 and 8 received basal diet; groups 2 and 7 basal diet + 500 ppm vitamin C in the diet; groups 3 and 5 received basal diet + 150 mg/kg of the diet clove essential oil; and groups 4 and 6 received basal diet + 450 mg/kg of the diet clove essential oil. Cadmium chloride (40 ppm) was added to the drinking water of groups 1, 2, 3 and 4 during the experimental period (days 7-35). On day 21, 9 blood samples were collected from each group and segments of duodenum, jejunum and ileum of 9 quails from each group were isolated and sampled on day 35. The results indicated that groups 6 and 7 had significantly ($p<0.05$) greater body weight, villi dimensions and absorptive surface than the control group. Also groups 2, 4 and 8 had a significant increase of the intestinal villi dimensions and absorptive surface in different segments of the intestine compared to group 1 ($p<0.05$). In conclusion, the results of the present study showed that adding vitamin C and clove essential oil to the diet of Japanese quails had positive effects on growth parameters and intestinal villi absorptive surface and also alleviated the negative effects of cadmium on body weight and intestinal villi absorptive surface in these birds.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Clove, Vitamin C, Cadmium, Intestinal morphology, Quail.