

تأثیر افزودن عصاره برگ زیتون (*Olea europaea* L.) و آلفا-توکوفریل استات در جیره بر عملکرد و ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی از سن ۷ تا ۲۸ روزگی

محمد جواد آگاه^{۱*} - حسن نصیری مقدم^۲ - ابوالقاسم گلپان^۳ - احمدرضا راجی^۴ - رضا فرهوش^۵ - اصغر زربان^۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۳/۲۱

چکیده

این آزمایش با هدف بررسی اثر افزودن آلفا-توکوفریل استات، عصاره برگ زیتون و پودر برگ زیتون به‌عنوان افزودنی خوراکی بر عملکرد و ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی انجام شد. برای این منظور ۱۲۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ از سن ۷ تا ۲۸ روزگی به‌صورت تصادفی در پنج تیمار آزمایشی تقسیم شدند. برای هر تیمار، شش تکرار با ۴ پرنده در هر قفس در طول دوره مطالعه در نظر گرفته شد. تیمارها شامل، یک گروه کنترل منفی تغذیه شده با جیره بر پایه ذرت و کنجاله سویا بدون افزودنی خوراکی، یک گروه کنترل مثبت تغذیه شده با جیره پایه همراه با ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آلفا-توکوفریل استات، یک گروه آزمایشی تغذیه شده با جیره پایه همراه با ۱۰ گرم در کیلوگرم پودر برگ زیتون و دو گروه آزمایشی باقیمانده با جیره پایه همراه با ۱۲۰ یا ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون تغذیه شدند. جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون بیشترین میانگین اضافه وزن روزانه را داشتند. درصد لاشه خالی و درصد سینه به‌طور معنی‌داری برای جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی پودر و یا عصاره برگ زیتون در مقایسه با جیره کنترل منفی بالاتر بود. گنجاندن برگ و عصاره برگ زیتون در جیره منجر به کاهش معنی‌دار طول نسبی دئودنوم گردید. طول پرز، عمق کریپت، ضخامت اپیتلیوم و سطح جذب پرزها در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی پودر و یا عصاره برگ زیتون نسبت به جیره کنترل منفی افزایش یافت. استفاده از عصاره برگ زیتون به‌عنوان یک افزودنی خوراکی در جیره ممکن است بر عملکرد جوجه‌ها و سلامت دستگاه گوارش تأثیر گذار باشد. هرچند که آزمایشات پیش‌تری برای روشن کردن مکانیسم‌های زیربنایی افزایش عملکرد رشد در جوجه‌های گوشتی بوسیله پودر و یا عصاره برگ زیتون، مورد نیاز است

واژه‌های کلیدی: جوجه گوشتی، ریخت‌شناسی روده، عصاره برگ زیتون، عملکرد

مقدمه

محرک رشد در تولید جوجه‌های گوشتی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. از آن جمله می‌توان به پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها، اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی اشاره کرد. در سال‌های اخیر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین‌های محرک رشد توجه ویژه‌ای را به خود معطوف کرده‌اند، اما هنوز مطالعات پیش‌تری برای استفاده بهینه از آن‌ها مورد نیاز است. گرچه نحوه عمل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به‌طور کامل روشن نیست، اما فرضیه‌های مختلفی در این مورد پیشنهاد شده است. فرضیه اصلی آزمایش شده اثر ضد میکروبی می‌باشد، با این حال تغییرات بافت‌شناسی در حفره گوارشی، تنظیم پاسخ‌های ایمنی، تحریک فعالیت آنزیم‌های گوارشی و یا اثرات آنتی‌اکسیدانی نیز می‌توانند به‌عنوان سایر مکانیسم‌های تأثیرگذار مطرح شوند (۱). وجود عوامل استرس‌زای محیطی در سیستم‌های پرورش متراکم، شرایطی را در ارگانیزم بوجود می‌آورد که منجر به پیشرفت و شدت بیماری‌های مختلف می‌شود. بسیاری از

استفاده از گیاهان و ادویه‌جات در تغذیه انسان و حیوانات از سالیان متمادی مرسوم بوده است. امروزه، به‌دلیل بروز نگرانی در مورد توسعه بالقوه باکتری‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک، صنایع تولید خوراک حیوانی در معرض افزایش فشار مصرف‌کنندگان برای کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد^۷ در جیره‌های طیور می‌باشند (۱۰). بنابراین ترکیبات مختلفی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های

^{۱، ۲} دانشجوی دکتری و استادان گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه

فردوسی مشهد

^۴ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

^۵ دانشیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

(Email: agah@farsagres.ir)

*-نویسنده مسئول:

۱۰ یا ۲۰ گرم در کیلوگرم به‌عنوان یک ماده افزودنی در جیره بلدرچین تخم‌گذار به مدت ۲۹ روز، منجر به بیشتر شدن درصد تخم‌گذاری ($p=0/054$) گردید (۱۲). اما نقش پودر و عصاره برگ زیتون به‌عنوان یک منبع افزودنی خوراکی گیاهی در جیره جوجه‌های گوشتی در هفته‌های اول دوره پرورش که جوجه‌ها حساسیت بالاتری نسبت به شرایط تنش‌زای محیطی دارند، بررسی نشده است. هدف از انجام این تحقیق ارزیابی و مقایسه اثرات جیره‌های غذایی مکمل شده با سطوح مختلف پودر و یا عصاره برگ زیتون در مقایسه با آلفا-توکوفرل استات بر روی شاخص‌های عملکردی و ریخت‌شناسی روده کوچک در دوره آغازین و اوایل دوره رشدی جوجه‌های گوشتی است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری، شناسایی، تعیین ترکیبات شیمیایی و تهیه عصاره از برگ گیاه زیتون

برگ‌های گیاه زیتون از درختان رقم زر (۱۴ ساله) ایستگاه تحقیقاتی زیتون شهرستان کازرون در بهمن ۱۳۸۹ جمع‌آوری شد. برگ‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط سایه خشک شده و با استفاده از آسیاب مکانیکی با قطر ۰/۵ میلی‌متر آسیاب شدند. ترکیب شیمیایی پودر خشک برگ زیتون مطابق راهنمای آنالیز تقریبی AOAC (۶) اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

آماده‌سازی و تهیه عصاره از برگ زیتون به‌منظور دستیابی به بیشترین مقدار ترکیبات فنلی از جمله اولئوروپین مطابق روش آمارال و همکاران (۵) انجام شد. به این صورت که ۶۰ گرم پودر برگ خشک زیتون در یک ارلن مایر ریخته و بر روی آن ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال متانول / آب (نسبت ۴ به ۱) اضافه شده و به‌مدت ۲۴ ساعت تحت شرایط تاریکی و تلاطم قرار گرفت. سپس عصاره حاصل با کاغذ صافی واتمن $0/45 \mu m \times 47 \text{mm}$ فیلتر گردید. در نهایت مواد فیلتر شده در یک تبخیرکننده چرخشی تحت خلاء^۷ غلیظ شده و در آون با دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی برای انجام آزمایشات برون‌تنی و درون‌تنی (در جیره غذایی جوجه‌ها) نگهداری شد.

اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد^۱، ۱ دی فنیل-۲-پیکرل هیدرازیل (DPPH)^۲

تعیین ناپدید شدن رادیکال‌های آزاد از جمله ۱، ۱ دی فنیل-۲-پیکرل هیدرازیل یک روش ثابت شده و سریع به‌منظور بررسی فعالیت

اثرات منفی استرس اکسیداتیو می‌تواند با رژیم‌های غذایی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ویتامین‌ها و سایر ترکیبات غیرمغذی آنتی‌اکسیدانی از جمله فلاونوئیدها، کاهش یابد (۲).

برگ‌های تازه درخت زیتون به‌عنوان یک پس‌ماند کشاورزی پس از برداشت محصول، حاوی حدود ۱۰ درصد ترکیبات پلی‌فنلی بوده و بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت گیرندگی رادیکال‌های آزاد را در بین بخش‌های مختلف درخت زیتون دارند. ترکیبات عمده عصاره برگ زیتون شامل: اولئوروپسیدها^۱ (اولئوروپین^۲ و ورباسکوسید)؛ فلاون‌ها^۳ (لوتئولین-۷-گلوکوسید، آپیجین-۷-گلوکوسید، دیوسمتین-۷-گلوکوسید، لوتئولین و دیوسمتین)؛ فلاونول‌ها^۴ (روتین)؛ فلاوان-۳-اول‌ها^۵ (کتکین)؛ فنل‌ها (تیروزول، هیدروکسی تیروزول، وانیلین، وانیلیک اسید و کافئیک اسید) و توکوفرول می‌باشد (۸). اولئوروپین به‌عنوان فراوان‌ترین ترکیب عصاره برگ زیتون دارای فعالیت ضد میکروبی بر علیه ویروس‌ها، باکتری‌ها، مخمرها، قارچ‌ها، کپک‌ها و سایر پارازیت‌ها می‌باشد و به مقدار زیاد (۶۰ تا ۹۰ میلی‌گرم) در هر گرم برگ خشک زیتون وجود دارد. پس از آن هیدروکسی تیروزول با ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن تا ۱۰ برابر جای سبز و با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی قوی می‌باشد (۸). گرچه مطالعات متعدد اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی افزودنی‌های خوراکی گیاهی را در شرایط برون‌تنی نشان داده‌اند، اما مطالعات درون‌تنی صورت گرفته هنوز هم بسیار محدود است (۳۳). از جمله در آزمایش مولینا‌الکائید و همکاران (۲۳) استفاده از برگ زیتون در جیره بزها و گوسفندان راندامان سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه را افزایش داده و در دام‌های شیرده منجر به بهبود کیفیت چربی شیر تولیدی گردید. نتایج به‌دست آمده از تحقیق دکانسکی و همکاران (۱۴) نشان داد که پتانسیل عصاره برگ زیتون در جلوگیری از آسیب مخاط معده در موش‌های صحرائی تحت استرس تغذیه‌ای، احتمالاً مربوط به توانایی آن برای حفظ یکپارچگی غشای سلولی به‌وسیله فعالیت ضد پراکسیداسیون چربی می‌باشد، که نقش حفاظتی از مخاط معده در برابر آسیب اکسیداتیو را داشته و در نتیجه توانایی تقویت سد مخاطی^۶ به‌عنوان اولین خط دفاعی در مقابل عوامل مخرب مخرب بیرونی دستگاه گوارش را دارد. در تحقیق گواریس و همکاران (۱۶) نیز گنجاندن ۱ درصد برگ زیتون در جیره بوقلمون، اکسیداسیون چربی در فیله گوشت سینه نگهداری شده در یخچال را به مدت ۱۲ روز به تأخیر انداخت. کاربرد پودر برگ زیتون در سطح

- 1 - Oleuropeosides
- 2 - Oleuropein
- 3 - Flavones
- 4 - Flavonols
- 5 - Flavan-3-ols
- 6 - Mucosal barrier

7 - Rotavapor R-114, Buchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland

8- 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

سویه راس ۳۰۸ سال ۲۰۰۷ فرموله شد، تغذیه شدند. در سن ۷ روزگی کلیه پرندوها پس از وزن‌کشی انفرادی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به پنج گروه آزمایشی تقسیم شده و در ۶ تکرار قفسی هر کدام با ۴ جوجه با میانگین وزن مشابه قرار داده شدند.

جیره‌های آزمایشی (جدول ۲) از نظر انرژی و پروتئین مشابه بوده و با افزودن آلفا-توکوفریل استات و یا سطوح مختلف عصاره و برگ زیتون به جیره پایه در قالب پنج تیمار زیر تهیه شدند: جیره پایه بدون افزودن آلفا-توکوفریل استات (کنترل منفی)؛ جیره پایه با افزودن ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آلفا-توکوفریل استات (کنترل مثبت)؛ جیره پایه با افزودن ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون؛ جیره پایه با افزودن ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون و جیره پایه با افزودن ۱۰ گرم در کیلوگرم پودر خشک برگ زیتون. جیره‌های فوق در طول دوره آزمایش (۷ تا ۲۸ روزگی) به مدت ۳ هفته به جوجه‌ها تغذیه شدند.

شرایط پرورش جوجه‌ها و صفات مورد بررسی

کلیه مراحل انجام این آزمایش طبق نظر انجمن حمایت از حیوانات دانشگاه فردوسی انجام شد. در تمام طول دوره آزمایش جوجه‌ها به آب و غذا دسترسی آزاد داشته و سیستم نوردهی یک ساعت تاریکی و ۲۳ ساعت روشنایی برای جوجه‌ها فراهم شد. دمای اولیه سالن ۳۲ درجه سانتی‌گراد بود که بر اساس راهنمای شرکت راس به ازای هر روز ۰/۵ درجه سانتی‌گراد کاسته شد تا در سن ۲۱ روزگی به ۲۱ درجه رسید و از آن پس ثابت ماند. میانگین خوراک مصرفی و اضافه وزن بر حسب گرم به ازای هر پرنده در روز و ضریب تبدیل غذایی برای هر گروه از جوجه‌ها برای هر هفته به‌صورت جداگانه و نیز در کل دوره پرورشی محاسبه شد. تلفات روزانه هر قفس در طول دوره وزن شده و در فرم‌های مخصوص ثبت گردید و برای تصحیح رکورد تلفات مورد استفاده قرار گرفت. شاخص تولیدی از تقسیم میانگین وزن زنده جوجه‌ها در درصد ماندگاری بر طول دوره پرورش در ضریب تبدیل غذایی به‌دست آمد. در سن ۲۸ روزگی دوره پرورش، یک پرنده از هر واحد آزمایشی با میانگین وزن واحد آزمایشی مربوطه جهت تفکیک لاشه کشتار شد. پس از تفکیک لاشه اندام‌های لنفاوی شامل: تیموس، بورس فابریسیوس و طحال، اندام‌های گوارشی مانند سنگدان، پیش‌مده، روده کوچک، سکوم، پانکراس، کبد و بخش‌های مختلف لاشه شامل: ماهیچه سینه، ران‌ها، قسمت پشت و گردن و بال‌ها و چربی حفره بطنی جدا شده و توزین گردید. هم‌چنین طول قسمت‌های مختلف روده کوچک دئودنوم (از سنگدان تا ناحیه اتصال مجاری صفراوی- لوزالمعده)، ژژونوم (از ناحیه اتصال مجاری صفراوی- لوزالمعده تا زائده مکل)، ایلیوم (از زائده مکل تا محل اتصال ایلیوم به سکوم‌ها) اندازه‌گیری و برحسب سانتی‌متر به‌ازای ۱۰۰ گرم وزن زنده محاسبه شد.

آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی است (۲۹). بنابراین برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون ابتدا محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه شد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی پودر خشک برگ زیتون (بر حسب درصد ماده خشک)
Table 1- Chemical composition of dried olive leaf powder (% dry matter)

ترکیبات Compounds	درصد Percent
ماده خشک*	95.3
Dry mater *	
پروتئین خام Crude protein	8.80
چربی خام Ether extract	2.91
فیبر خام Crude fibre	18.90
خاکستر Ash	5.10

* رطوبت برگ زیتون در زمان برداشت ۴۶/۲ درصد

*Olive leaf moisture content at harvest time 46.2 percent

سپس به لوله‌های آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر از این محلول متانولی، یک میلی‌لیتر نمونه عصاره هیدروالکلی برگ زیتون و BHT^۱ با غلظت‌های مختلف (۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد. لوله‌های آزمایش بعد از ورتکس شدن به‌مدت یک ساعت در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۲ نانومتر در برابر شاهد قرائت گردید (جذب شاهد باید حدود ۰/۷۰۰ باشد). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان نرخ ممانعت از رادیکال آزاد DPPH و بر حسب درصد (٪) از معادله زیر محاسبه شد (۷). در این فرمول I درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_C و A_S به‌ترتیب جذب شاهد و نمونه است. پس از ترسیم نمودار درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد در برابر غلظت ترکیب آنتی‌اکسیدانی، منحنی مناسب روی داده‌ها برازش داده شد و غلظتی را که ترکیب آنتی‌اکسیدانی قادر به مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد است تحت عنوان IC₅₀ محاسبه گردید.

$$I\% = (AC-AS) / AC \times 100 \quad (1)$$

جیره‌ها و طرح آزمایشی

در این تحقیق ۱۲۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ به‌مدت ۶ روز بر روی بستر با تراشه چوب با عمق ۱۰ سانتی‌متر پرورش یافتند. در این مدت کلیه جوجه‌ها با یک جیره پایه که بر اساس حداقل مقادیر مواد مغذی پیشنهاد شده در جداول احتیاجات

جدول ۲- درصد ترکیبات و مواد مغذی جیره پایه جوجه‌های گوشتی نر سویه راس ۳۰۸

Table 2- Ingredients and chemical composition of the basal diet fed to Ross 308 male broiler chickens

اجزای خوراکی Ingredients	۱ تا ۱۰ روزگی (1 to 10 d)	۱۱ تا ۲۴ روزگی (11 to 24 d)	۲۵ تا ۲۸ روزگی (25 to 28 d)
ذرت Maize	52.55	53.05	54.12
کنجاله سویا Soya bean meal	34.00	34.67	34.86
خوراک گلوتن ذرت Maize gluten feed	5.63	3.00	1.50
سنگ آهک Limestone	1.32	1.08	1.04
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.76	1.55	1.40
نمک Salt	0.36	0.47	0.42
ترئونین Threonine	0.10	0.06	0
ال- لیزین هیدروکلراید L-Lysine HCl	0.42	0.20	0
دی ال- متیونین DL-methionine	0.32	0.25	0.19
روغن ذرت فاقد آنتی‌اکسیدان Corn oil without antioxidant	3.04	5.17	5.97
مکمل ویتامینی و معدنی ^۱ Vitamin and mineral premix ¹	0.50	0.50	0.50
ترکیب محاسباتی (%) Calculated nutrient composition (%)			
انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری (kcal/kg) Metabolisable energy (Kcal/kg)	3025	3150	3200
پروتئین خام Crude protein	23.5	22.0	21.0
کلسیم Calcium	1.05	0.90	0.85
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	0.50	0.45	0.42
متیونین + سیستین Methionine + cysteine	1.07	0.95	0.86
متیونین Methionine	0.71	0.60	0.53
لیزین Lysine	1.44	1.25	1.09
سدیم Sodium	0.16	0.20	0.18

جیره‌های غذایی شامل کنترل منفی، جیره پایه بدون افزودن آلفا-توکوفرل استات، عصاره و پودر برگ زیتون؛ کنترل مثبت، جیره پایه با افزودن ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلفا-توکوفرل استات؛ یک جیره آزمایشی، جیره پایه با افزودن ۱۰ گرم در کیلوگرم پودر برگ زیتون؛ دو جیره آزمایشی باقیمانده، جیره پایه با افزودن ۱۲۰ و ۲۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره برگ زیتون. ^۱ هر کیلوگرم جیره حاوی: ویتامین A، ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی، کوله کلسیفرول، ۲۳۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۱۲۱ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K، ۲ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۱ میلی‌گرم؛ تیامین، ۴ میلی‌گرم؛ ویتامین B12، ۰/۰۲ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۴ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۰۳ میلی‌گرم؛ پیروکسین، ۴ میلی‌گرم؛ کولین کلراید، ۸۴۰ میلی‌گرم؛ منگنز، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۲ میلی‌گرم؛ ید، ۱ میلی‌گرم؛ سولفات مس، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ آهن، ۵۰ میلی‌گرم می‌باشد.

Dietary treatments included a negative control group (NC) fed a corn soybean meal based diet without feed additive supplementation, a positive control (PC) group fed a diet with 250 mg of α -tocopheryl acetate/kg, a test group OLP fed with 10 g of olive leaf powder/kg, and two test groups remaining OLE fed with 120 or 240 mg of olive leaf extract/kg. ¹Supplied per kg diet: Vitamin A, 11000 IU; vitamin D3, 2300 IU; vitamin E (as α -tocopherol), 121 IU; vitamin K, 2 mg; folic acid 1 mg; vitamin B1 (thiamine), 4 mg; vitamin B12, 0.02 mg; vitamin B2 (riboflavin), 4 mg; biotin, 0.03 mg; vitamin B6 (pyridoxine), 4 mg; choline chloride, 840 mg; Mn, 100 mg; Se, 0.2 mg; I, 1 mg; cuso₄, 100 mg; Fe, 50 mg.

ریخت‌شناسی روده کوچک

به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی مخاط ژژونوم جوجه‌ها در سن ۲۸ روزگی، به ازای هر تکرار یک جوجه با میانگین وزن واحد آزمایشی انتخاب و پس از کشتار، محتویات داخل بدن تخلیه و روده کوچک جدا شد. از نقطه میانی ژژونوم یک نمونه بافتی به ابعاد $0.5 \times 0.5 \times 0.5$ سانتی‌متر تهیه شد و با محلول سالین ۰/۹ درصد برای حذف بقایای مواد غذایی شسته و در فرمالین ۱۰ درصد برای مطالعه بافت تثبیت شد. نمونه‌های بافتی سپس در دستگاه آماده سازی خودکار بافت قرار گرفتند و با عبور از محلول ثابت کننده اضافی سه مرحله، ۱- آبگیری، با قرار دادن نمونه‌ها در محلول الکل اتیلیک با درجات صعودی، ۲- شفاف‌سازی با قرار دادن نمونه‌ها در محلول زایلان و ۳- پارافینه کردن با قرار دادن نمونه‌ها داخل پارافین مایع به‌منظور اشباع‌سازی نمونه با پارافین انجام شد. سپس نمونه‌ها از دستگاه خارج و به کمک دستگاه ذوب پارافین و قالب لوکهارت بلوک‌های پارافینی تهیه شد. نمونه‌های بافت روده با ضخامت ۵ میکرومتر با استفاده از میکروتوم نیمه اتومات^۱ بر روی اسلاید شیشه‌ای قرار گرفتند و با هماتوکسیلین-اتوزین^۲ رنگ‌آمیزی شدند. جهت هیستوموفومتری نمونه‌های بافتی از میکروسکوپ نوری المپوس^۳ استفاده گردید. اندازه‌گیری‌های هیستوموفومتری پرزهای روده بر روی ۱۰ پرز سالم انتخاب شده از هر نمونه اندازه‌گیری شد. شاخص‌های ریخت‌شناسی مورد بررسی شامل طول پرز^۴ (از نوک پرز تا محل اتصال کریپت)، عرض پرز (متوسط عرض پرز در ابتدا، وسط و انتهای پرز)، عمق غدد لیبرکون یا کریپت^۵ (از پایه پرز تا لایه زیر مخاط) اندازه‌گیری شدند و سطح جذبی پرزها نیز با استفاده از فرمول ساکاموتو و همکاران (۲۸) به شرح ذیل محاسبه شد.

$$\text{میانگین طول پرزها} \times \left(\frac{1}{2} \times \text{میانگین عرض پرزها} \right) \times (2\pi) = \text{سطح جذبی پرزها}$$

تجزیه آماری

داده‌های عملکرد و ریخت‌شناسی مخاط ژژونوم توسط نرم افزار SAS (۳۱) و با استفاده از رویه مدل خطی عمومی (GLM) در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای تعیین تفاوت‌های معنی‌دار بین میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد ($P < 0.05$).

نتایج و بحث

قدرت مهارکنندگی عصاره برگ زیتون

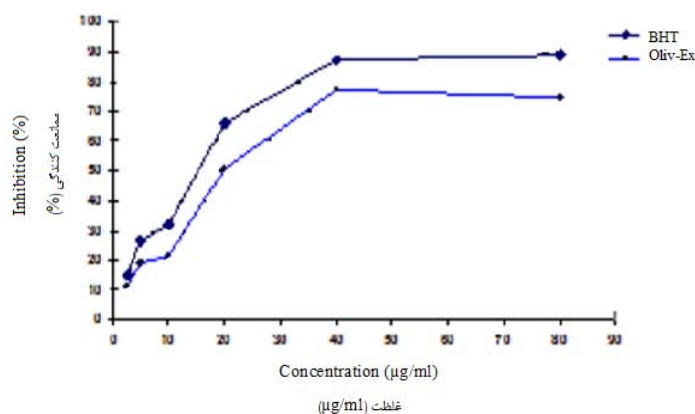
اثر مهارکنندگی عصاره متانولی برگ زیتون و BHT بر روی رادیکال آزاد استاندارد DPPH با افزایش سطح عصاره و BHT به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش یافت (شکل ۱). غلظت IC_{50} عصاره متانولی برگ زیتون و BHT بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر به‌ترتیب ۲۸/۰۲ و ۱۸/۵۱ محاسبه شد. غلظت IC_{50} کم‌تر نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر است. این نتایج نشان داد که عصاره متانولی برگ زیتون از قدرت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً بالایی برخوردار است. نتایج تحقیق رفیعی و همکاران (۲۷) نیز نشان داد که از نظر مهار رادیکال DPPH، عصاره‌های متانولی ۸۰ درصد برگ زیتون در مقایسه با عصاره‌های آبی و یا استونی آن دارای بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی بوده و با افزایش غلظت عصاره، افزایش در قدرت مهار رادیکال DPPH مشاهده شد. این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر در مورد قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون مطابقت دارد.

پارامترهای عملکردی و خصوصیات لاشه

خوراک مصرفی، اضافه وزن، ضریب تبدیل غذایی و شاخص تولیدی

تأثیر منابع آنتی‌اکسیدانی مختلف بر پارامترهای عملکردی در جدول ۳ نشان داده شده است. خوراک مصرفی پرندگان در اثر افزودن منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی به جیره آن‌ها در هیچ یک از هفته‌ها و نیز در کل دوره آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$). از نظر صفت اضافه وزن نیز در هفته اول آزمایش تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P = 0.08$)، اما بر اساس آزمون دانکن افزودن عصاره برگ زیتون در دو سطح ۱۲۰ و ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و نیز افزودن پودر برگ زیتون در سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم موجب اضافه وزن بالاتر جوجه‌ها در مقایسه با جیره بدون افزودن آنتی‌اکسیدان شاهد (کنترل منفی) شد. در هفته دوم آزمایش (۲۱-۱۵ روزگی) پرندگان تغذیه شده با جیره‌های مکمل شده با هر دو سطح عصاره برگ زیتون و نیز پودر برگ زیتون در مقایسه با جیره کنترل منفی افزایش وزن بالاتری را نشان دادند ($P < 0.05$). هر چند این روند در هفته سوم آزمایش و نیز در کل دوره معنی‌دار نشد ($P > 0.05$). اما در کل دوره آزمایشی نیز جوجه‌های تغذیه شده با عصاره متانولی و یا پودر برگ زیتون اضافه وزن بیشتری در مقایسه با جیره کنترل منفی نشان دادند، به‌طوری که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار افزایش وزن در کل دوره آزمایشی به‌ترتیب در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون و جیره کنترل منفی (۵۱/۹ در برابر ۴۶/۱ بر حسب گرم/پرنده/روز) مشاهده شد.

- 1 - Model Leica RM 2145
- 2 - Hematoxylin and Eosin
- 3 - Model U- TV0.5 XC-2, Olympus corporation, BX41
- 4 - Villi
- 5 - Crypts of lieberkühn



شکل ۱- مقایسه میزان فعالیت ممانعت کنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره برگ زیتون و BHT
Figure 1- 1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) scavenging activities of olive leaf extract (OLE) and BHT

جدول ۳- تأثیر منابع آنتی اکسیدانی مختلف در جیره بر مصرف خوراک، اضافه وزن، ضریب تبدیل غذایی و شاخص تولیدی جوجه‌های گوشتی از سن ۷ تا ۲۸ روزگی

Table 3- Effect of dietary different antioxidant sources on the feed intake, body weight gain, feed conversion and production efficiency index of broiler chickens from 7 to 28 days of age

دوره آزمایشی Trial period	جیره‌های آزمایشی Experimental diets ¹					SEM
	NC	PC	OLE1	OLE2	OLP	
	خوراک مصرفی (گرم/پرند/روز) Feed intake (g/bird/d)					
هفته اول (۷-۱۴ روزگی) (7 to 14 d)	34.41 ^b	35.97 ^{ab}	40.02 ^{ab}	37.91 ^{ab}	43.67 ^{ab}	1.16
هفته دوم (۱۵-۲۱ روزگی) (15 to 21 d)	94.14	96.81	108.61	101.05	98.49	3.33
هفته سوم (۲۲-۲۸ روزگی) (22 to 28 d)	97.69	97.08	90.37	101.04	95.21	2.28
کل دوره (۷-۲۸ روزگی) Total period (7 to 28 d)	75.42	76.62	79.67	79.98	79.13	1.26
	افزایش وزن (گرم/پرند/روز) Daily gain (g/bird/d)					
هفته اول (۷-۱۴ روزگی) (7 to 14 d)	22.80 ^b	25.47 ^{ab}	26.23 ^a	26.49 ^a	26.07 ^a	0.44
هفته دوم (۱۵-۲۱ روزگی) (15 to 21 d)	42.06 ^c	43.38 ^{bc}	48.62 ^a	50.87 ^a	47.81 ^{ab}	0.72
هفته سوم (۲۲-۲۸ روزگی) (22 to 28 d)	73.57	76.85	74.50	78.34	75.10	1.40
کل دوره (۷-۲۸ روزگی) Total period (7 to 28 d)	46.14 ^b	48.57 ^{ab}	49.79 ^{ab}	51.90 ^a	49.66 ^{ab}	0.68
	ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio					
هفته اول (۷-۱۴ روزگی) (7 to 14 d)	1.53	1.41	1.53	1.43	1.68	0.05
هفته دوم (۱۵-۲۱ روزگی) (15 to 21 d)	2.23	2.24	2.23	2.00	2.07	0.07
هفته سوم (۲۲-۲۸ روزگی) (22 to 28 d)	1.34	1.27	1.22	1.29	1.27	0.03
کل دوره (۷-۲۸ روزگی) Total period (7 to 28 d)	1.65	1.60	1.61	1.54	1.60	0.03
	شاخص تولید Production efficiency index					
کل دوره (۷-۲۸ روزگی) Total period (7 to 28 d)	312	333	336	359	353	11.73

میانگین‌های هر ردیف که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

Means in the same row with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

¹NC = negative control: basal diet without feed additive supplementation; PC = positive control: basal diet + α -tocopheryl acetate (250 mg/kg); OLE1 = basal diet + olive leaf extract (120 mg/kg); OLE2 = basal diet + olive leaf extract (240 mg/kg); OLP = basal diet + olive leaf powder (10 g/kg).

کاهش فعالیت میکروبی در مواد هضمی و یا کاهش فعالیت آن‌ها در سطح پرزها و نیز کنترل عفونت‌های ناشی از کلستری‌دیوم پرفرینجنس و سایر باکتری‌های مضر همراه با کاهش تحریک سیستم ایمنی موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی شده باشند. یافته‌های فوق در مورد افزایش معنی‌دار افزایش وزن روزانه، بهبود عددی ضریب تبدیل غذایی و عدم تأثیر بر خوراک مصرفی و درصد تلفات با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

اما در تحقیق بوتسولگو و همکاران (۹) میانگین افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی بوقلمون‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح ۰/۵ و ۱ درصد پودر برگ زیتون تفاوت معنی‌داری با جیره شاهد نشان نداد. این مسئله مشخص می‌کند که گنجاندن پودر برگ زیتون به جیره‌ها هیچ‌گونه اثر معکوسی بر روی نرخ رشد بوقلمون‌ها نداشته است. در تحقیقی دیگر نیز استفاده از سطوح مختلف پودر برگ زیتون در جیره جوجه‌های گوشتی از سن ۱ تا ۴۲ روزگی در شرایط دمایی معمول پرورش و شرایط تنش سرمایی تأثیر معنی‌داری بر میانگین صفات وزن زنده، خوراک مصرفی، ضریب تبدیل غذایی و درصد تلفات کل دوره نداشت ($P > 0.05$). این در حالی است که اختلاف میانگین درصد تلفات و شاخص تولیدی در شرایط تنش سرمایی معنی‌دار شد. بهترین شاخص تولیدی و کمترین درصد تلفات در جوجه‌هایی دیده شد که جیره‌شان حاوی ۱ درصد پودر برگ زیتون بود. این بهبود در شاخص تولیدی و کاهش درصد تلفات را می‌توان به وجود مواد موثره موجود در برگ زیتون و اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریال آن نسبت داد که با مهار میکروب‌های بیماری‌زا و غیر مفید دستگاه گوارش در واقع به‌عنوان یک آنتی‌بیوتیک محرک رشد در شرایط تنش عمل می‌کند (۳۲). از طرفی وجود ماده موثره اولئوروپین در عصاره برگ زیتون نیز می‌تواند موجب تحریک تولید ترشحات در مخاط روده کوچک، لوزالمعده و کبد شده و متعاقباً به هضم غذا کمک کند (۱۳). نتایج این تحقیقات بیانگر آن است که اثرات مفید استفاده از برگ و یا عصاره برگ زیتون بر بهبود عملکرد حیوانات را می‌توان به‌وجود ترکیبات فنلی این گیاه و نقش آنتی‌اکسیدانی، ضد پاتوژنی و اثرات پری‌بیوتیکی آن‌ها که به بهبود بافت پوششی و سطح جذبی روده‌ها کمک می‌کند، ارتباط داد.

از طرف دیگر نتایج تحقیقات برون‌تنی نیز تأیید کننده مطالب فوق می‌باشد. حدادیان و همکاران (۱۸) اثر Alpha افزایش ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از سه نوع عصاره برگ زیتون (آبی، اتانولی و متانولی) بر رشد و مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولیدی دو سویه باکتریایی مفید روده انسان در شیر خامه‌گیری شده پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد را در شرایط برون‌تنی بررسی کردند. هر سه نوع عصاره برگ زیتون منجر به افزایش جمعیت باکتریایی مفید در مقایسه با گروه فاقد عصاره برگ زیتون و نیز افزایش مقدار اسیدچرب فرار تولیدی شدند. فرض بر این است که

تأثیر جیره‌های حاوی عصاره برگ زیتون و پودر برگ زیتون بر ضریب تبدیل غذایی و شاخص تولیدی جوجه‌های گوشتی در هیچ یک از هفته‌های پرورش و نیز در کل دوره آزمایش معنی‌دار نشد ($P = 0.69$). اما از نظر عددی استفاده از عصاره برگ زیتون در سطح ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره منجر به بهبود ضریب تبدیل غذایی (۱/۵۴ در برابر ۱/۶۵) و شاخص تولیدی (۳۵۹ در برابر ۳۱۲) در مقایسه با جیره کنترل منفی گردید. میانگین درصد تلفات پرندگان در تیمارهای آزمایشی در هیچ یک از هفته‌ها و نیز در کل دوره آزمایشی تفاوت معنی‌داری نشان نداد و به‌طور متوسط برابر با ۳ درصد در کل دوره (۷ تا ۲۸ روزگی) بود.

استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان افزودنی‌های خوراکی در جیره طیور و سایر حیوانات آزمایشی نتایج متفاوتی را بر شاخص‌های عملکردی نشان داده است. گویو و همکاران (۱۷) گزارش کردند که افزودن مخلوطی از پودر چند گیاه دارویی از سن ۷ تا ۲۱ روزگی در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به بهبود افزایش وزن در مقایسه با جیره شاهد گردید. اما بر خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی تأثیر معنی‌داری نداشت. آلسیک و همکاران (۳) بهبود ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن معنی‌دار جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با مخلوط چند اسانس گیاهی در جیره را در مقایسه با جیره شاهد مشاهده کردند.

در تحقیقی دیگر استفاده از دو سطح (۱۰ و ۲۰ گرم در کیلوگرم جیره) پودر برگ زیتون، رازیانه و پونه کوهی در جیره بلدرچین تخم‌گذار باعث افزایش درصد تولید تخم در مقایسه با جیره شاهد گردید ($P = 0.054$). اما میانگین خوراک مصرفی روزانه و درصد تلفات بین تیمارهای آزمایشی مختلف و جیره شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد (۱۲). در تحقیق متقی طلب و همکاران (۲۴) میزان خوراک مصرفی جوجه‌های تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی مختلف شامل: جیره پایه مکمل شده با سه سطح ۲، ۴ و ۶ کیلوگرم در تن پودر برگ زیتون و دو سطح ۲۰۰ و ۴۰۰ گرم در تن عصاره برگ زیتون به‌صورت خشک شده و نشده، جیره پایه مکمل شده با ۲۰ قسمت در میلیون آنتی‌بیوتیک ویرجینامایسین (کنترل مثبت) و جیره پایه بدون آنتی‌بیوتیک ویرجینامایسین (کنترل منفی) در دوره‌های آغازین، پایانی و کل دوره تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$). در کل دوره بیشترین افزایش وزن در تیمار کنترل مثبت مشاهده شد. سایر تیمارهای حاوی افزودنی به استثناء سطح ۲۰۰ گرم در تن عصاره برگ زیتون خشک نشده، از نظر عددی نسبت به تیمار کنترل منفی افزایش وزن بیشتری را نشان دادند. میزان تلفات در طول دوره پرورش تحت تأثیر افزودنی‌ها قرار نگرفت. در دوره آغازین و نیز کل دوره بالاترین راندمان در تیمار کنترل مثبت و تیمار حاوی ۲ کیلوگرم در تن پودر برگ زیتون مشاهده گردید. بهبود ضریب تبدیل در جیره‌های حاوی ویرجینامایسین و یا ترکیبات برگ زیتون غالباً به‌دلیل خواص آنتی‌بیوتیکی آن‌ها می‌باشد. بنابراین احتمال می‌رود از طریق

کنترل نشان دادند ($P=0/08$)، بیشترین کاهش درصد وزن نسبی سنگدان خالی در جوجه‌های تغذیه شده با ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون در مقایسه با جیره‌های کنترل مشاهده شد.

متقی طلب و همکاران (۲۴) تفاوت معنی‌داری بین راندمان قطعات لاشه در جیره‌های حاوی سطوح مختلف افزودن عصاره برگ زیتون مشاهده نکردند. آن‌ها بیان کردند که شاید بتوان عدم تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های افزودنی به جیره را بر درصد قطعات لاشه در عواملی از قبیل نژاد و محیط نسبتاً بهداشتی آزمایش دانست. این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت ندارد. اما در تحقیق نوبخت و همکاران (۲۶) استفاده از ۱ درصد پودر گیاه دارویی پونه در مقایسه با جیره شاهد منجر به افزایش درصد سینه و کاهش غیر معنی‌دار درصد سنگدان، کبد و قلب گردید، پایین بودن وزن قلب احتمالاً به دلیل خواص مفید گیاه دارویی پونه در استفاده بهینه از مواد مغذی در بدن و اتلاف کم‌تر انرژی مرتبط بود. همچنین بهبود سلامتی دستگاه گوارش و افزایش مقاومت جوجه‌ها در مقابل تنش‌های محیطی متفاوت و افزایش جذب مواد غذایی منجر به رشد و افزایش درصد لاشه به‌ویژه درصد سینه شد. این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر در مورد اثر استفاده از برگ و عصاره برگ زیتون بر صفات لاشه جوجه‌ها مطابقت دارد. در آزمایش حاضر استفاده از عصاره برگ زیتون، پودر برگ زیتون و آلفا-توکوفریل استات در جیره منجر به کاهش نسبی طول دئودنوم به وزن زنده گردید. به‌طوری که بیشترین کاهش نسبی طول دئودنوم در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون در مقایسه با جیره کنترل منفی (۲/۱۱) در برابر (۲/۹۵) مشاهده شد ($P<0/05$). ساریکا و همکاران (۳۰) کاهش معنی‌دار طول روده در جیره‌های مکمل شده با آنتی‌بیوتیک و یا عصاره آویشن به‌عنوان یک افزودنی خوراکی گیاهی را گزارش کردند. همچنین در تحقیقی دیگر گنجاندن مخلوطی از اسانس‌های گیاهی در جیره منجر به افزایش درصد لاشه و کاهش معنی‌دار وزن نسبی روده گردید. کاهش در وزن نسبی روده به‌دلیل نازک شدن دیواره روده بوده و به‌عنوان مکانیسمی برای بهبود جذب مواد مغذی از دیواره روده شناخته شده است. بهبود قابلیت هضم و جذب مواد مغذی منجر به تعادل بهتر جمعیت میکروبی روده با پتانسیل کاهش باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود. به بیان دیگر ممکن است مزایای استفاده از اسانس‌های گیاهی در تغذیه جوجه‌های گوشتی در ارتباط با بهره‌وری بیشتر استفاده از غذا، منجر به رشد سریع‌تر گردد (۳). این یافته‌ها با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. گرچه تفاوت معنی‌داری بین درصد وزن نسبی بورس در جوجه‌های تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی مختلف مشاهده نشد ($P>0/05$)، اما کم‌ترین درصد وزن نسبی غده بورس مربوط به تیمار کنترل منفی بود.

ترکیبات فنلی موجود در عصاره برگ زیتون، به‌عنوان یک پری‌بیوتیک غیرکربوهیدراتی، منجر به تحریک رشد باکتری‌های پروبیوتیک و متابولیسم آن‌ها شده است. مکانیسمی که عصاره‌های فنلی افزایش رشد باکتری‌های پروبیوتیک را موجب می‌شوند نامشخص است. اما مولان و همکاران (۲۲) گزارش کردند که این عصاره‌ها با داشتن قدرت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد با تعدیل استرس اکسیداتیو حاصل از فعالیت‌های متابولیکی، شرایط محیطی مناسب-تری را برای رشد و تکثیر باکتری‌های مفید فراهم می‌کنند. با چنین فرضی مصرف عصاره برگ زیتون در جیره می‌تواند با افزایش جمعیت باکتریایی مفید و در نتیجه ممانعت از رشد باکتری‌های مضر مثل کلستریدیوم و اشرشیاکولی موجبات سلامت دستگاه گوارش حیوان و مصرف کننده را فراهم کند (۱۸).

دلایل مختلفی در ارتباط با مشاهده نتایج متفاوت در مورد نقش یک گیاه دارویی بر عملکرد حیوانات آزمایشی قابل ارائه است، از جمله: تفاوت در تنوع و شرایط پرورش گیاه، روش استخراج مواد موثره گیاه و سطوح افزودن آن به جیره که همگی می‌تواند بر میزان ترکیبات موثره گیاه و غلظت مواد فعال در دسترس حیوان و فعالیت بیولوژیکی آن‌ها و به‌تبع بر نتایج تحقیقات اثرگذار باشد. از طرفی، ممکن است پاسخ جوجه‌ها به یک افزودنی خوراکی با منشاء گیاهی تحت تأثیر ترکیب جیره غذایی، سن حیوان، شرایط بهداشتی محیط پرورش، عوامل زیست محیطی و کیفیت محصول تغییر کند. کراس و همکاران (۱۳) نیز نشان دادند که فرم مصرف گیاه دارویی (پودر برگ، انواع عصاره و یا اسانس‌ها) در جیره طیور می‌تواند در میزان فعالیت زیستی آن اثرگذار باشد. به‌نحوی که گنجاندن یک گیاه دارویی یا عصاره و اسانس روغنی استخراج شده از آن ممکن است به دلیل داشتن مقادیر متفاوت ماده موثره در گیاه دارویی همیشه دارای اثرات مشابهی بر روی عملکرد جوجه‌های گوشتی نباشد.

صفات لاشه

افزودن منابع مختلف آنتی‌اکسیدانی به جیره جوجه‌ها بر درصد لاشه شکم خالی بدون پوست، درصد سینه و طول دئودنوم تأثیر معنی‌داری ($P<0/05$) داشت (جدول ۴). کم‌ترین و بیش‌ترین درصد لاشه شکم خالی به‌ترتیب (۵۸/۸) در برابر (۶۲/۶) در جوجه‌های تغذیه شده با تیمارهای کنترل منفی (بدون آنتی‌اکسیدان افزودنی) و کنترل مثبت (حاوی آلفا-توکوفریل استات) مشاهده شد و جیره‌های مکمل شده با پودر و یا عصاره برگ زیتون نیز از نظر عددی بین دو تیمار کنترل منفی و مثبت قرار گرفتند. اما کم‌ترین و بیش‌ترین درصد سینه را به‌ترتیب جوجه‌های تغذیه شده با تیمار کنترل منفی و تیمار حاوی ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون (۲۰/۲۶) در برابر (۲۳/۳۱) داشتند ($P<0/05$). جیره‌های حاوی پودر و یا عصاره برگ زیتون تمایل به کاهش درصد وزن نسبی سنگدان در مقایسه با جیره‌های

جدول ۴- تأثیر منابع آنتی‌اکسیدانی مختلف در جیره بر ترکیب لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸ روزگی
Table 4- Effect of dietary different antioxidant sources on relative weight of organs broiler chickens at 28 d of age

مورد Item	جیره‌های آزمایشی Experimental diets ¹					SEM
	NC	PC	OLE1	OLE2	OLP	
	g/100 g of BW					
لاشه خالی بدون پوست Dressing percentage	58.77 ^b	62.63 ^a	61.83 ^{ab}	61.34 ^{ab}	60.59 ^{ab}	0.49
سینه Breast	20.26 ^b	22.56 ^a	23.31 ^a	21.61 ^{ab}	21.65 ^{ab}	0.28
ران‌ها Thighs	18.64	19.66	19.31	19.28	19.08	0.22
سنگدان Gizzard	3.55 ^a	3.56 ^a	2.92 ^b	3.29 ^{ab}	3.32 ^{ab}	0.07
چربی حفره بطنی Abdominal fat	0.99	1.12	1.04	1.20	1.04	0.05
تیموس Thymus	0.81	0.93	0.82	0.98	0.86	0.03
بوس Bursa of Fabricius	0.20 ^b	0.27 ^{ab}	0.22 ^{ab}	0.23 ^{ab}	0.31 ^a	0.01
طحال Spleen	0.12	0.11	0.11	0.09	0.11	0.01
	Cm/100 g of BW					
طول دئودنوم Duodenum length	2.95 ^a	2.41 ^b	2.11 ^b	2.22 ^b	2.35 ^b	0.08
طول ژژونوم Jejunum length	5.32	4.87	4.89	5.22	5.11	0.13
طول ایلیوم Ileum length	5.42	4.94	4.85	4.97	5.03	0.18

میانگین‌های هر ردیف که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

Means in the same row with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

¹NC = negative control: basal diet without feed additive supplementation; PC = positive control: basal diet + α -tocopheryl acetate (250 mg/kg); OLE1 = basal diet + olive leaf extract (120 mg/kg); OLE2 = basal diet + olive leaf extract (240 mg/kg); OLP = basal diet + olive leaf powder (10 g/kg).

زیرموکوسی در مقایسه با جیره کنترل منفی شد (جدول ۵). هرچند تفاوت معنی‌داری بین عمق کریپت ($P=0.16$) و ضخامت اپیتلیوم ($P=0.12$) در جوجه‌های تغذیه شده با تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد، اما بیش‌ترین مقدار عمق کریپت و ضخامت اپیتلیوم در جوجه‌های تغذیه شده با تیمار حاوی ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره برگ زیتون مشاهده شد.

ریخت شناسی روده می‌تواند بیانگر برخی اطلاعات درباره سلامت روده باشد. به‌گونه‌ای که کریپت‌های عمیق‌تر نشان دهنده تجزیه و بازسازی سریع بافت و تقاضای بالا برای بافت جدید هستند. طول پرزها به سرعت تخریب سلول‌های مخاطی سطح پرز (انتروسیت^۱) واقع در رأس پرزها و سرعت جایگزینی آن‌ها در کریپت بستگی دارد.

استفاده از پودر و یا عصاره برگ زیتون تأثیر معنی‌داری بر سایر صفات لاشه از جمله درصد ران، پشت و گردن، چربی بطنی، کبد، قلب، سکوم، تیموس، طحال، طول ژژونوم و ایلیوم نداشت ($P > 0.05$). آماد و همکاران (۴) نیز گزارش کردند که وزن نسبی اندام‌های داخلی از جمله طحال، کبد و قلب تحت تأثیر استفاده از افزودنی‌های خوراکی با منشاء گیاهی قرار نگرفتند. نتایج این تحقیق با یافته‌های تحقیق حاضر در مورد استفاده از عصاره و پودر برگ زیتون مطابقت داشت.

ریخت‌شناسی روده کوچک

استفاده از پودر و یا عصاره برگ زیتون در جیره جوجه‌های گوشتی به‌عنوان منابع آنتی‌اکسیدانی گیاهی باعث افزایش معنی‌دار ($P < 0.05$) طول پرز، سطح پرز و ضخامت لایه موکوسی و

1 - Enterocytes

سلامت دستگاه گوارش طیور با توجه به سهم آن در سلامتی و عملکرد پرند، به شکل فزاینده‌ای مورد توجه قرار گرفته است (۲۵). تحقیقات انجام شده در مورد تأثیر عوامل استرس‌زای تغذیه‌ای بر ریخت‌شناسی روده نشان دهنده اثرات مخرب این استرس‌ها بر قابلیت جذب بافت پوششی روده بود، که منجر به کاهش ارتفاع پرزها و عمق کریپت‌ها گردید (۳۴). گرچه تا به حال گزارشی در مورد اثر کاربرد پودر و یا عصاره برگ زیتون به‌عنوان یک منبع افزودنی خوراکی گیاهی در جیره جوجه‌های گوشتی بر خصوصیات ریخت‌شناسی روده ارائه نشده است. اما گزارشات متعددی در مورد اثر سایر افزودنی‌های گیاهی در جیره جوجه‌های گوشتی و برخی گزارش‌ها در مورد تأثیر عصاره برگ زیتون در تغذیه موش‌های صحرایی بر بافت‌شناسی دستگاه گوارش وجود دارد. از جمله در تحقیق گارسیا و همکاران (۱۵) کاربرد مخلوط عصاره‌های گیاهی در جیره جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش طول پرز و عمق کریپت ($P=0/04$) و تمایل به افزایش سطح جذبی پرزها در مقایسه با جیره شاهد گردید. همچنین حسن پور و همکاران (۱۹) افزایش طول و سطح پرز و ضخامت لایه ماهیچه‌ای در بخش‌های دئودنوم و ژژونوم روده کوچک جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۲ و ۴ درصد چای سبز را گزارش کردند.

چنانچه تکثیر سلول‌های کریپت سریع‌تر از تخریب سلولی باشد، طول پرز افزایش می‌یابد و بر عکس. افزایش طول پرزهای روده نشان دهنده افزایش سطح جذب مواد مغذی از روده است. بنابراین در صنعت طیور، سلامت روده برای رسیدن به نرخ رشد و راندمان تغذیه‌ای مناسب، از اهمیت بالایی برخوردار است (۲۱). از طرفی دیگر، استرس همواره به‌عنوان یک فاکتور مهم مورد بررسی در سیستم‌های پرورش طیور مطرح بوده و تأثیر عمیقی بر کل خصوصیات فیزیولوژیکی، سلامت و صفات تولیدی حیوان دارد. درحالی‌که جمعیت میکروبیوم‌های همزیست روده‌ای میزبان را از تکثیر پاتوژن‌ها به‌وسیله رقابت برای محل‌های اتصال بافت پوششی و مواد مغذی و تقویت پاسخ ایمنی روده‌ای حفاظت می‌کند. عوامل استرس‌زا با ایجاد آشفتگی در جمعیت میکروبیوم‌های همزیست روده، کاهش مکانیزم‌های حفاظتی ذاتی و افزایش پتانسیل عوامل بیماری‌زایی نظیر سالمونلا برای اتصال به بافت پوششی را موجب می‌شوند، که نهایتاً منجر به کاهش سلامت بافت پوششی روده (سد حفاظتی بین پاتوژن‌های محیط روده و خون موجود در لایه زیرین) خواهد شد (۱۱). بنابراین حفظ سلامت بافت پوششی روده به‌منظور ممانعت از انتقال باکتری‌ها از حفره روده امری ضروری است. به‌همین دلیل

جدول ۵ - تأثیر منابع آنتی‌اکسیدانی مختلف در جیره بر ریخت‌شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۲۸ روزگی

Table 5- Effect of dietary different antioxidant sources on intestinal morphology of broiler chickens at 28 d of age

ژژونوم Jejunum	جیره‌های آزمایشی Experimental diets ¹					SEM
	NC	PC	OLE1	OLE2	OLP	
	μm					
طول پرز Villus height	1101.2 ^b	1342.1 ^a	1401.3 ^a	1390.8 ^a	1326.3 ^a	32.19
عرض پرز Villus width	96.6	104.2	105.6	101.0	101.2	1.77
عمق کریپت Crypt depth	227.5 ^b	275.8 ^{ab}	282.8 ^a	260.7 ^{ab}	249.3 ^{ab}	7.33
ضخامت اپیتلیوم Epithelial thickness	37.8 ^b	42.7 ^{ab}	45.3 ^a	42.3 ^{ab}	41.3 ^{ab}	0.98
ضخامت لایه ماهیچه‌ای Macular thickness	353.4	359.6	365.1	394.2	366.6	13.30
ضخامت لایه موکوسی و زیر موکوسی Mucosal and submucosal thickness	1329 ^b	1618 ^a	1666 ^a	1651 ^a	1576 ^{ab}	36.40
	μm^2					
سطح پرز Sucrase	341952 ^b	427499 ^a	449542 ^a	440389 ^a	418742 ^a	10758
نسبت طول پرز به عمق کریپت Villus height/Crypt depth	4.92	5.02	5.01	5.28	5.27	0.14

میانگین‌های هر ردیف که دارای حرف مشترک نمی‌باشند دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0/05$).

Means in the same row with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

¹NC = negative control: basal diet without feed additive supplementation; PC = positive control: basal diet + α -tocopheryl acetate (250 mg/kg); OLE1 = basal diet + olive leaf extract (120 mg/kg); OLE2 = basal diet + olive leaf extract (240 mg/kg); OLP = basal diet + olive leaf powder (10 g/kg).

ژژونوم مطابقت دارد. به عبارت دیگر پودر و یا عصاره برگ زیتون به دلیل وجود ترکیبات موثره دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبه‌های پاتوژن، در خنثی‌سازی عوامل مختلف تنش‌زای محیطی در هفته‌های نخست دوره پرورش و ایجاد شرایط نرمال در بافت پوششی روده موثر بوده‌اند. این تغییرات مثبت در خصوصیات پرزها و ریخت‌شناسی روده احتمالاً پاسخگوی بهبود عملکرد پرورشی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با عصاره و پودر برگ زیتون می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از عصاره برگ زیتون تا سطح ۲۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و نیز پودر برگ زیتون در سطح ۱۰ گرم در کیلوگرم جیره جوجه‌های گوشتی از سن ۷ تا ۲۸ روزگی در مقایسه با جیره کنترل نه تنها اثرات منفی بر عملکرد پرندگان نداشت، بلکه تا حدود زیادی منجر به بهبود عملکرد پرورشی جوجه‌های گوشتی نیز گردید. پودر و یا عصاره برگ زیتون می‌تواند به‌عنوان یک محرک رشد بالقوه با داشتن ترکیبات موثر فنلی با ایفای نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی شرایط مناسب‌تری را برای رشد جوجه‌های گوشتی در سنین اولیه دوره پرورش که پرنده تحت تأثیر استرس‌های محیطی هستند، فراهم کند. با این حال، آزمایشات تکمیلی برای تعیین میزان بهینه مکمل‌سازی عصاره گیاهی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در سنین و شرایط پرورشی مختلف مورد نیاز است.

که می‌تواند بیانگر اثرات آنتی‌اکسیدانی چای سبز بر مورفولوژی روده و احتمالاً مربوط به اثر این عصاره گیاهی بر علیه مرگ سلولی و افزایش رشد سلول‌های اپیتلیال باشد. دکانسکی و همکاران (۱۴) نیز گزارش کردند که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف موجود در عصاره برگ زیتون (اولئوروپین، آپیجین-۷-گلوکوسید، لوتئولین-۷-گلوکوسید و کافنیک اسید) در مهار رادیکال‌های آزاد و حفاظت از پراکسیداسیون چربی، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز، منجر به تنظیم تعادل اکسیداتیو و حفاظت از مخاط معده موش‌های صحرایی تحت استرس گردید. گرچه تحقیقات بیش‌تری برای اثبات اثر عصاره برگ زیتون بر بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد نیاز است. از طرفی جامروز و همکاران (۲۰) نیز مشاهده کردند که مکمل‌های مشتق شده از گیاهان شامل کارواکرول، سینام آلدئید و اولئورسین فلفل دلمه‌دارای اثرات تحریکی بر تولید و ترشح موسین روده بودند، بنابراین ممکن است منجر به چسبندگی پاتوژن‌ها و داشتن اثرات مثبت بر روده جوجه‌ها باشند. از طرفی نقش ضد میکروبی افزودنی‌های گیاهی در کاهش بار میکروبی روده، که به نوبه خود با کاهش حضور سموم در سطوح جذبی همراه است، مانع از بروز تغییرات نامطلوب در ریخت‌شناسی روده مانند کاهش طول پرز می‌گردد. علاوه بر آن فوایدی شامل اثرات مفید بر قابلیت هضم و جذب مواد مغذی و ریخت‌شناسی روده و تثبیت جمعیت میکروبی روده توسط ویندیچ و همکاران (۳۳) نیز گزارش شده است. نتایج تحقیقات فوق با یافته‌های تحقیق حاضر در مورد اثرات مثبت عصاره و پودر برگ زیتون بر ریخت‌شناسی

منابع

- 1- Agostini, P. S., D. Sol-Oriol, M. Nofrarías, A. C. Barroeta, J. Gasa, and E. G. Manzanilla. 2012. Role of in-feed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology, and morphology in broiler chicken. *Livestock Science*, 147:113-118.
- 2- Al-Azzawie, H., and M.S. S. Alhamdani. 2006. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sciences Journal*, 78:1371-1377.
- 3- Alcicek, A., M. Bozkurt, and M. Cabuk. 2004. The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*, 34 (4):217-222.
- 4- Amad, A. A., K. Manner, K. R. Wendler, K. Neumann, and J. Zentek. 2011. Effects of a phytogetic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science Journal*, 90: 2811-2816.
- 5- Amaral, J. S., R. M. Seabra, P. B. Andrade, P. Valentao, J. A. Pereira, and F. Ferreres. 2004. Phenolic profile in the quality control of walnut *Juglans regia* L. leaves. *Food Chemistry*, 88: 373-379.
- 6- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 18th ed. Association of Analytical Chemists, AOAC International, Arlington VA.
- 7- Banerjee, A., N. Dasgupta, and B. De. 2005. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chemistry*, 90:727-733.
- 8- Benavente-García, O., J. Castillo, J. Lorente, A. Ortuño, and J. A. Del Rio. 2000. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68:457-462.
- 9- Botsoglou, E., A. Govaris, E. Christaki, and N. Botsoglou. 2010. Effect of dietary olive leaves and/or α -tocopheryl

- acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 121:17-22.
- 10- Botsoglou, N. A., E. Christaki, P. Florou-Paneri, I. Giannenas, G. Papageorgiou, and A. B. Spais. 2004. The effect of a mixture of herbal essential oils or α -tocopheryl acetate on performance parameters and oxidation of body lipid in broilers. *South African Journal of Animal Science*. 34: 52-61.
 - 11- Burkholder, K. M., K. L. Thompson, M. E. Einstein, T. J. Applegate, and J. A. Patterson. 2008. Influence of stressors on normal intestinal microbiota, intestinal morphology, and susceptibility to salmonella enteritidis colonization in broilers. *Poultry Science Journal*, 87:1734-1741.
 - 12- Christaki, E. V., E. M. Bonos, and P. C. Florou-Paneri. 2011. Comparative evaluation of dietary oregano, anise and olive leaves in laying Japanese quails. *Brazilian Journal Poultry Science*, 13: 97-101.
 - 13- Cross, D. E., R. M. McDevitt, K. Hillman, and T. Acamovic. 2007. The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *British Journal of Poultry Science*, 48:496-506.
 - 14- Dekanski, D., S. Ristić, and D. M. Mitrović. 2009. Antioxidant effect of dry olive (*Olea europaea* L.) leaf extract on ethanol-induced gastric lesions in rats. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 2:205-211.
 - 15- Garcia, V., P. Catala-Gregori, F. Hernandez, M. D. Megias, and J. Madrid. 2007. Effect of Formic Acid and Plant Extracts on Growth, Nutrient Digestibility, Intestine Mucosa Morphology, and Meat Yield of Broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16:555-562.
 - 16- Govaris, A., E. Botsoglou, A. Moulas and N. Botsoglou. 2010. Effect of dietary olive leaves and rosemary on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast during refrigerated storage. *South African Journal of Animal Science*, 40:145-155.
 - 17- Guo, F. C., R. P. Kwakkel, J. Soede, B. A. Williams, and M.W. A. Verstegen. 2004. Effect of a Chinese herb medicine formulation, as an alternative for antibiotics, on performance of broilers. *British Journal of Poultry Science*, 45: 793-797.
 - 18- Haddadin, M.S. Y. 2010. Effect of olive Leaf extracts on the growth and metabolism of two probiotic bacteria of intestinal origin. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9: 787-793.
 - 19- Hassanpour, H., A. K. Zamani Moghaddam, A. Yazdani, and M. Cheraghchi Bashi. 2010. Evaluation of intestinal morphology and nitric oxide metabolites in broiler chickens supplemented by green tea. *Comparative Clinical Pathology*, 19:43-47.
 - 20- Jamroz, D., T. Wertelecki, M. Houszka, and C. Kamel. 2006. Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90:255-268.
 - 21- Maa, Y. L., and T. Guob. 2008. Intestinal morphology, brush border and digesta enzyme activities of broilers fed on a diet containing Cu²⁺-loaded montmorillonite. *British Journal of Poultry Science*, 49:65-73.
 - 22- Molan, A. L., J. Flanagan, W. Wei, and P. J. Moughan. 2009. Selenium-containing green tea has higher antioxidant and prebiotic activities than regular green tea. *Food Chemistry*, 114:820-835.
 - 23- Molina-Alcaide, E., and D. R. Yanez-Ruiz. 2008. Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 147:247-464.
 - 24- Mottaghitalab, M., and M. Jamshid zehi. 2007. Effects of olive leaf powder extract as substitution for Antibiotics on broiler performances. Pages 831-834 in 2th Congress on Animal and Aquatic Sciences. 16-17 May 2007. (In Persian with English abstract).
 - 25- Mountzouris, K. C., P. Tsirtsikos, E. Kalamara, S. Nitsch, G. Schatzmayr, and K. Fegeros. 2007. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing Lactobacillus, Bifidobacterium Enterococcus, and Pediococcus strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science Journal*, 86:309-317.
 - 26- Nobakht, A., A. R. Safamehr, J. Norani, and M. Moghaddam. 2011. The effects of using different levels of pennyroyal (*Mentha pulegium*) medicinal plant on performance in broilers and laying hens. *Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 92: 41-51. (In Persian).
 - 27- Rafiee, Z., S. M. Jafari, M. Khomeiri, and M. Alami. 2011. Effect of variety and method of extraction on antioxidant and antimicrobial activity of olive leaf extracts. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 4: 297-307. (In Persian)
 - 28- Sakamoto, K., H. Hirose, A. Onizuka, M. Hayashi, N. Futamura, Y. Kawamura, and T. Ezaki, 2000. Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats. *Journal of Surgical Research*, 94:99-106.
 - 29- Samarth, R. M., M. Panwar, M. Kumar, A. Soni, M. Kumar, and A. Kumar. 2007. Evaluation of antioxidant and radical scavenging activities of certain radio protective plant extracts. *Food Chemistry*, 106:868-873.
 - 30- Sarica, S., A. Ciftci, E. Demir, K. Kilinc, and Y. Yildirim. 2005. Use of an antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives with and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. *South African Journal Animal Science*, 35: 61-72.

- 31- SAS Institute. 2008. SAS Stat User's Guide. Version 9.2 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- 32- Varmaghany, S., S. Rahimi, M. A. Karimi Torshizi, H. Lotfollahian, and M. Hassanzadeh. 2012. The effect of different levels of olive leaf powder on growth performance in broilers reared at normal and cold temperature. Pages 1079-1082 in 5th Iranian Congress on Animal Science. 30-31 August 2012. (In Persian)
- 33- Windisch, W., K. Schedle, C. Plitzner, and A. Kroismayr. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86:E140–E148.
- 34- Yamauchi, K., K. Yamamoto, and Y. Ishiki. 1995. Morphological alterations of the intestinal villi and absorptive epithelial cells in each intestinal part in fasted chickens. *Journal of Poultry Science*, 32:241-251.