



اثر روغن فرار میخک (*Syzygium aromaticum*) و اسیدآسکوربیک بر بازده رشد و ریخت‌شناسی پرزهای روده در بلدرچین ژاپنی به دنبال مصرف فلز سنگین سرب

میلاذ باباحمدی میلانی^۱، شهاب بهادران^۱، زهرا خسروی^۲، عزیزالله فلاح مهرجردی^۳، الهه عسکری^۳

^۱ گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
^۲ گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
^۳ گروه تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران

doi 10.22059/jvr.2019.267980.2864

تاریخ دریافت: ۲ آذرماه ۱۳۹۸، تاریخ پذیرش: ۵ بهمن ماه ۱۳۹۸

چکیده

زمینه مطالعه: بسیاری از اثرات منفی فلزات سنگین می‌تواند با رژیم‌های غذایی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ویتامین‌ها و گیاهان دارویی کاهش یابد.

هدف: ارزیابی اثر روغن فرار میخک و اسیدآسکوربیک بر بازده رشد، ریخت‌شناسی پرزهای روده در بلدرچین ژاپنی به دنبال مصرف سرب.

روش کار: تعداد ۱۲۰ قطعه جوجه بلدرچین یک‌روزه به ۴ گروه ۱۰ قطعه‌ای با ۳ تکرار تقسیم‌بندی گردید. گروه ۱ دریافت‌کننده جیره پایه، گروه‌های ۲ و ۳ به ترتیب دریافت‌کننده جیره پایه + ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن فرار میخک، گروه ۴ دریافت‌کننده جیره پایه + ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسیدآسکوربیک در جیره. به آب آشامیدنی هر چهار گروه در کل دوره آزمایش (۳۵-۷ روزگی) ۱۰۰ پی‌پی‌ام استات سرب اضافه گردید. در سن ۲۱ روزگی از هر گروه، ۹ نمونه خون تهیه گردید. در سن ۳۵ روزگی، از سه قسمت روده (دئودنوم، ژژونوم و ایلئوم) جهت بررسی میکروسکوپی پرزهای روده نمونه‌گیری شد.

نتایج: گروه‌های میخک ۴۵۰ و اسیدآسکوربیک به طور معنی‌داری وزن بدنی بالاتری نسبت به گروه کنترل داشتند ($P < 0.05$). همچنین همه تیمارهای آزمایشی به طور معنی‌داری ضریب تبدیل غذایی بهتری نسبت به گروه کنترل داشتند ($P < 0.05$). گروه‌های میخک ۴۵۰ و اسیدآسکوربیک به طور معنی‌داری اندازه و سطح جذب بیشتری در پرزهای قسمت‌های مختلف روده نسبت به گروه کنترل داشتند ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن اسیدآسکوربیک و روغن فرار میخک به جیره غذایی بلدرچین ژاپنی، سبب کاهش اثرات منفی سرب بر وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی و سطح جذب پرزهای روده می‌شود.

کلمات کلیدی: میخک، اسیدآسکوربیک، سرب، ریخت‌شناسی روده، بلدرچین ژاپنی

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: میلاذ باباحمدی میلانی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
 پست الکترونیکی: miladmilani_b@yahoo.com

مقدمه

خستگی نموده و مانع از تخریب سلول‌های بدن می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها با تأخیر یا توقف اکسیداسیون، پیش‌ماده‌های قابل اکسید شدن را محافظت می‌کنند (۲۰). عوارضی که متعاقب مسمومیت با فلزات سمی ایجاد می‌شود در پی ایجاد رادیکال‌های اکسیژن که عامل ایجاد استرس اکسیداتیو (Oxidative stress) و تغییر در خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیکی بافت‌های بدن است، رخ

سرب یکی از فلزات سنگین مهم و از آلاینده‌های معمول محیط است. از جمله راه‌های اصلی قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین، هوای آلوده، آب، خاک و مواد غذایی است. سرب سبب اثرات نامطلوب زیادی نظیر ناهنجاری‌های عصبی، رفتاری، ایمنی، کلیوی، کبدی، نقص‌های هماتولوژیک و تخلیه آنتی‌اکسیدان‌های اصلی سلول و به طور عمده آنتی‌اکسیدان‌های دارای تیول و آنزیم‌ها می‌شود (۱۱). آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که عملکرد رادیکال‌های آزاد را

می‌دهد (۳۱). استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل در واکنش اکسید شدن و احیا (redox) و مرگ سلولی متعاقب آن است. (۱۳).

مسمومیت با سرب یکی از معمولی‌ترین مسمومیت‌های ایجاد شده توسط فلزات سنگین است. این مسمومیت به عنوان یکی از خطرناک‌ترین و شایع‌ترین مسمومیت‌ها مطرح است. افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و مواد واکنش‌پذیر با تیوباربیستوریک اسید و مهار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل گلوکاتایون از عوارض سرب در بدن می‌باشد که نتیجه این اعمال، ایجاد وقایع پاتولوژیک در ارگان‌های مختلف بدن است. به همین علت تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی در جلوگیری از مسمومیت با سرب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این هدف می‌تواند با افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدان خارجی به عنوان چاره‌ای برای به دام‌اندازی یون‌های فلزی صورت گیرد (۱۲).

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 به 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 (۲۱).

پرزهای روده بیرون زدگی‌های بافت همبند پارین به داخل لومن روده هستند که سبب افزایش سطح هضم و جذب می‌شوند. با توجه به مطالعات انجام شده توسط Uni و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Applegate و همکاران در سال ۱۹۹۹، تکامل مخاط روده شامل افزایش ارتفاع و تراکم پرزهاست که این افزایش بستگی به افزایش تعداد سلول‌های پوششی دارد (۳،۳۹). 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 (۴۱). بنابراین ترکیباتی که بر مخاط روده تأثیر مثبت می‌گذارند، اثر افزایش‌دهنده‌ای بر رشد دارند و موجب صرفه جویی در مصرف غذا می‌شوند (۵).

بسیاری از اثرات منفی استرس اکسیداتیو می‌تواند با رژیم‌های غذایی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ویتامین‌ها و سایر ترکیبات غیرمغذی آنتی‌اکسیدان از جمله فلاونوئیدها، کاهش یابد (۳۵). در سال‌های اخیر نقش درمانی، حفاظتی و محرک رشد متابولیت‌های ثانویه گیاهی در پیشگیری از آثار زیانبار تخریب اکسیداتیو مورد توجه قرار گرفته است.

میخک جوانه‌های خشک شده‌ی درخت *Eugenia Caryophyllata* و برخی اوقات *Syzygium aromaticum* است که به طور عمده به عنوان ادویه در جهان کاربرد دارد. از نظر ترکیبات شیمیایی، میخک دارای مقدار قابل ملاحظه‌ای (۱۵ تا ۲۰ درصد) روغن فرار است. تعداد کمی ترکیبات غیر فرار از میخک جدا شده است که شامل تانن‌ها (tannins)، استرول‌ها (sterols)، تری‌ترین‌ها (triterpenes) و فلاونوئیدها (Flavonoids) است (۲۵). گالیک‌اسید و اوژنول (Gallic acid and Eugenol) به عنوان ترکیبات اصلی فعال در میخک (*Eugenia Caryophyllata*) شناسایی شده‌اند (۱۹). اوژنول دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند که با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مثل Butylate hydroxyl (BHA) و Pyrogallol قابل مقایسه است همچنین این ترکیب دارای اثر مهارکنندگی روی پراکسیداسیون لیستین (Lesithin) القاء شده توسط سیستم $Fe^{2+}-H_2O_2$ است (۲۵). میخک دارای خواص و استفاده‌های گوناگونی در پزشکی، دامپزشکی، صنایع غذایی و داروسازی است. گیاه میخک دارای فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد دیابتی، ضد التهابی، ضد ترومبوز، تب بری، ضد استرسی، آرامش بخشی، حشره‌کشی، محرک جنسی و حفاظت از کبد است. همچنین به عنوان آنتی‌اکسیدان قوی مطرح است (۲۵). Sesquiterpenes‌های موجود در میخک دارای خواص ضد سرطان‌زایی هستند (۲۵). همچنین استفاده از اسانس میخک با توجه به تأثیر مثبت آن در سیستم آنتی‌اکسیدانی، قابلیت هضم و فلور میکروبی باعث بهبود مکانیسم‌های عملکردی و ایمنی می‌شود (۲).

اسیدآسکوربیک یا ویتامین C مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان محلول در آب است که غشاهای بیولوژیک را در برابر پراکسیداسیون (در فاز آبی پیش از شروع پراکسیداسیون با حذف رادیکال‌های پروکسیدیل) حفاظت می‌کند. بنابراین به عنوان یک ماده مغذی که دارای اثرات مثبت بر کاهش اکسیداسیون و همچنین سلامت دستگاه گوارش است، مطرح می‌باشد (۴،۴۳). Seven و همکاران در سال ۲۰۱۲ نیز دریافتند که استفاده از ویتامین C در جیره جوجه گوشتی می‌تواند دریافت مواد غذایی، وزن و ضریب تبدیل غذایی را بهبود بخشد (۳۷).

با توجه به خواص ذکر شده از گیاه میخک و اسید آسکوربیک، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر روغن فرار میخک و اسید آسکوربیک بر اندازه و سطح جذب پرزهای روده به دنبال مصرف فلز سمی و اکسیدان سرب در بلدرچین ژاپنی می‌باشد.

مواد و روش کار

فسفات بافر سالین (PBS, pH=7) شستشو داده شد. سپس در محلول کلارک به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفته و پس از آن در اتیل الکل ۵۰ درصد جهت بررسی میکروسکوپی ریخت‌شناسی روده بر اساس روش Teshfam و همکاران در سال ۲۰۰۵ به آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد ارسال شد (۳۸).

جدول ۱. نتایج شناسایی ترکیبات فرار (GC/MS).

ترکیب	میزان (درصد)	RI (شاخص بازداری)	زمان بازداری ترکیب
Eugenol	۷۷/۶۳	۱۳۶۵/۳۳۵	۱۸/۱۷۵
Iso-eugenol	۰/۶۵	۱۳۸۷/۰۶	۱۸/۸۶
β -Caryophyllene	۹/۵۴	۱۴۲۱/۹۳۴	۱۹/۹۳۷
α -Humulene	۱/۳۳	۱۴۵۶/۲۶۲	۲۰/۹۸۴
delta-Cadinene	۰/۲	۱۵۲۴/۶۵۶	۲۳/۰۷
Eugenol acetate	۰/۰۷	۱۵۸۷/۰۱۹	۲۴/۸۵۲
Caryophyllene oxide	۰/۲۸	۱۵۸۷/۰۱۹	۲۴/۸۵۲

جدول ۲. درصد مواد اولیه و ترکیب شیمیایی جیره (۳۵-۱ روزگی).

مواد اولیه (کیلوگرم بر تن)	۱ تا ۳۵ روزگی
ذرت	۴۸۴/۳
کنجاله سویا (۴۳ درصد)	۴۳۴/۱
روغن سویا	۴۶/۵
دی کلسیم فسفات	۱۳/۷
کربنات کلسیم	۱۰
متیونین	۱/۳
مکمل ویتامینه	۲/۵
مکمل معدنی	۲/۵
نمک	۳/۱
ویتامین E	۱/۵
ویتامین D ₃	۰/۵
جمع	۱۰۰۰
ترکیب شیمیایی	-
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۳۰۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۳
کلسیم (درصد)	۰/۸
فسفر قابل استفاده (درصد)	۰/۴
سدیم (درصد)	۰/۱۵
متیونین (درصد)	۰/۵
متیونین + سیستئین (درصد)	۰/۸۷
لیزین (درصد)	۱/۳۸
ترئونین (درصد)	۰/۹۷
آرژنین (درصد)	۱/۶۶
تریپتوفان (درصد)	۰/۳۱

تعداد ۱۲۰ قطعه جوجه بلدرچین یک روزه خریداری و به سالن پرورش طیور دانشگاه شهرکرد منتقل گردید. قبل از ورود جوجه‌ها به سالن، تمام مراحل آماده‌سازی سالن شامل شستشو، ضدعفونی و تنظیم دما و نور انجام شد. جوجه‌ها تا سن ۷ روزگی با جیره پایه تغذیه شدند. در این سن پس از وزن‌کشی، جوجه‌ها در ۴ گروه که هر گروه متشکل از ۱۰ قطعه با ۳ تکرار بود تقسیم بندی شدند، به طوری که میانگین وزن همه پن‌ها مشابه (۱ \pm گرم) بود.

دمای سالن روی ۳۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و این دما هر هفته حدود ۳ درجه سانتی‌گراد کاهش پیدا کرد تا در هفته پنجم به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رسید. تهویه با استفاده از فن 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) (۳۰) و مطابق با جدول ۱ فرموله شد. در سن ۷ روزگی از واکسن نیوکاسل سویه B1 به طریق آشامیدنی در آب استفاده شد. روغن فرار میخک استفاده شده در این تحقیق از شرکت باریج اسانس 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 گردید که در جدول ۱ نمایش داده شده است.

گروه‌های آزمایشی به شرح زیر بود: گروه ۱: دریافت کننده

جیره پایه + ۱۰۰ پی‌پی‌ام استات سرب در آب آشامیدنی در کل دوره آزمایش (از ۷ تا ۳۵ روزگی) (گروه کنترل). گروه ۲: دریافت کننده ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن فرار میخک در جیره + ۱۰۰ پی‌پی‌ام استات سرب در آب آشامیدنی. گروه ۳: دریافت کننده ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن فرار میخک در جیره + ۱۰۰ پی‌پی‌ام استات سرب در آب آشامیدنی. گروه ۴: دریافت کننده ۵۰۰ پی‌پی‌ام اسیدآسکوربیک در جیره + ۱۰۰ پی‌پی‌ام استات سرب در آب آشامیدنی.

طی دوره پرورش همه پن‌ها به صورت هفتگی وزن‌کشی و میزان دان مصرفی هر پن تعیین شد و ضریب تبدیل غذایی هر پن محاسبه گردید. برای بررسی ریخت‌شناسی روده یک‌بار نمونه‌برداری در ۳۵ روزگی از همه گروه‌ها انجام گرفت، به طوری که تعداد ۹ قطعه جوجه از هر گروه 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 نمونه‌گیری و با

نتایج

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 پرورش در جدول ۳ آورده شده است. وزن بدن در سن ۲۸ و ۳۵ روزگی در تیمارهای میخک ۱۵۰، ۴۵۰ و اسیدآسکوربیک نسبت به گروه سرب تنها (کنترل) افزایش معنی‌دار داشت ($P < 0.05$)، همچنین ضریب تبدیل غذایی کل دوره (۷-۳۵ روزگی) در تیمارهای مذکور نسبت به کنترل کاهش معنی‌دار یافت ($P < 0.05$).

ریخت‌شناسی پرزهای روده: نتایج مربوط به ریخت‌شناسی 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 آورده شده است. اندازه و سطح جذب پرزهای روده در قسمت‌های دئودنوم و ژژونوم در گروه‌های میخک ۴۵۰ و اسیدآسکوربیک به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$) و در قسمت ایلئوم هرچند سطح جذب همه تیمارها نسبت به کنترل افزایش یافت اما این اختلاف فقط در گروه اسیدآسکوربیک از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

ریخت‌شناسی پرزهای روده با بررسی اندازه پرزها (ارتفاع، پهنا، سطح) و ضخامت لایه لامینا پروپریا (lamina propria) بررسی گردید. هرکدام از نمونه‌ها برای رنگ گرفتن در محلول PAS قرار داده شده، یک ردیف از پرزها بریده شده و بر روی لام قرار داده شد. سپس این نمونه‌ها به وسیله میکروسکوپ با یک عدسی چشمی مدرج مورد بررسی قرار گرفت.

ارتفاع پرز از سطح بالایی آن تا قسمت بالای لایه لامینا پروپریا محاسبه گردید و برای اندازه‌گیری عرض پرز قسمت میانی پرز اندازه‌گیری شد. ضخامت لایه لامینا پروپریا از فاصله بین پایه پرز تا سطح بالایی لایه عضلانی اندازه‌گیری شد. مساحت پرز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{عرض پرز (mm)} \times (\pi) \times (\text{طول پرز (mm)}) = \text{مساحت پرز (mm}^2\text{)}$$

اندازه‌گیری میزان آنتی‌بادی علیه واکسن نیوکاسل در سرم با استفاده از آزمایش مهار هم‌آگلوتیناسیون ((HI) Haemagglutination Inhibition) روی سرم‌های جداسه صورت گرفت.

کل داده‌های به دست آمده توسط نرم‌افزار SIGMA STAT 3.5 و تست آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) در سطح ($P < 0.05$) مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

جدول ۳. پارامترهای وزن بدن (BW)، دریافت غذا (FI) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) در گروه‌های مختلف (میانگین \pm خطای معیار). در هر ردیف حروف نامتشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

گروه‌های مورد مطالعه	سرب ۱۵۰ (کنترل)	میخک ۱۵۰ + سرب ۱۰۰	میخک ۴۵۰ + سرب ۱۰۰	اسیدآسکوربیک ۵۰۰ + سرب ۱۰۰
وزن بدن (گرم)				
۷ روزگی	۳۲/۸۰۲ \pm ۰/۱۸۶۲	۳۴/۰۸۳ \pm ۰/۱۵۷۸	۳۲/۸۱۷ \pm ۰/۱۶۱۹	۳۳/۸۸۳ \pm ۰/۳۴۴
۱۴ روزگی	۶۲/۸۸۳ \pm ۱/۱۷۱	۶۴/۲۰۰ \pm ۱/۱۷۵۲	۶۲/۸۰۱ \pm ۱/۳۲۹	۶۹/۷۰۷ \pm ۰/۹۶۵
۲۱ روزگی	۱۱۰/۴۰۰ \pm ۱/۳۶۵	۱۱۹/۳۸۹ \pm ۲/۱۷۴	۱۲۳/۵۶۷ \pm ۴/۰۷۳	۱۱۹/۸۲۱ \pm ۱/۱۴۸
۲۸ روزگی	۱۵۰/۵۷۱ \pm ۱/۵۲۸ ^a	۱۶۴/۲۰۳ \pm ۰/۹۰۳ ^b	۱۶۴/۸۳۳ \pm ۳/۶۹۷ ^b	۱۶۵/۰۰۰ \pm ۲/۵۰۲ ^b
۳۵ روزگی	۱۷۹/۰۴۸ \pm ۱/۱۲۳ ^a	۱۸۹/۹۸۹ \pm ۰/۵۸۲ ^{ab}	۱۹۶/۶۹۰ \pm ۲/۵۵۷ ^b	۱۹۲/۷۷۸ \pm ۴/۷۲۴ ^b
دریافت غذا				
۷-۱۴	۸۲/۵۵۰ \pm ۱/۸۲۴	۷۱/۶۶۷ \pm ۳/۷۲۵	۷۱/۴۷۳ \pm ۴/۲۳۷	۷۷/۹۶۷ \pm ۱/۰۷۰
۱۴-۲۱	۱۴۰/۴۰۰ \pm ۱/۳۶۵	۱۴۲/۷۲۲ \pm ۴/۷۱۸	۱۴۹/۹۰۰ \pm ۰/۹۰۱	۱۳۷/۴۹۸ \pm ۱/۱۵۹۶
۲۱-۲۸	۱۶۴/۳۱۰ \pm ۴/۹۱۸	۱۶۳/۶۰۱ \pm ۳/۳۲۷	۱۵۶/۵۴۸ \pm ۴/۷۰۴	۱۶۲/۶۸۵ \pm ۱/۱۹۹۰
۲۸-۳۵	۱۶۷/۳۳۳ \pm ۰/۸۱۹	۱۴۵/۴۷۶ \pm ۲/۴۸۸	۱۵۷/۳۵۷ \pm ۲/۷۹۳	۱۶۲/۵۶۱ \pm ۱/۰۴۰۴
۷-۳۵	۵۵۴/۵۹۳ \pm ۵/۷۹۷	۵۲۳/۴۶۶ \pm ۱/۵۸۷	۵۳۵/۲۷۸ \pm ۴/۸۸۲	۵۴۰/۷۱۱ \pm ۲۲/۲۶۲
ضریب تبدیل غذایی				
۷-۱۴	۲/۷۴۴ \pm ۰/۰۵۱	۲/۴۰۹ \pm ۰/۱۲۶۱	۲/۳۸۰ \pm ۰/۰۸۷	۲/۱۷۷ \pm ۰/۰۳۶
۱۴-۲۱	۲/۹۶۷ \pm ۰/۱۲۶	۲/۵۹۵ \pm ۰/۰۷۵	۲/۴۸۰ \pm ۰/۱۱۸	۲/۸۳۴ \pm ۰/۰۲۵۰
۲۱-۲۸	۴/۰۹۳ \pm ۰/۱۳۸	۳/۶۷۹ \pm ۰/۲۶۵	۴/۰۰۹ \pm ۰/۰۶۲۰	۳/۷۲۵ \pm ۰/۰۴۳۲
۲۸-۳۵	۵/۸۷۹ \pm ۰/۰۸۱	۵/۶۴۹ \pm ۰/۱۸۶	۵/۱۱۷ \pm ۰/۰۷۰۷	۵/۸۷۰ \pm ۰/۱۲۵
۷-۳۵	۳/۷۹۵ \pm ۰/۰۹۱ ^a	۳/۳۵۸ \pm ۰/۰۷۲ ^b	۳/۲۶۷ \pm ۰/۰۳۰ ^b	۳/۴۰۱ \pm ۰/۰۴۴ ^b

جدول ۴. میانگین ارتفاع، عرض، لامینا پروپریا و مساحت پرزهای دئودنوم در جوجه‌های گروه‌های مختلف در ۳۵ روزگی بر حسب (میلی‌متر) (میانگین \pm خطای معیار). در هر ستون حروف نامتشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه است ($P < 0.05$).

گروه	پارامتر	ارتفاع	عرض	لامینا پروپریا	مساحت (میلی‌متر مربع)
سرب (۱۰۰) (کنترل)		0.369 ± 0.019^a	0.097 ± 0.007^a	0.147 ± 0.008^a	0.111 ± 0.009^a
میخک (۱۵۰) + سرب (۱۰۰)		0.461 ± 0.020^{ab}	0.112 ± 0.008^a	0.224 ± 0.016^b	0.166 ± 0.017^{ab}
میخک (۴۵۰) + سرب (۱۰۰)		0.482 ± 0.034^b	0.126 ± 0.010^a	0.224 ± 0.020^b	0.193 ± 0.020^b
اسیدآسکوربیک (۵۰۰) + سرب (۱۰۰)		0.571 ± 0.040^b	0.129 ± 0.010^a	0.277 ± 0.018^b	0.241 ± 0.032^b

جدول ۵. میانگین ارتفاع، عرض، لامینا پروپریا و مساحت پرزهای ژژونوم در جوجه‌های گروه‌های مختلف در ۳۵ روزگی بر حسب (میلی‌متر) (میانگین \pm خطای معیار). در هر ستون حروف نامتشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه است ($P < 0.05$).

گروه	پارامتر	ارتفاع	عرض	لامینا پروپریا	مساحت (میلی‌متر مربع)
سرب (۱۰۰) (کنترل)		0.283 ± 0.015^a	0.067 ± 0.005^a	0.121 ± 0.009^a	0.060 ± 0.006^a
میخک (۱۵۰) + سرب (۱۰۰)		0.331 ± 0.015^{ab}	0.099 ± 0.008^{ab}	0.205 ± 0.015^b	0.105 ± 0.011^{ab}
میخک (۴۵۰) + سرب (۱۰۰)		0.405 ± 0.021^b	0.111 ± 0.008^b	0.187 ± 0.015^{ab}	0.136 ± 0.009^b
اسیدآسکوربیک (۵۰۰) + سرب (۱۰۰)		0.355 ± 0.030^b	0.119 ± 0.006^b	0.196 ± 0.023^{ab}	0.132 ± 0.013^b

جدول ۶. میانگین ارتفاع، عرض، لامینا پروپریا و مساحت پرزهای ایلئوم در جوجه‌های گروه‌های مختلف در ۳۵ روزگی بر حسب (میلی‌متر) (میانگین \pm انحراف معیار). در هر ستون حروف نامتشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های مورد مطالعه است ($P < 0.05$).

گروه	پارامتر	ارتفاع	عرض	لامینا پروپریا	مساحت (میلی‌متر مربع)
سرب (۱۰۰) (کنترل)		0.239 ± 0.013^a	0.067 ± 0.004^a	0.130 ± 0.007^a	0.051 ± 0.005^a
میخک (۱۵۰) + سرب (۱۰۰)		0.286 ± 0.013^a	0.096 ± 0.007^{ab}	0.156 ± 0.010^b	0.088 ± 0.009^{ab}
میخک (۴۵۰) + سرب (۱۰۰)		0.246 ± 0.010^a	0.114 ± 0.007^b	0.132 ± 0.014^{ab}	0.090 ± 0.007^b
اسیدآسکوربیک (۵۰۰) + سرب (۱۰۰)		0.281 ± 0.015^a	0.084 ± 0.008^{ab}	0.161 ± 0.009^b	0.074 ± 0.008^{ab}

بحث

آنتی‌اکسیدانی مخاط روده پرندگان در محافظت از دیواره روده در برابر فعالیت‌های رادیکال‌های آزاد اکسیژن با منشاء غذایی، متابولیسم مخاط و پاسخ‌های التهابی به میکروب‌ها بسیار با اهمیت می‌باشد (۲۴). Semiz و همکاران در سال ۲۰۱۸ بیان نمودند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی روغن‌های فرار نقش به‌سزایی در حفاظت سلول‌ها در مقابل آسیب اکسیداتیو دارد (۳۶). بنابراین استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر روغن فرار میخک و اسیدآسکوربیک می‌تواند در کاهش اثرات مخرب سرب تأثیر مثبت داشته باشد.

در پژوهش حاضر گروه‌های دریافت‌کننده اسیدآسکوربیک و روغن فرار میخک در سطح ۴۵۰ نسبت به گروه کنترل (سرب تنها) به طور معنی‌داری وزن بدنی بالاتری داشتند ($P < 0.05$). همچنین گروه‌های دریافت‌کننده اسیدآسکوربیک و هر دو سطح روغن فرار میخک، نسبت به گروه کنترل ضریب تبدیل غذایی بهتری داشتند

اثرات سوء سرب (به عنوان یک اکسیدان قوی) بر پارامترهای رشد و ریخت‌شناسی پرزهای روده به‌خوبی توسط محققین مختلف بررسی و شناسایی شده است. Ebrahimi و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش دادند که سرب می‌تواند سبب کاهش جذب مواد غذایی، کاهش وزن بدن و به هم خوردن ضریب تبدیل غذایی شود (۱۰). مطالعه Seven و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان داد که استفاده از سرب در جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند منجر به کاهش عملکرد و وزن بدن شده که این اثرات منفی با اضافه نمودن ویتامین C و propolis به جیره بهبود می‌یابد (۳۷).

استفاده از روغن‌های فرار و مواد آنتی‌اکسیدانی نظیر اسیدآسکوربیک در جیره طیور گوشتی سبب بهبود استفاده از غذا و در نتیجه افزایش رشد و بازده می‌شود (۱). ظرفیت

($P < 0.05$). این نتایج در توافق با یافته‌های Seven و همکاران در سال ۲۰۱۲ و Mukhtar و همکاران در سال ۲۰۱۱ است که به ترتیب نشان دادند استفاده از ویتامین C در جیره جوجه‌های گوشتی چالش شده با سرب و استفاده از اسانس میخک منجر به بهبود وزن‌گیری و ضریب تبدیل غذایی می‌شود (۲۸،۳۷). مسمومیت با سرب سبب سوء تغذیه در حیوان شده و به طبع ممکن است سوسترای لازم برای تولید پروتئین‌های مختلف از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، دچار اختلال شود و از طرفی برخی مطالعات حاکی از تداخل سرب در جذب و متابولیسم برخی فلزات ضروری است (۲۲).

اسیدآسکوربیک ترکیبی آنتی‌اکسیدان است که به طور مشخص سبب مهار سطوح پراکسیداسیون لیپیدی در کبد و مغز می‌شود و سطوح کاتالاز را در کلیه موش‌های صحرایی در مواجهه با سرب افزایش می‌دهد (۳۳). خواص آن به دلیل دو گروه تیولی است که در به دام‌اندازی فلزات نقش دارد. اسیدآسکوربیک تنها و یا در ترکیب با تیامین میزان دفع کلیوی سرب را افزایش می‌دهد و همچنین میزان تجمع کبدی و کلیوی سرب را کم می‌کند (۱۷).

در تحقیق حاضر گروه دریافت‌کننده اسیدآسکوربیک همراه با سرب به طور معنی‌داری مساحت پرز بیشتری نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب به تنهایی داشت ($P < 0.05$). این نتایج که با بهبود پارامترهای پرزهای روده در گروه دریافت‌کننده ویتامین C همراه است، در توافق با نتایج به دست آمده توسط Rodrigues و همکاران در سال ۲۰۱۸ است که بیان کردند اسیدآسکوربیک باعث افزایش ارتفاع پرزهای روده و بهبود وضعیت و یکپارچگی مخاط روده گربه ماهی می‌شود (۳۴). همچنین Hasanpour و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند کاربرد آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامین E در جیره جوجه‌های گوشتی باعث بهبود عملکرد، افزایش رشد سلول‌های اپیتلیال و جلوگیری از تخریب آن‌ها می‌شود (۱۸).

Liu و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که عوامل استرس‌زای تغذیه‌ای سبب ایجاد اثرات منفی و آسیب به پرزهای روده در موش می‌شود (۲۳). در مطالعه Viverous و همکاران در سال ۲۰۱۱ مشخص شد که وضعیت مخاط روده و ساختار میکروسکوپی آن شاخص خوبی از پاسخ روده به مواد فعال در خوراک می‌باشد و تغییرات ریخت‌شناسی روده مانند پرزهای کوتاه‌تر در حضور مواد سمی می‌تواند اتفاق افتد (۴۰).

گزارش شده است که روغن‌های فرار علاوه بر بهبود بازدهی گوشت طیور و لاشه، وزن روده را نیز کاهش می‌دهند و همچنین ترشح آنزیم‌های هضمی و حرکت روده را نیز تحریک می‌کنند (۷).

Mukhtar 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 (۲۸). Ghazanfari و همکاران در سال ۲۰۱۴ طی مطالعه خود گزارش کردند که استفاده از ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن فرار میخک در جیره جوجه گوشتی منجر به بهبود دریافت غذا، افزایش وزن و بازده رشد می‌شود (۱۴).

در مطالعه حاضر گروه‌های چالش شده با سرب که روغن فرار میخک (به‌خصوص در سطح ۴۵۰) را در جیره دریافت نمودند نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب به تنهایی، کمتر تحت تأثیر اثرات منفی این فلز بر پرزهای روده قرار گرفتند و به طور معنی‌داری اندازه پرز و مساحت جذب بیشتری داشتند ($P < 0.05$), که این نتایج با پژوهش Chowdhury و همکاران در سال ۲۰۱۸ در تطابق است؛ این پژوهشگران اثبات کردند روغن فرار میخک با اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی باعث سلامت، بهبود میکروفلور و افزایش ارتفاع پرزهای روده کوچک در جوجه‌های گوشتی می‌شود، (۸). اثرات مثبت روغن فرار میخک بر ریخت‌شناسی 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 مونوتروپین‌ها نسبت داد. Miller و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش دادند که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، سلول‌های پوششی روده را در مقابل مرگ برنامه‌ریزی شده در اثر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند و در نتیجه باعث رشد سلول‌های بافت پوششی روده می‌شوند (۲۶). اثرات قوی آنتی‌اکسیدانی میخک در مطالعات متعددی به اثبات رسیده است (۹،۱۶). روغن میخک دارای اثر مهارکنندگی رادیکال‌های هیدروکسیل و همچنین شلاته‌کننده آهن بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اوژنول با α -tocopherol قابل مقایسه است (۲۵).

شواهدی وجود دارد که بیان می‌کند فاکتورهای محرک هضم و جذب در عصاره‌های گونه‌های گیاهی وجود دارد که علاوه بر تحریک هضم دارای فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌های موجود در روده هستند. گیاهان دارویی باعث تحریک سیستم هضم در طیور و بهبود عملکرد کبد و افزایش آنزیم‌های هضم لوزالمعدی می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند مانع اکسیداسیون ترکیبات مغذی شوند و ترکیبات ضد میکروبی می‌توانند باعث کاهش جمعیت باکتریایی مضر موجود در تنه‌ی معدی- روده‌ای پرندگان

Mansoub و Myandoab در سال ۲۰۱۲ مشاهده کردند که افزودن ترکیب عصاره‌های گیاهان دارویی در جیره، باعث افزایش وزن بدن بلدرچین‌ها در یک دوره ۴۲ روزه شد. این محققین نتیجه گرفتند که بهبود هضم مواد غذایی منجر به ایجاد تعادل در میکروفلور روده شده که باعث کاهش حضور باکتری‌های پاتوژن شده است (۲۹). Giannenas و همکاران در سال ۲۰۱۸ گزارش کردند که استفاده از گیاهان دارویی در جیره بر پرزهای روده و فلور دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی اثر مثبت دارد و عملکرد رشد را تقویت می‌نماید (۱۵).

به طور کلی نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که اضافه نمودن اسیدآسکوربیک به میزان ۵۰۰ پی‌پی‌ام و روغن فرار میخک به خصوص در سطح ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی می‌تواند اثرات منفی سرب بر پرزهای روده را کاهش داده و سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک و وزن نهایی در بلدرچین ژاپنی شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمامی پرسنل محترم دانشکده و کلینیک دامپزشکی دانشگاه شهرکرد که در انجام مراحل این پژوهش همکاری نمودند کمال سپاسگزاری را دارم.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

شوند. وجود عوامل مضر باکتریایی می‌تواند باعث شکسته شدن اسیدهای آمینه شده و در جذب آن‌ها اختلال ایجاد کند (۴۲).

ویژگی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی روغن‌های فرار به دلیل قابلیت احیاکنندگی آن‌ها می‌باشد که به این ترکیب‌ها اجازه می‌دهد به‌عنوان عامل احیاکنندگی دنا‌تورهای هیدروژن و شلاته کننده‌های آهن عمل نمایند (۳۷). ترکیبات موجود در روغن‌های فرار می‌توانند با افزایش کارایی آنزیم‌های دخیل در سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن همانند گلوکاتیون ردوکتاز، برای سلامتی مصرف‌کننده مناسب باشد (۶).

از طرف دیگر اثرات مثبت روغن میخک بر اندازه و سطح جذب پرزهای روده که در تحقیق حاضر مشاهده گردید را نیز می‌توان به بهبود فلور طبیعی روده در گروه‌های دریافت کننده روغن میخک نسبت داد. در تحقیق Pan و Zhongtang در سال ۲۰۱۴ مشخص شد که فلور میکروبی دستگاه گوارش می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر سلامتی و بازده طیور گوشتی داشته باشد، بدین ترتیب هر گونه اختلال در فلور طبیعی می‌تواند به علت استقرار عوامل بیماری‌زا یا باکتری‌های کاهش‌دهنده رشد با اثرهای مضر همراه گردد. میکروفلور روده نه تنها می‌تواند باعث افزایش توده روده شود، بلکه در حضور میکروب‌های روده سرعت جایگزینی سلول‌های بافت روده تا ۴۰ درصد افزایش می‌یابد (۳۲). مطالعه Mohammadi و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داد که اسانس میخک می‌تواند باعث بهبود عملکرد رشد، سلامتی دستگاه گوارش، فلور میکروبی و وضعیت ایمنی جوجه‌های گوشتی شود (۲۷).

References

- Abernethy, D. R., DeStefano, A. J., Cecil, T. L., Zaidi, K., Williams, R. L., Panel, U. M. I. A. (2010). Metal impurities in food and drugs. *Pharm Sci*, 27(5), 750-755. <http://doi.org/10.1007/s11095-010-0080-3> PMID: 20217462
- Agostini, P. S., Sola-Oriol, D., Nofrarías, M., Barroeta, A. C., Gasa, J., Manzanilla, E. G. (2012). Role of in-feed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology, and morphology in broiler chicken. *Livest Sci*, 147(1), 113-118. <http://doi.org/10.14202/vetworld.2015.664-668> PMID: 27047153
- Applegate, T. J., Dibner, J. J., Kitchell, M. L., Uni, Z., Lilburn, M. S. (1999). Effect of turkey (*Meleagris gallopavo*) breeder hen age and egg size on poult development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. *Comp. Biochem Physiol B*, 124(4), 381-389. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(99\)00140-6](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(99)00140-6) PMID: 10665366
- Ashor, A. W., Lara, J., Mathers, J. C., Siervo, M. (2014). Effect of vitamin C on endothelial function in health and disease: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Atherosclerosis*, 235(1), 9-20. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.04.004> PMID: 24792921
- Bahadoran, S., Hassanpour, H., 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. *Iran J Vet Clin Sci*, 8(1), 27-36. [In Persian]
- Bahrami, M., shariatmadari, F., 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. *Iran J Med Aroma Plnt*, 27(2), 326-337. [In Persian]
- Brenes, A., Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Anim. Feed Sci. Technol.* 158(1), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.007>
- Chowdhury, S., Mandal, G. P., Patra, A. K., Kumar, P., Samanta, I., Pradhan, S., Samanta, A. K. (2018). Different

- essential oils in diets of broiler chickens: 2. Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes. *Anim Feed Sci Technol*, 236, 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.00>.
9. Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F., Oliveira, W. P. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4(2), 90-96. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60215-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X) PMID: 25182278
 10. Ebrahimi, R., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., Soleimani Farjam, A., Shokryazdan, P., Idrus, Z. (2015). Effect of dietary lead on intestinal nutrient transporters mRNA expression in broiler chickens. *BioMed Res Int*, 2015(1), 149745. <https://doi.org/10.1155/2015/149745> PMID: 25695048
 11. Ebrahimi R., Mohammad Abadi, T., Sari, M., Salari, S., Bamiri, M., Beigi Nasiri, M.T. (2016). Effect of Pb-induced oxidative stress on performance, antioxidant status and behavioral responses in broiler chicken. *J Vet Res*, 71(4), 453-461. [In Persian]
 12. El-Neweshy, M. S., El-Sayed, Y. S. (2011). Influence of vitamin C supplementation on lead-induced histopathological alterations in male rats. *Exp Toxicol Pathol*, 63(3), 221-227. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2009.12.003> PMID: 20056397
 13. Gao, H. M., Zhou, H., Hong, J. S. (2014). Oxidative stress, Neuroinflammation, and Neurodegeneration. In *Neuroinflammation and Neurodegeneration* Springer. New York, NY, USA. p. 81-104.
 14. Ghazanfari, S., Mohammadi, Z., Adibmoradi, M. (2014). Effects of clove essential oil on growth performance, carcass characteristics and immune system in broiler chicken. *J Vet Res*, 70(2), 19-20. [In Persian]
 15. Giannenas, I., Bonos, E., Skoufos, I., Tzora, A., Stylianaki, I., Lazari, D., Florou-Paneri, P. (2018). Effect of herbal feed additives on performance parameters, intestinal microbiota, intestinal morphology and meat lipid oxidation of broiler chickens. *Br Poult Sci*. (just-accepted). <https://doi.org/10.1080/00071668.2018.1483577>
 16. Gülçin, İ., Elmastaş, M., Aboul-Enein, H. Y. (2012). Antioxidant activity of clove oil—A powerful antioxidant source. *Arab J Chem*, 5(4), 489-499. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.09.016>
 17. Gurer, H., Ercal, N. (2000). Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radic Biol Med*, 29(10), 927-945. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00413-5](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00413-5) PMID: 11084283
 18. Hassanpour, H., Bahadoran, S., Borjian, N. (2016). Vitamin E improves morphology and absorptive surface of small intestine in broiler chickens reared at high altitude. *Poult Sci J*, 4(1), 19-26. <https://doi.org/10.22069/psj.2016.2968>
 19. Kamatou, GP., Vermaak, I., Viljoen, AM. (2012). Eugenol—from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*. 17(6), 6953–81. <https://doi.org/10.3390/molecules17066953> PMID: 22728369
 20. Kurutas, E. B. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J*, 15(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5> PMID: 27456681
 21. Lee, W.K., Everts, H., Beynen, AC. (2004). Essential oils in broiler nutrition. *Int J Poult Sci*, 3, 738-752. <https://doi.org/10.3923/ijps.2004.738.752>
 22. Lidsky, TL., Schneider, JS. (2003). Lead neurotoxicity in children :basic mechanisms and clinical correlates. *Brain*, 126(1), 5-19. <https://doi.org/10.1093/brain/awg014> PMID: 12477693
 23. Liu, M., Gao, R., Meng, Q., Zhang, Y., Bi, C., Shan, A. (2014). Toxic effects of maternal zearalenone exposure on intestinal oxidative stress, barrier function, immunological and morphological changes in rats. *PLoS One*, 9(9), e106412. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106412> PMID: 25180673
 24. McLean, JA., Karadas, F., Surai, PF. (2005). Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. *Comp Biochem Physiol*, 141(3), 366-372. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.04.009> PMID: 15927496
 25. Milind, P., Deepa K. (2011). Clove: a champion spice. *Int J Res Ayurv Pharm*, 2, 47-54.
 26. Miller, M. J., Angeles, F. M., Reuter, B. K., Bobrowski, P., Sandoval, M. (2001). Dietary antioxidants protect gut epithelial cells from oxidant-induced apoptosis. *BMC Complement Altern Med*, 1(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-1-11> PMID: 11749672
 27. Mohammadi, Z., Ghazanfari, Sh., Adibmoradi, M. (2013). Effects of clove essential oil on growth performance, carcass characteristics and immune system in broiler chicken. *Vet J (Pajouhesh & Sazandegi)*, 27(1), 67-76. [In Persian]
 28. Mukhtar, A.M. (2011). The Effect of Dietary Clove Oil on Broiler Performance. *Aust J Basic Appl Sci*, 5(7), 49-51.
 29. Myandoab, MP., Mansoub, N. (2012). Comparative effect of liquorice root extract medicinal plants and probiotic in diets on performance, carcass traits and serum composition of Japanese quails. *Glob Vet*, 8(1), 39-42.
 30. National Research Council. (1994). *Nutrient Requirements of Poultry*. (9th ed.) National Academy Press. Washington DC, USA.
 31. Nwokocha, C. R., Owu, D. U., Nwokocha, M. I., Ufearo, C. S., 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 Chem Toxicol*, 50(2), 222-226. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.11.003> PMID: 22101063
 32. Pan, D., Yu, Z. (2014). Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut Microbes*, 5(1), 108-119. <https://doi.org/10.4161/gmic.26945> PMID: 24256702
 33. Patra, R. C., Swarup, D., Dwivedi, S. K. (2001). Antioxidant effects of α tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicol*, 162(2), 81-88. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00345-6](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00345-6) PMID: 11337108
 34. Rodrigues, R. A., da Silva Nunes, C., Fantini, L. E., Kasai, R. Y. D., Oliveira, C. A. L., Hisano, H., de Campos, C. M. (2018). Dietary ascorbic acid influences the intestinal morphology and hematology of hybrid sorubim catfish (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *P. corruscans*). *Aquacult Int*, 26(1), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0188-0>.
 35. Romagnolo, DF., Selmin, OI. (2012). Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence. *J Nutr Gerontol Geriatr*, 31(3), 206–38. <https://doi.org/10.1080/21551197.2012.702534> PMID: 22888839
 36. Semiz, G., Semiz, A., Mercan-Doğan, N. (2018). Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant and antibiofilm activities of four *Origanum* species from southeastern Turkey. *Int J Food Prop*. 21(1), 194-204. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1440240>
 37. Seven, İ., Aksu, T., Seven, P. T. (2012). The effects of propolis and vitamin C supplemented feed on performance, nutrient utilization and carcass characteristics in broilers exposed to lead. *Livest Sci*, 148(1), 10-15 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.05.001>

38. Teshfam, M., Nodeh, H., Hassanzade, M. (2005). Alterations in the intestinal mucosal structure following oral administration of triiodothyronine (T3) in broiler chickens. *J Appl Anim Res*, 27(2), 105-108. <https://doi.org/10.1080/09712119.2005.9706550>
39. Uni, Z., Platin, R., Sklan, D. (1998). Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. *J Comp Physiol B, Biochem Syst Environ Physiol*, 168(4), 241-247. <https://doi.org/10.1007/s003600050142> PMID: 9646500
40. Viveros, A., Chamorro, S., Pizarro, M., Arijia, I., Centeno, C., Brenes, A. (2011). Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. *Poult Sci*, 90(3), 566-578. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00889> PMID: 21325227
41. Yamauchi, K. (2002). Review on chicken intestinal villus histological alteration related with intestinal function. *J Poult Sci*, 39(4), 229-242. <https://doi.org/10.2141/jpsa.39.229>
42. Yesilbag, D., Gezen, S., Biricik, H., Bulbul, T. (2012). Effect of a rosemary and oregano volatile oilmixture on performance, lipid oxidation of meat and haematological parameters in Pharaoh quails. *Br Poult Sci*, 53(1), 89-97. <https://doi.org/10.1080/00071668.2012.654763> PMID: 22404809
43. Yoo, J., Yi, Y. J., Koo, B., Jung, S., Yoon, J. U., Kang, H. B., Heo, J. M. (2016). Growth performance, intestinal morphology, and meat quality in relation to alpha-lipoic acid associated with vitamin C and E in broiler chickens under tropical conditions. *R Bras Zootec*, 45(3), 113-120. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-92902016000300005>