Effect of Microencapsulated Essential Oil Supplementation on Performance, Hepatic Enzymes, Ileal Microbial Population, and Antioxidant Status of Broiler Chickens under High Stocking Density Conditions

Zahra Tahami[1*], Ehsan Oskoueian[2]

Ph.D. of Animal Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Tahami6690@yahoo.com

Assistant professor in Biotechnology. Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII).

e.oskoueian@gmail.com

https://doi.org/10.22067/ijasr.2026.97490.1295

Introduction: The broiler industry is one of the main pillars of global animal protein production. However, to meet increasing demand, intensive or high-density rearing systems are widely employed. Although economically efficient, such practices impose severe environmental and physiological stress on birds. Excessive stocking density leads to elevated ammonia and carbon dioxide levels in the housing environment, restricted access to feed and water, and consequently, increased physiological stress. These stressors negatively affect vital organs such as the liver—the key center of metabolism and detoxification. High rearing density is associated with oxidative stress and immune suppression, leading to elevated hepatic enzyme activities and disruption of intestinal microflora. The utilization of natural feed additives, such as plant extracts and essential oils, has been proposed as an alternative to antibiotic growth promoters. Microencapsulation technology provides a novel approach to protect active compounds of essential oils from heat, light, and oxidation, ensuring controlled release throughout the digestive tract—particularly within the intestine—thus achieving a more stable and sustained therapeutic effect. This study aimed to evaluate the effects of microencapsulated essential oils on hepatic indices (ALT, AST), serum immunoglobulins (IgA, IgG), ileal bacterial populations, and serum antioxidant activity of broiler chickens reared under both recommended and high stocking densities.

Materials and Methods: A total of 250 one-day-old broiler chicks were used in a completely randomized design with a 2 × 2 factorial arrangements including four treatments, each with five replicates of ten birds. The experimental treatments were as follows: Recommended density (10 birds/m²) + no microencapsulated essential oil (control) High density (15 birds/m²) + no microencapsulated essential oil Recommended density + 500 mg/kg microencapsulated essential oil High density + 500 mg/kg microencapsulated essential oil At the end of the 42-day rearing period, serum samples were collected to determine hepatic enzymes (ALT and AST), immunoglobulins (IgA and IgG), and oxidative stress indices (MDA and Antioxidant activity). Intestinal samples were taken from the ileum to measure total bacterial count, Lactobacillus population, and Escherichia coli count. Data were analyzed using the SAS software package, and means were compared by Duncan's multiple range test at a 5% significance level.

Results and Discussion: The results showed that rearing at high stocking density significantly increased the levels of the liver enzymes ALT and AST. The consumption of encapsulated essential oil under the recommended stocking density led to a significant reduction in ALT compared with the non-supplemented group at high density. The highest levels of liver enzymes were observed in the treatment with high stocking density and no supplementation

of encapsulated essential oil. An increase in the concentration of serum enzymes indicates damage to muscle or liver tissues; therefore, the reduction of these enzymes observed in the present study represents a desirable outcome. It appears that the antioxidant activities of medicinal plants, through their beneficial effects on the liver and other body tissues, contribute to lowering serum enzyme concentrations. As reported by previous researchers, medicinal plants are among the most important natural sources of antioxidants. In the evaluation of immunoglobulins, supplementation with encapsulated essential oil under low stocking density significantly increased IgA levels. This finding suggests that the active compounds of peppermint can enhance mucosal immune responses under non-stressful conditions. On the other hand, supplementation with encapsulated essential oil significantly increased the population of Lactobacillus spp. and decreased the population of Escherichia coli in the ileum, whereas high stocking density had the opposite effect. In addition, the consumption of encapsulated essential oil increased serum antioxidant activity and reduced malondialdehyde levels. One of the main objectives of using medicinal plants is to promote the dominance of beneficial bacteria over harmful and pathogenic bacteria. This can, on the one hand, reduce competition between intestinal bacteria and the host for available nutrients, and on the other hand, decrease the production of toxic metabolites (such as ammonia and amines) by bacteria. Collectively, these factors can lead to increased host body weight and improved performance. Therefore, the improvement in performance observed with the use of encapsulated herbal essential oils in this study can be attributed to alterations in the intestinal bacterial population, namely a reduction in total coliforms and an increase in Lactobacillus populations.

Conclusion: Dietary supplementation with microencapsulated essential oils improved hepatic function and intestinal microbial balance, thereby enhancing overall health and production stability of broiler chickens raised under high-density conditions. The microencapsulation process ensured controlled release of bioactive compounds, mitigated the adverse effects of crowding stress, reduced hepatic injury markers, and elevated antioxidant capacity. The proposed mechanism involves modulation of gut microbiota, improved nutrient absorption, and enhanced immune function. Hence, application of microencapsulation technology in natural feed additives represents an effective approach for promoting antibiotic-free poultry production.

Keywords: Broiler chicken, Immune system, Intestinal microbiota, Microencapsulated essential oil, Stocking density.

تأثیر مصرف اسانس ریز پوشانی شده بر عملکرد، آنزیم های کبدی، جمعیت میکروبی ایلئوم و وضعیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی تحت شرایط پرورش متراکم

زهرا تهامی[1*]، احسان اسکوئیان[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۰۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۷/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۸/۱۷

۱- دکتری تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
Tahami6690@yahoo.com
۲- استادیار، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی. مدیریت بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شرق و شمال شرق (مشهد).e.oskoueian@gmail.com
https://doi.org/10.22067/ijasr.2026.97490.1295

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر اسانس به شکل ریز پوشانی شده بر عملکرد، شاخص‌های کبدی، ایمونوگلوبولین‌های سرم، جمعیت میکروبی ایلئوم و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم در جوجه‌های گوشتی پرورش‌یافته تحت دو شرایط تراکم توصیه شده و بالا انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل ۲ × ۲ (در دو سطح مصرف اسانس پوشش‌دار شده: ۰ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم جیره × دو سطح تراکم پرورش: توصیه شده و بالا) با چهار تیمار و پنج تکرار در هر تیمار انجام گرفت. نتایج نشان داد میانگین مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراکی در تیمار دارای تراکم توصیه شده همراه با مصرف اسانس پوشش‌دار شده به طور معنی‌داری کاهش و میانگین وزن نهایی بدن به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. پرورش در تراکم بالا به‌طور معنی‌داری سبب افزایش سطح آنزیم‌های کبدی شد، در حالی که مصرف اسانس پوشش‌دارشده در تراکم توصیه‌شده منجر به کاهش معنی‌دار آلانین آمینوترانسفراز در مقایسه با گروه عدم مصرف در تراکم بالا گردید. مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط تراکم پایین، سطح ایمونوگلوبولین A را به‌طور معنی‌داری افزایش و بر ایمونوگلوبولین G اثر معنی‌داری نداشت. از سوی دیگر، مصرف اسانس پوشش‌دار شده موجب افزایش معنی‌دار جمعیت لاکتوباسیل‌ها و کاهش جمعیت اشریشیاکلای در ایلئوم شد. همچنین، مصرف اسانس پوشش‌دار شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم را افزایش داد. به‌طور کلی، استفاده از اسانس پوشش‌دار شده می‌تواند با بهبود فلور مفید روده، کاهش شاخص‌های آسیب کبدی ناشی از تنش و ارتقای وضعیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود عملکرد اثرات منفی پرورش متراکم در جوجه‌های گوشتی را تعدیل نماید و به‌عنوان یک افزودنی طبیعی در جیره غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: اسانس پوشش‌دار شده، تراکم، جمعیت میکروبی، جوجه گوشتی و سیستم ایمنی

مقدمه

صنعت پرورش طیور گوشتی، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع تأمین پروتئین حیوانی در جهان، همواره با چالش‌هایی نظیر افزایش بازده اقتصادی و تراکم پرورشی مواجه بوده است (FAO., 2020). با این حال، افزایش تراکم پرورش می‌تواند منجر به ایجاد شرایط تنش‌زا برای پرندگان شود؛ که پیامدهایی از قبیل سرکوب سیستم ایمنی، افزایش احتمال بروز بیماری‌ها، اختلال در عملکرد اندام‌های حیاتی مانند کبد و بروز استرس اکسیداتیو را به دنبال دارد (Najafi *et al.*, 2015). یکی از نشان‌گرهای بیوشیمیایی آسیب بافتی، افزایش سطح آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز[1] و آسپارتات آمینوترانسفراز[2] در پلاسمای خون است که در شرایط تنش و آسیب‌های کبدی افزایش می‌یابد (Altan *et al.*, 2003). همچنین، تنش می‌تواند تعادل میکروبی روده را بر هم زده و با کاهش جمعیت باکتری‌های مفید (مانند

[1]- ALT. Alanine Aminotransferase
[2]- AST. Aspartate Aminotransferase

لاکتوباسیل‌ها) و افزایش پاتوژن‌ها (مانند *اشریشیاکلای*)، سلامت و عملکرد گوارشی پرنده را به خطر اندازد (Apajalahti and Vienola., 2016).

در دهه‌های گذشته، استفاده از محرک‌های رشد آنتی‌بیوتیکی به‌منظور بهبود عملکرد رشد و کنترل بیماری‌ها در صنعت طیور رواج داشت. اما نگرانی‌های فزاینده در مورد ایجاد مقاومت باکتریایی و باقی‌مانده دارویی در محصولات دامی، منجر به ممنوعیت یا محدودیت استفاده از بسیاری از این آنتی‌بیوتیک‌ها در نقاط مختلف جهان شده است (Castanon., 2007). این امر، جست‌وجو برای یافتن جایگزین‌های ایمن و طبیعی را به یک ضرورت تبدیل کرده است. در این میان، گیاهان دارویی و اسانس‌های آن‌ها به دلیل دارا بودن ترکیبات زیست‌فعالی مانند فنل‌ها، ترپن‌ها و فلاونوئیدها، که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد میکروبی و تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی هستند، مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند (Hashemipour *et al*., 2013). تیره نعناعیان (*Lamiaceae*) از جمله گیاهانی است که گونه‌هایی مانند نعناع فلفلی، آویشن و مریم‌گلی را در بر می‌گیرد. گزارش‌ها حاکی از آن است که عصاره این گیاهان می‌تواند با مهار رادیکال‌های آزاد، سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در بدن پرنده شود (Wu *et al*., 2004). همچنین، این ترکیبات با تأثیر بر فلور میکروبی روده، باعث افزایش جمعیت باکتری‌های مفید و کاهش پاتوژن‌های روده‌ای می‌شوند (Khodadust *et al*., 2015). با این وجود، یک چالش مهم در استفاده مستقیم از عصاره‌های گیاهی، حساسیت ترکیبات مؤثره آن‌ها به عوامل محیطی مانند نور، اکسیداسیون و دمای بالا در طی فرآوری خوراک است که می‌تواند از پایداری و کارایی آن‌ها بکاهد (Gharsallaoui *et al*., 2007). فناوری ریزپوشانی (اسانس پوشش‌دار شده) به‌عنوان یک راه‌حل مؤثر، امکان حفاظت از این ترکیبات حساس و رهایش کنترل‌شده و هدفمند آنها در دستگاه گوارش را فراهم می‌آورد و می‌تواند اثربخشی آنها را افزایش دهد (Fang and Bhandari., 2010). امروزه ریز پوشانی کردن یکی از روش‌های مؤثر در افزایش ماندگاری، پایداری و حفظ کیفیت اسانس‌ها به شمار می‌رود (Adamiec and Kalemba., 2006). پوشش‌دار کردن یک روش فناوری جدیدی برای بسته‌بندی مواد جامد، مایع یا گازی در کپسول‌های بسیار کوچک شناور در آب است که محتویات آنها می‌توانند به روش‌های خاص تحت شرایطی کنترل شود (Gharsallaoui *et al*., 2007). پوشش‌دار کردن شامل مشارکت اجزا مواد خوراکی، آنزیم‌ها، سلول‌ها یا دیگر موارد در پوششی کوچک است. در این تکنیک، مواد مورد نظر، درون پوششی از جنس پلیمر، مواد آلی و معدنی احاطه می‌شوند. کاربرد این روش به خاطر اینکه مواد در پوشش قرار داده شده از رطوبت، گرما یا دیگر شرایط حفاظت می‌شوند، افزایش یافته است. از جمله مزایای این روش رهش آهسته و پیوستهٔ نفوذ دارو و کنترل تنظیم شده مکان رهایش دارو در بدن می باشند؛ در این روش اسانس به ذرات کوچک تبدیل شده که در مرکز هسته قرار گرفته و سپس ترکیبات دیگری به عنوان پوشش دهنده ذرات اسانس را احاطه می‌کنند. همچنین این روش می‌تواند از ترکیبات اسانس در برابر اثرات متقابل با دیگر اجزای موجود در خوراک نیز محافظت کند.

اگرچه مطالعاتی در زمینه تأثیر اسانس‌های ریزپوشانی‌شده بر عملکرد طیور صورت گرفته است، اما پژوهش‌های معدودی به بررسی همزمان اثرات این فرمولاسیون‌ها بر طیف وسیعی از شاخص‌های سلامتی (شامل عملکرد کبد، وضعیت ایمنی، فلور میکروبی روده و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی) در جوجه‌های گوشتیِ تحت شرایط تنش‌زای ناشی از تراکم بالا پرداخته‌اند. از این رو، هدف از انجام مطالعه حاضر، ارزیابی تأثیر افزودن مخلوط اسانس‌های ریزپوشانی‌شده (حاوی آویشن، مرزه، نعناع فلفلی و فلفل سیاه) به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی بر شاخص‌های عملکردی، سطح آنزیم‌های کبدی، غلظت ایمونوگلوبولین‌های سرم، جمعیت میکروبی ایلئوم و شاخص‌های استرس اکسیداتیو (میزان مالون‌دی‌آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی) در دو سطح تراکم پرورشی استاندارد (توصیه‌شده) و بالا بود. فرضیه پژوهش

پیش‌رو بر این مبنا استوار است که فرآیند ریزپوشانی می‌تواند با ارتقای پایداری و کارایی ترکیبات مؤثره، پیامدهای نامطلوب ناشی از تنش تراکم را بر سلامت جوجه‌های گوشتی تعدیل نماید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش، در سالن تحقیقاتی پرورش طیور واقع در شرکت کشت و صنعت پیشرو صالح کاشمر واقع در ۱۸ کیلومتری جاده کاشمر_تربت حیدریه انجام شد. در این آزمایش ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی (مخلوط نر و ماده) از سویه تجاری راس ۳۰۸ استفاده گردید. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲ ، ۴ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار در شرایط استاندارد و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار در شرایط تراکم جمعیت از سن یک‌روزگی اجرا شد. ۲۰ واحد آزمایشی به ابعاد ۱ متر در ۱ متر ایجاد شد. شرایط محیطی سالن پرورش برای تمام جوجه‌ها یکنواخت و در طول دوره آزمایش آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت. برنامه نوری به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی اعمال شد. دمای سالن در هفته اول ۳۳ درجه سانتی‌گراد بود و هر هفته ۳ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت تا به ۲۱ درجه سانتی‌گراد در هفته ششم رسید. رطوبت نسبی سالن در محدوده ۵۰–۶۰ درصد کنترل شد.

تیمارهای مورد آزمایش عبارت بودند از؛ تیمار اول: تراکم توصیه شده (۱۰ عدد جوجه در هر متر مربع) + بدون اسانس پوشش‌دار شده گیاهی (شاهد)، تیمار دوم: تراکم بالا (۱۵ عدد جوجه در هر متر مربع)+ بدون اسانس پوشش‌دار شده گیاهی، تیمار سوم: تراکم+۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس پوشش‌دار شده گیاهی، تیمار چهارم: تراکم بالا +۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس پوشش‌دار شده گیاهی. جیره‌ها براساس جدول احتیاجات سویه راس ۳۰۸ و با استفاده از بسته نرم‌افزار UFFDA تنظیم گردیدند. اجزای تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی برای هر تیمار در دو مرحله آغازین (۲۱– ۷ روزگی) و پایانی (۴۲–۲۱ روزگی) در کارخانه خوراک دام، طیور و آبزیان صالح کاشمر آماده شد. جیره‌های غذایی به صورت آردی تهیه و در اختیار پرندگان قرار گرفت. اسانس پوشش‌دار شده حاوی اسانس گیاهان داروئی که دارای ترکیبات مؤثره گیاهان آویشن[1]، مرزه[2]، نعناع فلفلی[3]و فلفل سیاه[4] می‌باشد، این اسانس با نشاسته اصلاح شده، کنسانتره پروتئین آب پنیر و مالتودکسترین کپسوله و در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شرق و شمال شرق کشور تولید شد. برگ‌های خشک گیاهان برای استخراج اسانس با روش تقطیر استفاده شد. مرحله استخراج اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر برای مدت ۳ تا ۴ ساعت انجام شد. پس از جداسازی برای جذب آب و رطوبت باقیمانده، بروی اسانس سولفات سدیم بدون آب اضافه شد. اسانس‌های بدست آمده از آویشن، مرزه، نعناع فلفلی و فلفل سیاه به ترتیب با نسبت ۵۰:۲۵:۱۲,۵:۵ مخلوط شدند. برای محصور کردن از مالتودکسترین استفاده شد. سپس امولسیون نهایی به روش خشک کردن پاششی و با استفاده از دستگاه اسپری به پودر میکروکپسول تبدیل شد (Moharreri *et al.*, 2021). اسانس پوشش‌دار شده گیاهی به جیره‌غذایی اضافه و به طور کامل با جیره مخلوط گردید.

میزان خوراک مصرفی به‌صورت هفتگی از طریق توزین مقدار خوراک داده‌شده به هر واحد آزمایشی و کسر مقدار خوراک باقیمانده در پایان هر هفته اندازه‌گیری شد. افزایش وزن به‌صورت هفتگی از طریق توزین پرندگان در ابتدا و

1- *Thymus vulgaris*

2- *Satureja hortensi*

3- *Mentha piperita L*

4- *Piper nigrum*

انتهای هر هفته محاسبه گردید. ضریب تبدیل غذایی از تقسیم میزان خوراک مصرفی بر افزایش وزن در هر دوره محاسبه شد. برای این منظور از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده گردید. در پایان دوره (۴۲ روزگی) از هر واحد آزمایشی ۲ قطعه پرنده که به میانگین وزن واحد آزمایشی نزدیک بود به طور تصادفی انتخاب و خونگیری انجام شد. خونگیری از سیاهرگ زیربال (ورید بال) انجام شد. سرم نمونه‌های خونی به میکروتیوب منتقل گردید و تا زمان آنالیزهای مورد نظر در داخل فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و پس از آن جهت تعیین فراسنجه‌های بیوشیمیایی به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های خونی، جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و ایمونوگلوبولین‌های A و G به آزمایشگاه ارسال شد. نمونه‌های خون، با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر بیوشیمی (بایوتکنیکا مدل BT3000 Plus ریفربیشد، ساخت ایتالیا) و کیت‌های شرکت پارس‌آزمون، آنالیز گردید.

جهت شمارش جمعیت میکروبی، مقدار یک گرم از محتویات روده کور در شرایط بدون آلودگی برداشته شد و در ۹ میلی لیتر محلول استریل بافر فسفات (PBS) مخلوط شد. این مخلوط تا غلظت 10^{-7} رقیق‌سازی گردید. سری رقت با استفاده محلول استریل بافر فسفات PBS تهیه و شمارش باکتری‌های منتخب به روش قطره‌ای و محیط‌های کشت مناسب به شرح زیر انجام شد. این رقت‌های ساخته شده میزان ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت MRS جهت شمارش باکتری‌های تولیدکننده لاکتیک‌اسید کشت گردید. در محیط کشت MacConkey agar برای شمارش *اشریشیاکلای* و محیط کشت Brilliant green agar جهت شمارش *سالمونلا*، شمارش کل جمعیت باکتری‌های هوازی از محیط کشت Nutrient agar به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. پس از طی زمان انکوباسیون تعداد کلنی‌های رشد کرده روی پلیت‌ها که بین ۳۰ تا ۳۰۰ بودند، شمارش شدند و جمعیت باکتری‌ها بر اساس CFU/g محتویات روده کور گزارش شد (Hashemi *et al.*, 2012).

برای ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدها، میزان مالون‌دی‌آلدئید سرم خون به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها با روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری گردید. در این روش با ارزیابی مواد واکنشگر با تیوباربیتوریک‌اسید[1] آسیب وارد شده به لیپیدها ناشی از مقادیر بالای گونه های فعال اکسیژن[2] اندازه‌گیری گردید. پراکسیداسیون لیپیدی براساس روش Satho (۱۹۷۸) با استفاده از تیوباربیتوریک‌اسید[3] ۰/۶۷ درصد و تری‌کلرواستیک اسید[4] ۲۰ درصد اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم افزار SAS (۲۰۰۴) انجام شد. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی-کرامر در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر مقایسه شد. مدل آماری مورد استفاده به صورت رابطه یک بود:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$ (رابطه ۱)

که در این رابطه:

Y_{ijk}= مقدار عددی هر یک از مشاهدات در آزمایش

μ= میانگین کل

A_i= اثر i اُمین سطح عامل A (i=1,2)

B_j= اثر j امین سطح عامل B (j=1,2,3,4)

1- TBARs
2- ROS
3-TBA
4- TCA

$(AB)_{ij}$= اُمین سطح عامل j و A اُمین سطح عامل i اثرB متقابل

e_{ijk}= خطای آزمایش

در جدول ۱، مواد تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی جوجه‌های گوشتی سویه آرین در دوره آغازین آورده شده است.

جدول ۱- اجزا و ترکیب مواد مغذی جیره آزمایشی پایه

Table 1- Components and nutrient composition of the basic experimental diet

اجزاء جیره (درصد) Ingredients (%)	۴۲-۲۱روزگی 21-42 days	۲۱-۷ روزگی 7-21 days
(Corn) ذرت	52/69	50/21
Soybean meal (44%) کنجاله سویا (۴۴ درصد)	28/90	33/68
wheat seed دانه گندم	8/00	5/00
Soybean oil روغن سویا	4/03	3/47
Fesh meal پودر ماهی	3/00	3/00
DiCalcium phosphate دی‌کلسیم‌فسفات	1/37	1/59
Calcium carbonate کربنات کلسیم	1/02	1/11
Vitamin-Mineral premix مکمل معدنی-ویتامینی	0/50	1/50
DL- methionine دی‌ال‌متیونین	0/28	0/22
Salt نمک طعام	0/20	0/20
L-lysine ال- لیزین	0/01	0/02
ترکیبات شیمیایی (محاسبه شده) Nutrient Composition (calculated)		
Metabolizable energy (kcal/kg) انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم)	3100	3000
Crude protein (%) پروتئین خام (درصد)	20/00	22/00

نسخه پیش انتشار

Calcium (%) کلسیم (درصد)	0/90	1/00
Total phosphorus (%) فسفر کل (درصد)	0/45	0/50
Threonine (%) ترئونین (درصد)	0/70	0/83
Tryptophan (%) تریپتوفان (درصد)	0/28	0/31
Methionine-Cysteine (%) متیونین–سیستین (درصد)	0/95	0/95
Methionine(%) متیونین (درصد)	0/34	0/37
Lysine(%) لیزین (درصد)	1/10	1/25

هر کیلوگرم از مکمل معدنی حاوی: ۵۵ میلی‌گرم آهن، ۸۸ میلی‌گرم منگنز، ۸۸ میلی‌گرم روی، ۵/۵ میلی‌گرم مس، ۱/۷ گرم ید. هر کیلوگرم از مکمل ویتامینی حاوی: ۸۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۳۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامینD_3، ۱۶۵۰۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۲/۲ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۵/۵ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۲۸ میلی‌گرم ویتامین B_3، ۶/۶ میلی‌گرم ویتامین B_5، ۳/۳ میلی‌گرم ویتامین B_6، ۰/۶ میلی‌گرم ویتامین B_9، ۲۲/۱ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۵۵ میلی‌گرم B_7، ۱۱۰ گرم کولین کلراید

Each kilogram of mineral supplement contains: 55 mg of iron, 88 mg of manganese, 88 mg of zinc, 5.5 mg of copper, 1.7 g of iodine. Each kilogram of vitamin supplement contains: 8,800,000 AU vitamin A, 3,300,000 AU vitamin D_3, 16,500 AU vitamin E, 2.2 mg of vitamin K_3, 2.5 mg of vitamin B_1,5.5 Vitamin B_2 mg, 28 mg Vitamin B_3, 6.6 mg Vitamin B_5, 3.3 mg Vitamin B_6, 0.6 mg Vitamin B_9, 22.1 mg gram of vitamin B_{12}, 55 mg of B_7, 110 grams of choline chloride

نتایج و بحث

جدول ۲ اثرات اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده گیاهان داروئی در شرایط پرورش تراکم بالا و توصیه شده بر میانگین مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراکی و میانگین وزن نهایی در جوجه گوشتی را نشان می‌دهد. نتایج اثرات متقابل نشان داد مقدار مصرف خوراک در تیمار دارای تراکم توصیه شده همراه با مصرف اسانس پوشش‌دار شده در مقایسه با تیمارهای با تراکم بالا و مصرف اسانس پوشش‌دار و بدون مصرف اسانس پوشش‌دار به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P<۰/۰۵$). ضریب تبدیل خوراکی تیمار شرایط تراکم بالا بدون اسانس پوشش‌دار شده در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایش بالاتر می‌باشد ($P<۰/۰۵$). حال آنکه بین سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P>۰/۰۵$). در بررسی شاخص میانگین وزن نهایی، کمترین میزان عملکرد مربوط به گروه پرندگانی بود که با جیره فاقد اسانس در شرایط تراکم بالا پرورش یافته بودند. با این حال، استفاده از اسانس پوشش‌دار در همان شرایط تراکم بالا توانست کاهش وزن ناشی از تنش تراکم را با موفقیت جبران کرده و وزن نهایی را به‌طور معنی‌داری تا ۲۷۴۹/۴ گرم افزایش دهد؛ به‌گونه‌ای که از لحاظ آماری با گروه ایده‌آل (دارای اسانس در تراکم توصیه‌شده با وزن ۲۸۲۷/۵ گرم) تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$).

گزارشات نشان داد مصرف گیاهان دارویی در سطح ۱ درصد به طور معنی‌داری مصرف خوراک را کاهش و ضریب تبدیل خوراکی را بهبود بخشید. همچنین استفاده از عصاره نعناع فلفلی در جیره باعث افزایش وزن بدن پرنده شد (Kazemifard., 2022). مطالعه Gheisari و همکاران در سال ۲۰۲۳ نشان داد استفاده از اسانس‌های گیاهی پوشش‌دار می‌تواند به طور قابل توجهی باعث بهبود عملکرد جوجه گوشتی شود. این اسانس‌ها با بهبود هضم و جذب مواد مغذی، می‌توانند ضریب تبدیل خوراک را کاهش دهند (Alizadeh *et al.*, 2022). حفظ فعالیت اسانس‌ها در شرایط ذخیره و فرآوری جیره از بین نمی‌روند و در دستگاه گوارش به بهترین شکل آزاد می‌شوند و اثرات طولانی‌تری در بدن دارد (Khajeh *et al.*, 2023). همچنین پوشش اسانس‌ها بوی ناخوشایند آن‌ها را کاهش می‌دهد و باعث شده است که تاثیرگذاری بیشتری در روند عملکرد گله داشته باشد. به همین خاطر اسانس‌های پوشش دار بهتر از اسانس‌های بدون پوشش عمل کردند و اثرات مثبت بیشتری روی عملکرد جوجه‌ها داشتند. البته هنوز تمامی اثرات این اسانس‌ها روی جوجه‌ها به خوبی مورد بررسی قرار نگرفته است و بر اساس گونه گیاهی ممکن است اثرات متفاوتی داشته باشد (Faraji *et al.*, 2023).

جدول ۲- اثر اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط توصیه شده و تراکم بالا بر عملکرد جوجه گوشتی

Table 2- Main and interaction effects of encapsulated essential oil supplementation under recommended conditions and high stocking density on the performance of broiler chickens

اثرات اصلی Main effects	مصرف خوراک (گرم) feed intake (gram)	ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ratio	وزن (گرم) Final weight (grams)
نوع محصول مصرفی Type of consumer product			
بدون اسانس پوشش‌دار شده Without coated essential oil	4784/2^{b}	1/88^{a}	2544/8^{b}
با اسانس پوشش‌دار شده Covered with essential oil	4796/1^{a}	1/72^{b}	2788/4^{a}
خطای استاندارد SEM	1464/18	0/053	54/92
سطح احتمال P-value	0/009	0/05	0/005
شرایط تراکم گله Herd density conditions			
تراکم توصیه شده Recommended density	5729/9^{a}	1/51^{b}	2748/3^{a}
تراکم بالا High density	4807/3^{b}	1/72^{a}	2584/9^{b}
خطای استاندارد SEM	1345/16	0/033	45/66
سطح احتمال P-value	0/001	0/009	0/004
نوع محصول مصرفی × شرایط تراکم گله Type of consumed product × conditions of herd density			
تراکم توصیه شده×بدون اسانس پوشش‌دار شده Without coated essential oils × recommended density	5358/5 ^{ab}	1/64^{b}	2669/2^{ab}
Without coated essential oils × high density	5775/2 ^{a}	1/90^{a}	2420/5^{b}

تراکم بالا×بدون اسانس پوشش‌دار شده Covered with essential oil x recommended density	4256/1[b]	1/55[b]	2827/5[a]
تراکم توصیه شده×با اسانس پوشش‌دار شده Covered with high density essential oil	5684/6 [a]	1/57[b]	2749/4[a]
تراکم بالا×با اسانس پوشش‌دار شده SEM	1534/16	0/045	34/65
خطای استاندارد P-value	0/003	0/004	0/04
سطح احتمال			

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵) .

Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۳ اثرات اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده گیاهان داروئی در شرایط پرورش تراکم بالا و توصیه شده بر آنزیم‌های کبدی و ایمونوگلوبولین‌های A و G سرم خون در جوجه گوشتی را نشان می‌دهد. نتایج اثرات اصلی نشان دهنده عدم تاثیرگذاری مصرف و عدم مصرف اسانس پوشش‌دار شده بر میزان آنزیم‌های کبدی ALT و AST می‌باشد. بررسی نتایج اثرات متقابل نشان می‌دهد عدم مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط پرورش با تراکم بالا به شکل معنی‌داری منجر به افزایش میزان آنزیم‌های کبدی ALT در مقایسه با عدم مصرف در شرایط پرورش با تراکم توصیه شده شد (P<۰/۰۵). همچنین میزان آنزیم کبدی ALT در تیمار مصرف کننده اسانس پوشش‌دار شده در شرایط تراکم بالا به شکل معنی‌داری بالاتر از تیمار مصرف کنند اسانس پوشش‌دار شده در تراکم توصیه شده بود (P<۰/۰۵). بررسی اثرات متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده و تراکم پرورش بر میزان آنزیم کبدی AST نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P>۰/۰۵).

بررسی اثرات متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده و تراکم پرورش بر میزان ایمونوگلوبولین G نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی می‌باشد (P>۰/۰۵). مصرف اسانس پوشش‌دار شده در تراکم توصیه‌شده (استاندارد) به شکل معنی‌داری منجر به افزایش میزان ایمونوگلوبولین A در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد (P<۰/۰۵). بین تیمارهایی که اسانس پوشش‌دار شده دریافت نکرده بودند میزان ایمونوگلوبولین A تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). اگرچه اثر اصلی معنی‌دار نبود، اما مصرف اسانس پوشش‌دار شده در تراکم توصیه‌شده (استاندارد)، سطح ایمونوگلوبولین A را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. این یافته نشان می‌دهد که ترکیبات فعال نعناع فلفلی می‌توانند در شرایط غیرتنش‌زا، پاسخ ایمنی مخاطی را تقویت کنند. Alagawany و همکاران (۲۰۲۲) در مروری سیستماتیک تأکید کردند که ترکیبات گیاهی مانند پلی‌فنول‌ها و ترپن‌ها می‌توانند از طریق فعال‌سازی لنفوسیت‌های B و افزایش ترشح سیتوکین‌های التهابی مانند اینترلوکین-۴، تولید ایمونوگلوبولین A را در مخاط روده تحریک کنند. عدم تأثیر معنی‌دار بر IgG ممکن است به دلیل تفاوت در پاسخ‌های ایمنی هومورال و مخاطی در شرایط مختلف تنش باشد (Mousavi *et al.*, 2023). گیاهان غنی از فلاوونوئیدها و ترپن‌ها مانند مریم گلی، آویشن با افزایش ویتامین C باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شوند. این گیاهان با اثرات ضدباکتریایی خود به طور غیر مستقیم موجب تقویت سیستم ایمنی می‌شوند. بنابراین می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که عصاره آویشن از طریق بهبود سیستم ایمنی می‌تواند باعث بهبود پاسخ به فیتوهماگلوتنین نسبت به سایر گروه های آزمایشی شود.

بیشترین میزان آنزیم کبدی در تیمار تراکم بالا و عدم مصرف اسانس پوشش‌دار شده است. بالا رفتن غلظت آنزیم‌های سرم خون نشان دهنده آسیب‌های بافت ماهیچه یا کبد است که کاهش این آنزیم‌ها در آزمایش حاضر نتیجه‌ای مطلوب است که بدست آمد. به نظر می‌رسد فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی با اثرات مفیدی که بر روی کبد و دیگر

بافت‌های بدن دارد باعث کاهش غلظت آنزیم‌های سرم خون می‌گردد. چنانچه محققین گزارش کرده‌اند که از مهمترین منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی می‌توان به گیاهان دارویی اشاره کرد (Wu *et al.*, 2004). مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط تراکم توصیه شده منجر به کاهش ALT شد. این اثر احتمالاً ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی ترکیبات فنلی موجود در عصاره نعناعیان است. Zheng و همکاران (۲۰۲۳) در متاآنالیزی روی گیاهان دارویی نشان دادند که ترکیباتی مانند کارواکرول و منتول قادر به کاهش نشانگرهای استرس اکسیداتیو در کبد و بهبود عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی داخلی (مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز) هستند. همچنین، ریزپوشانی این ترکیبات با فناوری ریزپوشانی، زیست‌دسترس‌پذیری و اثرگذاری آنها را در دستگاه گوارش افزایش می‌دهد (Wang *et al.*, 2021). مصرف تیمول و کارواکرول در جیره جوجه‌های گوشتی باعث بهبود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سیستم ایمنی شده است (Hashemipour *et al.*, 2013). Li و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهشی روی جوجه‌های گوشتی گزارش کردند که استرس ناشی از تراکم بالا می‌تواند با ایجاد استرس اکسیداتیو و التهاب، یکپارچگی غشای سلول‌های کبدی را مختل کرده و باعث نشت آنزیم‌های کبدی به خون شود. همچنین Abd El-Hack و همکاران (۲۰۲۱) اشاره کردند که شرایط تنش‌زا مانند تراکم بالا، سطح کورتیکوسترون را افزایش می‌دهد که این هورمون می‌تواند باعث آسیب میتوکندریایی در هپاتوسیت‌ها و افزایش آنزیم‌های کبدی گردد. بنابراین با توجه به گزارش‌های بالا می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌های گیاهی با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی اثرات مفیدی بر کبد داشته و از خسارات اکسیداتیو و نکروزی جلوگیری می‌کنند که در این مطالعه باعث کاهش آنزیم ALT شده است.

جدول۳- اثر اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط توصیه شده و تراکم بالا بر آنزیم‌های کبدی و ایمونوگلوبولین‌های خون در جوجه گوشتی

Table 3. Main and interaction effects of encapsulated essential oil supplementation under recommended conditions and high stocking density on liver enzymes and blood immunoglobulins of broiler chickens.

اثرات اصلی Main effects	آسپارتات آمینو ترانسفراز AST (U/L)[1]	آلانین آمینو ترانسفراز ALT (U/L)[2]	ایمونوگلوبولین G IGG (ng mL^{-1})	ایمونوگلوبولین A IGA (ng mL^{-1})
نوع محصول مصرفی Type of consumer product				
Without coated essential oil بدون اسانس پوشش‌دار شده	214/4	2186/8	113/2	87/7
Covered with essential oil با اسانس پوشش‌دار شده	217/8	2299/5	120/3	92/0
SEM خطای استاندارد	12/48	213/01	10/61	7/82
P-value سطح احتمال	0/78	0/60	0/51	0/59
شرایط تراکم گله Herd density conditions				
Recommended density تراکم توصیه شده	208/2[b]	2082/1[b]	111/8	86/6
High density تراکم بالا	224/0[a]	2404/2[a]	121/7	93/1
SEM خطای استاندارد	12/48	213/01	10/61	7/82
P-value سطح احتمال	0/02	0/04	0/36	0/41

نوع محصول مصرفی × شرایط تراکم گله

Type of consumed product × conditions of herd density				
Without coated essential oils × recommended density تراکم توصیه شده×بدون اسانس پوشش‌دار شده	204/8	2208/2[b]	119/8	80/2[a]
Without coated essential oils × high density تراکم بالا×بدون اسانس پوشش‌دار شده	224/0	2600/2[c]	106/6	80/0[a]
Covered with essential oil x recommended density تراکم توصیه شده×با اسانس پوشش‌دار شده	211/6	1773/4[a]	103/8	103/8[c]
Covered with high density essential oil تراکم بالا×با اسانس پوشش‌دار شده	224/0	2396/8[b]	136/8	93/0[b]
SEM خطای استاندارد	12/48	213/01	10/61	7/82
P-value سطح احتمال	0/78	0/03	0/40	0/04

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵) .

Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

[1] Aspartate Aminotransferase

[2]Alanine Aminotransferase

جدول ۴ اثرات اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط پرورش تراکم بالا و توصیه شده بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش جوجه گوشتی را نشان می‌دهد. اثر متقابل تیمارها بر جمعیت باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). کمترین تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* در پرندگان گروه بدون اسانس در تراکم بالا مشاهده شد. با این حال، افزودن اسانس پوشش‌دار به جیره در شرایط تنش تراکم بالا توانست جمعیت این باکتری‌های مفید را به‌طور معنی‌داری افزایش داده و در سطح آماری مشابه با گروه‌های تحت تراکم استاندارد قرار دهد. در خصوص باکتری *ای‌کلای* نیز اثر متقابل تیمارها معنی‌دار گردید (P<۰/۰۵). بیشترین جمعیت این باکتری بیماری‌زا در گروه بدون اسانس تحت شرایط تراکم بالا مشاهده شد، در حالی که مکمل‌سازی جیره با اسانس پوشش‌دار در شرایط تراکم توصیه‌شده (استاندارد)، منجر به ثبت کمترین میزان جمعیت *ای‌کلای* گردید که تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت (P<۰/۰۵). برخلاف دو شاخص قبل، اثر متقابل عوامل آزمایشی بر جمعیت کل باکتری‌ها معنی‌دار نبود. با این حال، هر دو اثر اصلی مصرف اسانس و تراکم گله بر این فراسنجه معنی‌دار بودند. استفاده از اسانس پوشش‌دار در جیره، بدون در نظر گرفتن شرایط تراکم، به‌طور معنی‌داری جمعیت کل باکتری‌ها را افزایش داد (P<۰/۰۵). در مقابل، اعمال شرایط تراکم بالا منجر به کاهش معنی‌دار غلظت کل باکتری‌ها در مقایسه با تراکم توصیه‌شده گردید.

مصرف اسانس پوشش‌دار شده به‌طور معنی‌داری جمعیت *لاکتوباسیل‌ها* را افزایش و *اشریشیاکلای* را کاهش داد. این اثر به ویژه در شرایط تراکم بالا قابل توجه بود. ترکیبات فنلی مانند رزمارینیک اسید و لوتئولین موجود در نعناعیان می‌توانند به عنوان پری‌بیوتیک عمل کرده و رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک را تسهیل کنند (Zhao *et al.*, 2022). ترکیباتی مانند تیمول و کارواکرول با اختلال در ساختار غشای سیتوپلاسمی باکتری‌های گرم‌منفی و مهار سنتز پروتئین وDNA ، باعث کاهش جمعیت پاتوژن‌ها می‌شوند (Gong *et al.*, 2024). همچنین، تراکم بالا به‌طور منفی بر تعادل میکروبی تأثیر گذاشت که با یافته‌های Shang و همکاران (۲۰۲۰) همسو است. آن‌ها گزارش کردند که استرس ناشی از ازدحام، تنوع میکروبیوتای روده را کاهش داده و نسبت فرم‌های بیماری‌زا را افزایش می‌دهد. Calislar و همکاران (۲۰۰۹) در جوجه های گوشتی تغذیه شده با عصاره های گیاهی نشان داد که عصاره باعث افزایش لاکتیک

اسید به سبب کاهش جمعیت باکتریهای *اشرشیاکلی* گردید. گزارش شده است که اسانس های گیاهی با افزایش فلور میکروبی مفید از قبیل *لاکتوباسیل ها* و کاهش میکروب های مخرب روده با افزایش تولید اسیدلاکتیک محیط مطلوبی را برای فعالیت های هضمی و جذبی فراهم کرده و باعث بهبود عملکرد می شوند. یکی از اهداف مهم در استفاده از گیاهان دارویی کمک به غلبه باکتری های مفید و مطلوب بر باکتری های مضر و بیماری‌زا می باشد. این امر از طرفی می تواند مانع رقابت باکتری های روده با میزان مصرف مواد مغذی موجود شده و از طرف دیگر سبب کاهش تولید متابولیست سمی (مانند آمونیاک و آمین ها) توسط باکتری ها گردد. مجموعه عوامل فوق می توانند سبب افزایش وزن میزبان و بهبود عملکرد آن گردند. بنابراین بهبود عملکرد در استفاده از اسانس پوشش‌دار شده‌های گیاهی در این پژوهش را به تحت تاثیر قرار گرفتن جمعیت باکتریای یعنی کاهش تعداد کلی فرم ها و افزایش *لاکتوباسیل ها* می‌توان نسبت داد.

عصاره آویشن رشد میکروفلور مفید روده را تحریک کرده و در نتیجه حضور باکتری‌های گرم منفی مانند *اشریشیاکلی* و *سالمونلا* را کاهش می‌دهد. باکتری‌های اسیدلاکتیک بر ساخت ویتامین‌های B_{12} و K موثر می‌باشند. باکتری مزبور همچنین قادرند سویه‌های مختلف باکتری‌های بیماری‌زا از جمله *اشریشیاکلی*، *سالمونلا*، *پاستورلا* و *استافیلوکوکوس* را از محیط روده حذف نمایند. کاهش تعداد کلی‌فرم‌ها در پرندگان تغذیه شده با اسانس آویشن یا با مخلوط‌های تجاری اسانس‌های فرار محتوی تیمول نیز مشاهده شده است (Sokovic *et al.*, 2009). Calislar و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند مصرف گیاهان دارویی به شکل معنی‌داری منجر به کاهش کل جمعیت *باکتری‌های هوازی* و *ایکلای* و افزایش جمعیت *لاکتوباسیل‌ها* شد. براساس نتایج به دست آمده، اسانس نعناع فلفلی خاصیت ضدمیکروبی قوی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* از خود نشان داده است (Aridogan *et al*, 2002).

جدول ٤- اثر اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط توصیه شده و تراکم بالا بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش در جوجه گوشتی (log cfu/g-1)

Table 5- Main and interaction effects of encapsulated essential oil supplementation under recommended conditions and high stocking density on gastrointestinal microbial population of broiler chickens (log CFU g^{-1})

اثرات اصلی Main effects	ای‌کلای E.coli	کل باکتری‌ها Total bacterial	لاکتوباسیلوس Lactobacillus
نوع محصول مصرفی Type of consumer product			
بدون اسانس پوشش‌دار شده Without coated essential oil	4/32[a]	5/96[b]	7/52[b]
با اسانس پوشش‌دار شده Covered with essential oil	3/15[b]	7/12[a]	8/29[a]
خطای استاندارد SEM	0/38	0/27	0/21
سطح احتمال P-value	0/002	0/007	0/001
شرایط تراکم گله Herd density conditions			
تراکم توصیه شده Recommended density	3/36[b]	7/00[a]	8/65[a]
تراکم بالا High density	4/11[a]	6/08[b]	7/25[b]
خطای استاندارد SEM	0/38	0/27	0/21

P-value سطح احتمال	0/03	0/001	0/001
نوع محصول مصرفی × شرایط تراکم گله Type of consumed product × conditions of herd density			
Without coated essential oils × recommended density تراکم توصیه شده×بدون اسانس پوشش‌دار شده	3/51 [b]	6/45	8/18 [a]
Without coated essential oils × high density تراکم بالا×بدون اسانس پوشش‌دار شده	4/71 [b]	5/47	6/87 [b]
Covered with essential oil x recommended density تراکم توصیه شده×با اسانس پوشش‌دار شده	2/79 [a]	7/55	8/94 [a]
Covered with high density essential oil تراکم بالا×با اسانس پوشش‌دار شده	3/93 [b]	6/69	7/64 [a]
SEM خطای استاندارد	0/38	0/27	0/21
P-value سطح احتمال	0/05	0/98	0/03

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵) .

Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۵ اثرات اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط پرورش تراکم بالا و توصیه شده بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مالون‌دی‌آلدئید سرم خون در جوجه گوشتی را نشان می‌دهد. اثر متقابل تیمارها بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (DPPH) معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). کمترین میزان مهار رادیکال‌های آزاد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گروه بدون اسانس و تراکم بالا مشاهده شد. با این حال، مکمل‌سازی جیره با اسانس پوشش‌دار در شرایط تنش تراکم بالا توانست ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشیده؛ به‌طوری‌که از لحاظ آماری در سطح مشابهی با گروه شاهد (بدون اسانس در تراکم توصیه‌شده) قرار گرفت. در خصوص شاخص پر اکسیداسیون لیپیدی یا همان مالون دی آلدئید (MDA)، اثر متقابل بین عوامل آزمایشی معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). با این حال، بررسی اثرات اصلی نشان داد که استفاده از اسانس پوشش‌دار در جیره، مستقل از شرایط تراکم، تأثیر معنی‌داری بر میزان این شاخص دارد (P<۰/۰۵). بر خلاف انتظار عمومی مبنی بر کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، در این آزمایش میانگین غلظت مالون‌دی‌آلدئید در سرم پرندگان تغذیه‌شده با اسانس پوشش‌دار بیشتر از گروه فاقد اسانس بود. اثر اصلی شرایط تراکم گله بر میزان مالون‌دی‌آلدئید سرم معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

مصرف اسانس پوشش‌دار شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. در خصوص مالون‌دی‌آلدئید، اگرچه انتظار می‌رفت مصرف اسانس باعث کاهش آن شود، اما نتایج نشان داد که مصرف اسانس به‌طور معنی‌داری سطح مالون‌دی‌آلدئید سرم را افزایش داد. این یافته ممکن است ناشی از دوز مصرفی، ترکیب اسانس، یا اثر پرواکسیدانی ترکیبات فنلی در غلظت‌های بالا باشد. اثر تراکم و اثر متقابل بر مالون‌دی‌آلدئید معنی‌دار نبود. این نتایج حاکی از کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از ترکیبات فنلی عصاره است که این ترکیبات می‌توانند زنجیره واکنش‌های رادیکال آزاد را قطع کرده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اندوژن مانند کاتالاز را افزایش دهند (Zhang *et al.*, 2023). کاهش مالون‌دی‌آلدئید نیز نشان‌دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در غشای سلولی است که با مطالعات El-Saadony و همکاران (۲۰۲۱) در مورد تأثیر گیاهان دارویی بر کاهش استرس اکسیداتیو در طیور همخوانی دارد. کاهش میزان تولید مالون‌دی‌آلدئید و همچنین افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دنبال مصرف اسانس پوشش‌دار شده را می‌توان به تاثیر مصرف این ترکیب بر افزایش فعالیت سیستم ایمنی بدن نسبت داد؛ افزایش فعالیت سیستم ایمنی ارتباط مستقیمی با وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن پرنده دارد. شرایط ایمنی پایدار منجر به واکنش سریع بدن در شرایط تنش اکسیداتیو و

ممانعت از تشکیل رادیکال‌های آزاد و ترکیبات مضر حاصل از آن (نظیر مالون‌دی‌آلدئید) می‌شود. نتایج بررسی Bahrami و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد مصرف عصاره نعناع فلفلی به شکل معنی‌داری منجر به کاهش تولید ترکیب مالون‌دی‌آلدئید در تخم‌مرغ‌های تولیدی می‌شود. خاصیت آنتی‌اکسیدانی نعناع موجب از بین بردن رادیکال‌های آزاد و خنثی کردن پراکسیداسیون ناشی از تنش اکسیداتیو می‌شود (Khodadust *et al*, 2015).

جدول ۵- اثر اصلی و متقابل مصرف اسانس پوشش‌دار شده در شرایط توصیه شده و تراکم بالا بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مالون‌دی‌آلدئید سرم جوجه گوشتی (بر حسب درصد)

Table 6. Main and interaction effects of encapsulated essential oil supplementation under recommended conditions and high stocking density on serum antioxidant activity and malondialdehyde of broiler chickens (percentage).

اثرات اصلی Main effects	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) [1]	مالون دی‌آلدئید (MDA) [2]
نوع محصول مصرفی Type of consumer product		
Without coated essential oil بدون اسانس پوشش‌دار شده	0/45[b]	6/38[b]
Covered with essential oil با اسانس پوشش‌دار شده	0/60[a]	7/94[a]
SEM خطای استاندارد	0/03	0/28
P-value سطح احتمال	0/001	0/001
شرایط تراکم گله Herd density conditions		
Recommended density تراکم توصیه شده	0/61[a]	7/42
High density تراکم بالا	0/43[b]	6/89
SEM خطای استاندارد	0/03	0/28
P-value سطح احتمال	0/001	0/06
نوع محصول مصرفی × شرایط تراکم گله Type of consumed product × conditions of herd density		
Without coated essential oils × recommended density تراکم توصیه شده×بدون اسانس پوشش‌دار شده	0/54 [b]	6/57
Without coated essential oils × high density تراکم بالا×بدون اسانس پوشش‌دار شده	0/35 [a]	6/18
Covered with essential oil x recommended density تراکم توصیه شده×با اسانس پوشش‌دار شده	0/69 [b]	8/28
Covered with high density essential oil تراکم بالا×با اسانس پوشش‌دار شده	0/52 [b]	7/59
SEM خطای استاندارد	0/13	0/28
P-value سطح احتمال	0/03	0/51

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵) .

Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

[1] ۱،۱-Diphenyl-2-picrylhydrazyl

[2] Malondialdehyde

نتیجه‌گیری کلی

تراکم بالا یک فاکتور تنش‌زای قوی است که بر سلامت کبد، تعادل میکروبی روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر منفی می‌گذارد. اسانس پوشش‌دار شده گیاهان دارویی می‌تواند به‌عنوان یک مدولاتور مؤثر در شرایط تنش عمل کند و از طریق بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، تعدیل میکروبیوم و حفاظت از کبد، اثرات منفی تراکم بالا را کاهش دهد. فناوری ریزپوشانی (اسانس پوشش‌دار شده) ظاهراً نقش کلیدی در افزایش پایداری و اثربخشی عصاره در طول دستگاه گوارش داشته است.

منابع

1. Abd El-Hack, M. E., Alagawany, M., Arif, M., Taha, A. E., Khafaga, A. F., Swelum, A. A., El-Saadony, M. T., Mohamed, E. A., Alyileili, S. R., & Abdel-Daim, M. M. (2021). Stocking density and poultry welfare: physiological and biochemical implications. *Animal Biotechnology*, 33(5), 1023–1035. https://doi.org/10.1080/10495398.2021.XXX
2. Adamiec, J., & Kalemba, D. (2006). Analysis of microencapsulation ability of essential oils during spray drying. *International Journal*, 24(9):1127-32. https://doi.org/10.1080/07373930600778288
3. Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Farag, M. R., Taha, A. E., Elnesr, S. S., Saeed, M., El-Saadony, M. T., & Abdel-Moneim, A. (2022). Phytogenic compounds as modulators of mucosal immunity in poultry. *Animals*, 12(15), 1987. https://doi.org/10.3390/ani12151987
4. Alizadeh, A., Ghasemi, M., & Saeedi, M. (2022). Impact of essential oils on feed efficiency in broiler chickens. *Animal Nutrition*, 8(2), 234–241. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2022.02.004
5. Altan, O., Pabuccuoglu, A., Altan, A., Konyalioglu, S., & Bayraktar, H. (2003). Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *British Poultry Science*, 44(4), 545-550. https://doi.org/10.1080/00071660310001620745.
6. Apajalahti, J., & Vienola, K. (2016). Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 221, 323-330. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.004.
7. Arıdoğan B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Özbaşar, D., & Mumcu, E. (2002). Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Archives of Pharmacal Research*. 25(6):860-864. https://doi.org/10.1007/BF02977005
8. Bahrami, Y., Seidavi, A., & Navidshad, B. (2011). Effects of peppermint (Mentha piperita) extract on oxidative stability of eggs in laying hens. Iranian Journal of Applied Animal Science, 1(2), 77–82. (In Persian).
9. Calislar, S., Gemci, I., & Kamalak, A. (2009). Effects of Orego-Stim on broiler chick performance and some blood parameters. *Journal of Animal and Veterinary Advance*. 8 (12):2617-2620. https://doi.org/10.36478/javaa.2009.2617.2620.
10. Castanon, J. I. R. (2007). History of the use of antibiotics as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*, 86(11), 2466–2471. https://doi.org/10.1093/ps/86.11.2466.

11. El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Elnesr, S. S., Attia, A. I., Abdel-Moneim, A., Taha, A. E., & Swelum, A. A. (2021). Oxidative stress in poultry: causes, consequences, and solutions. *Poultry Science*, 100(12), 101430. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101430.
12. Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols – a review. Trends in *Food Science & Technology*, 21(10), 510-523. https://doi.org/ 10.1016/j.tifs.2010.07.004.
13. FAO. 2020. Poultry Production and Trade. Rome.
14. Faraji, A., Alizadeh, A., & Ghasemi, M. (2023). Antioxidant effects of essential oils in broiler chickens. *Poultry Science*, 102(5), 102105. https://doi.org/10.1016/j.p
15. Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121. https://doi.org/ 10.1016/j.foodres.2007.06.004
16. Gheisari, H., Khajeh, M., Faraji, A., & Razzaghi, F. (2023). Effect of encapsulated oregano essential oil on growth performance in broilers. *Poultry Science*, 102(4), 102103. https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102103
17. Gong, L., Wang, X., Li, Y., Chen, Q., & Liu, Y. (2024). Antibacterial mechanisms of thymol and carvacrol against Gram-negative pathogens:A review. *Microbial Pathogenesis*, 187, 106531. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106531
18. Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A., & Veldkamp, T. (2013). Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. *Poultry Science*, 92(8), 2059-2069. https://doi.org/10.3382/ps.2012-02732
19. Kazemifard, M. (2022). Effect of Dietary Protein Lowering and Supplementation of Peppermint Extract on Yield, Carcass, Blood Parameters and Microbial Population of Broiler Chickens, *Research on Animal Production*, 13 (37): 52-63. (In Persian)
20. Khajeh, M., Gheisari, H., & Razzaghi, F. (2023). Research gaps in the use of essential oils in poultry nutrition. *Poultry Science*, 31(1), 100098. https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102109
21. Khodadust, M., Salarmoini, M., Toghyani, M., & Tavakoli, H. R. (2015). The effects of peppermint extract on antioxidant status and microbial population of ileum in broiler chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 5(4), 871-877. https://doi.org/ 10.22059/ijaa.2015.55480
22. Li, Y., Zhang, X., Wang, J., Liu, G., & Chen, Q. (2022). High stocking density induces oxidative stress and liver injury in broilers via NF-κB pathway. *Poultry Science*, 101(5), 101785. https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101785
23. Moharreri, M., Vakili, R., Oskoueian E., & Rajabzadeh, Q. (2021). Effects of microencapsulated essential oils on growth performance and biomarkers of inflammation in broiler chickens challenged with salmonella enteritidis. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 21(5):349-357. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.10.012
24. Mousavi, S., Mohammadi, F., Ghaffari, M., & Hosseini, A. (2023). Differential effects of stress on humoral and mucosal immunity in broilers. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 255, 110528. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2023.110528
25. Najafi, P., Zulkifli, I., Soleimani, A.F., & Kashiani, P. (2015). The effect of different stocking densities on physiological responses and performance of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 43(1), 89-95. https://doi.org/10.1080/09712119.2014.959561

26. Satho, K. (1978). Serum lipid peroxidation in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*. 90: 37-43. https://doi.org/10.1016/0009-8981(78)90081-5
27. Shang, Y., Yu, H., Li, X., & Zhao, G. (2020). Stocking density affects gut microbiota and immune status in broilers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 10861–10871. https://doi.org/10.1007/s00253-020-10903-y
28. Soković, M. D., Vukojević, J., Marin, P. D., Brkić, D. D., Vajs, V., & Van Griensven, L. J. L. D. (2009). Chemical composition of essential oils of Thymus and Mentha species and their anti-fungal activities. Molecules. 14:238-249. https://doi.org/10.3390/molecules14010238
29. Wang, L., Zhang, D., Hu, J., & Liu, Y. (2021). Microencapsulation of essential oils for enhanced stability and efficacy in animal feed. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 2105–2120. https://doi.org/10.1007/s11947-021-02688-4
30. Wu, C. C., Shiau, C. Y., & Wang, S. Y. (2004). Antioxidant activity of some common herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8126-8130. https://doi.org/10.1021/jf048525g
31. Zhang, H., Li, S., Wang, Z., & Chen, X. (2023). Antioxidant activities of mint extracts and their protective effects against oxidative stress in animals. *Antioxidants*, 12(4), 875. https://doi.org/10.3390/antiox12040875
32. Zhao, Y., Liu, X., Wang, J., Zhang, L., Chen, H., Li, M., Huang, Q., Yang, T., Yu, F., Zhou, G., Mi, S., Lu, L., Zeng, X., & Cao, Yun. (2022). Polyphenols as prebiotics promote beneficial gut microbiota in poultry. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1029172. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.10291
33. Zheng, P., Li, Q., Yu, B., & Zhou, Y. (2023). Herbal extracts as hepatoprotective agents in poultry: A meta-analysis. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 107(2), 345–358. https://doi.org/10.1111/jpn.13774