

بررسی اثر زنیان و فرمالین بر جمعیت میکروبی و خصوصیات ریخت‌شناسی روده در جوجه گوشتی

آرش یارمحمدی^۱، محسن فرخوی^{۱*}، علی میثاقی^۲، سیدمحمد کیانی^۱، عباس برین^۱، ندا نفریان^۱

^۱گروه بهداشت و تغذیه دام و طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
^۲گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۳

چکیده

هدف این مطالعه مقایسه اثر فرمالین با زنیان بر جمعیت میکروبی و ریخت‌شناسی روده جوجه‌های گوشتی بود. بدین منظور، تعداد ۱۵۰ قطعه جوجه یکروزه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ به‌طور تصادفی در پنج گروه با سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه جوجه تقسیم‌بندی شده و به ۱۵ پن جداگانه انتقال داده شدند. جیره‌های آزمایشی شامل گروه شاهد (بدون هیچ‌گونه افزودنی)، سه سطح اسانس زنیان (۱۷۵، ۳۵۰ و ۷۰۰ ppm) و فرمالین ۳۷ درصد (۰/۱ درصد) بودند. در ایلنوم، فرمالین موجب کاهش معنی‌دار بیفیدوباکتر گردید. زنیان در غلظت ۷۰۰ ppm تعداد لاکتوباسیل‌ها را کاهش داد، اما در سایر غلظتها اثر نامطلوبی بر باکتری‌های مفید (بیفیدوباکتر و لاکتوباسیل‌ها) در ایلنوم نداشت. همچنین، فرمالین و زنیان با غلظتهای ۳۵۰ ppm و ۷۰۰ ppm موجب کاهش جمعیت کلاسترییدیایی شدند. در سکوم، زنیان با غلظت ۷۰۰ ppm موجب افزایش جمعیت بیفیدوباکترها گردید، درحالیکه، در غلظتهای ۳۵۰ ppm و ۷۰۰ ppm تعداد کلاستریدوم‌ها را کاهش داد. هیچکدام از تیمارهای مورد مطالعه بر تعداد کلی فرم‌ها در ایلنوم و سکوم اثری نداشتند. در دئودنوم، زنیان با غلظت ۱۷۵ ppm طول پرز و با غلظت ۳۵۰ ppm طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت را افزایش داد. مصرف ۷۰۰ ppm زنیان اثری بر ریخت‌شناسی روده نداشت. فرمالین موجب افزایش طول و عرض پرز و عمق کریپت گردید. اما، بر نسبت طول پرز به عمق کریپت بی‌تأثیر بود. در ژئوزنوم هیچ‌کدام از غلظتهای زنیان اثری بر ریخت‌شناسی روده نداشتند و فقط فرمالین توانست موجب افزایش طول پرزها گردد. در مجموع، زنیان و فرمالین توانستند با کاهش تعداد باکتری‌های نامطلوب، ریخت‌شناسی روده را بهبود دهند.

کلمات کلیدی: جمعیت میکروبی، زنیان، فرمالین، ریخت‌شناسی روده

* mfarkhoy@ut.ac.ir

مقدمه

پیشگیری از بیماری‌های طیور حائز اهمیت زیادی است که بی‌توجهی به آن منجر به از دست رفتن سرمایه و به‌خطر افتادن بهداشت عمومی می‌شود. خوراک طیور یکی از راه‌های انتقال باکتری‌های بیماری‌زا از جمله سالمونلا به طیور می‌باشد که قبل از مصرف توسط طیور باید از بین بروند (۱). ترکیبات مختلفی برای از بین بردن این عوامل بیماری‌زا در خوراک وجود دارند. یکی از این ترکیبات فرمالین است که بویژه برای از بین بردن سالمونلا بسیار مورد استفاده قرار گرفته است (۲). نشان داده شده است که بخار فرمالین در دستگاه جوجه‌کشی سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی می‌گردد (۳). همچنین، در مطالعه دیگری تأثیر فرمالین روی کاهش تعداد باکتری‌های گرم منفی ایلئوم و نیز کاهش ضریب تبدیل غذایی در مرغ تخم‌گذار گزارش شده است (۴). با این همه، به نظر می‌رسد که این ماده برای انسان خطرناک و سرطازنا می‌باشد (۵). بعلاوه افزایش میزان مصرف آن تا ۱۰ گرم در کیلوگرم دان طیور گوشتی، خوراک مصرفی و وزن بدن را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد (۳). به همین جهت، مصرف آن در بسیاری از کشورها از جمله ژاپن، نیوزیلند و اتحادیه اروپا ممنوع گردیده است (۶) و برای حفظ سلامت پرندگان از ترکیبات طبیعی مانند اسیدهای آلی، عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین استفاده می‌شوند. به‌طوریکه، امروزه، استفاده از اسانس‌ها در صنعت تغذیه طیور به صورت گسترده متداول گردیده است و از آن نه تنها جهت تحریک رشد و بهبود بازده خوراک بلکه برای جلوگیری از بروز بیماری و پیشگیری از تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا و افزایش باکتری‌های مفید دستگاه گوارش برای حفظ سلامت، بهبود ایمنی و عملکرد حیوان استفاده می‌شود (۷, ۸). اسانس‌ها علاوه بر کاهش باکتری‌های غیرمفید و افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها در روده، بسته به نوع و میزان استفاده شده موجب افزایش طول پرز و بهبود نسبت طول پرز به عمق کریپت‌ها نیز می‌شوند (۹). زنیان یکی از گیاهان دارویی است که در طب سنتی به‌عنوان داروی بیماری‌های تنفسی و گوارشی معرفی

شده است (۱۰). ترکیبات اصلی زنیان را تیمول، گاما ترپینن و سایمن تشکیل می‌دهند. این ترکیبات خواص ضد باکتریایی قوی دارند و در واقع اثر ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهی به حضور این ترکیبات و سایر ترکیبات مانند کارواکرول بستگی دارد (۸). در مطالعات انجام شده اثر ضدباکتریایی، ضد انگلی، ضد قارچی و ضد ویروسی اسانس و عصاره زنیان به اثبات رسیده است (۱۱-۱۳). با توجه به اینکه فرمالین همچنان به‌عنوان ضد عفونی‌کننده خوراک طیور به‌وفور در ایران استفاده می‌شود، هدف این مطالعه مقایسه اثر اسانس زنیان و فرمالین بر جمعیت میکربی روده طیور و ساختار آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آنالیز اسانس زنیان

قبل از انجام آزمایش میزان مؤثره اسانس زنیان به روش GC/MS اندازه‌گیری شد. برای این منظور از دستگاه مدل Agilent HP-6890 با ستون HP-5MS به ارتفاع ۳۰m و قطر داخلی ۲۵۰µm استفاده گردید. برای این کار، ابتدا دما به مدت ۵ min بر روی ۵۰°C ثابت نگه‌داشته شد. سپس، با سرعت افزایشی ۳°C بر دقیقه به ۲۴۰°C رسید. در مرحله آخر، دما با سرعت ۱۵°C/min به ۲۹۰°C افزایش یافت و مجدداً برای مدت ۳min ثابت ماند. گاز هلیوم با سرعت عبور ۰/۸ ml/min به‌عنوان حامل مورد استفاده قرار گرفت و نمونه‌ها به‌صورت دستی به میزان ۱µl به دستگاه تزریق شدند. در صد نسبی هر ترکیب با استاندارد سازی سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام حاصل از کروماتوگرافی گازی به دست آمد (۱۴).

مدیریت جوجه‌ها

تعداد ۱۵۰ قطعه جوجه یکروزه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ از شرکت جوجه‌کشی خریداری و به‌طور تصادفی در پنج گروه با سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه جوجه تقسیم‌بندی شده و به ۱۵ پن جداگانه واقع در بیمارستان پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در محمدآباد

درصد انتقال یافتند. برای آماده سازی بافت‌ها جهت مطالعه بافت‌شناسی ابتدا نمونه‌ها با الکل آبگیری شدند. سپس،

جدول ۱. ترکیب و آنالیز شیمیایی خوراک جوجه‌های گوشتی برای سن یک روزه تا ۴۲ روزه

میزان (درصد)	اقلام مواد خوراکی (درصد)
۵۴/۸۴	ذرت
۳۸/۲۵	کنجاله سویا
۲/۰	روغن گیاهی
۰/۲۳	دی‌ال - متیونین
۰/۱۸	لیزین هیدروکلراید
۰/۴۰	نمک
۰/۵۰	مکمل ویتامین + مواد معدنی ^۱
۲/۲۵	کربنات کلسیم
۱/۳۵	اسید فسفریک
۲/۰	دی‌کلسیم فسفات
۰/۵۵	ماسه
ترکیب شیمیایی جیره (درصد ماده خشک)	
۲۸۷۵	انرژی قابل متابولیسم (Kcal/Kg)
۲۱/۵	پروتئین خام
۷	چربی خام
۳/۸۸	فیبر خام
۰/۹۵	کلسیم
۰/۴۸	فسفر قابل استفاده
۰/۷۵	فسفر کل
۰/۱۷	سدیم
۰/۵۷۲	متیونین
۱/۲۹۴	لیزین
۰/۹۰۷	متیونین + سیستین
۱/۴۷۵	آرژنین
۰/۸۷۱	ترئونین
۰/۳۳۲	تریپتوفان

نمونه‌ها شفاف‌سازی گردیدند. برای این کار، نمونه‌ها برای مدت ۶۰ دقیقه در زایلین ۱ و ۲ قرار داده شدند. سپس دو بار هر بار به مدت یک ساعت در پارافین ۶۰°C در انکوباتور با همین دما قرار داده شدند. پس از آن، نمونه‌ها در قالب‌های حاوی پارافین ۶۰°C قالب‌گیری شده و توسط دستگاه میکروتوم برش‌های سریالی و تکی با ضخامت ۵μm از آن‌ها

کرج انتقال داده شدند. اسانس زیان مورد استفاده از یک شرکت تجاری خریداری شد. جیره‌های آزمایشی شامل گروه شاهد (بدون هیچ گونه افزودنی)، سه سطح اسانس زیان (۱۷۵، ۳۵۰ و ۷۰۰ ppm) و فرمالین ۳۷ درصد (۰/۱ درصد) بود. برای افزودن اسانس، ۱/۷۵، ۳/۵ و ۷ ml زیان در روغن سویا حل و در میکسر با سبوس گندم و سپس با ۱۰ کیلوگرم خوراک به خوبی مخلوط گردید (۱۵). برای افزودن فرمالین به ازای هر کیسه ۱۰kg خوراک ۱ml فرمالین ۳۷ درصد روی خوراک اسپری شد. جیره غذایی براساس راهنمای تغذیه جوجه گوشتی سویه راس تهیه و به صورت آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت. اجزا و ترکیب جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده است. جوجه‌ها در روز ۱۴ علیه بیماری نیوکاسل واکسینه گردیدند. آب همواره در اختیار پرنده‌ها قرار داشت.

۱ شامل ۰/۲۵ مکمل ویتامینی و ۰/۲۵ مکمل معدنی می‌باشد. هر ۲/۵kg مکمل ویتامینی شامل: ۹۰۰۰۰۰ IU ویتامین A، ۲۰۰۰۰۰۰ IU ویتامین D3، ۱۸۰۰۰ IU ویتامین E، ۲۰۰۰ mg ویتامین k3، ۱۸۰۰ mg ویتامین B1، ۶۶۰۰ mg ویتامین B2، ۱۰۰۰۰ mg ویتامین B3، ۳۰۰۰۰ mg ویتامین B5، ۳۰۰۰ mg ویتامین B6، ۱۰۰۰ mg ویتامین B9، ۱۵ ویتامین B12، ۱۰۰ mg ویتامین H2، ۵۰۰۰۰۰ mg کولین کلراید و هر ۲/۵ کیلوگرم مکمل معدنی شامل ۱۰۰۰۰۰ mg منگنز، ۵۰۰۰۰ mg آهن، ۱۰۰۰۰۰۰ mg روی، ۱۰۰۰۰۰ mg مس، ۱۰۰۰۰ mg ید و ۲۰۰ mg سلنیوم بود.

تهیه نمونه برای بررسی‌های ریخت‌شناسی

در سن ۲۳ روزگی ۳ قطعه از هر گروه به طور تصادفی انتخاب شدند. نمونه‌گیری و آماده‌سازی نمونه‌ها به ترتیب ذیل انجام شد. پس از کشتن پرنده‌ها از دو قسمت روده، دئودنوم (قسمت میانی دئودنوم) و ژئوژنوم (قسمت میانی ژئونوم) هر یک به اندازه ۲ Cm نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها پس از شستشو با محلول بافر سالین فسفات (PBS) به داخل ظروف پلاستیکی حاوی ۶-۷ فرمالین ۱۰

قابل شمارش بود، تمام پلیت‌هایی که تعداد کلنی‌های آن‌ها بین ۳۰ تا ۳۰۰ عدد بود شمارش و از ضرب تعداد آن‌ها در رقت مربوطه، شمار باکتری‌ها در نمونه اولیه تعیین گردید (۱۷).

تحلیل آماری

داده‌های مربوط به ارتفاع، ضخامت و نسبت ارتفاع به ضخامت پرزها و نیز تعداد باکتری‌های کلستریدیوم، ای کولای، بیفیدوباکتر و لاکتوباسیل در نرم‌افزار MINTAB ۳,۱,۱۷ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با تست توکی و معنی‌داری آن‌ها در سطح ۵ درصد تعیین شد.

نتایج

درصد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس زنیان که با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی به دست آمد به‌طور خلاصه در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. در این مطالعه، ۹ ترکیب مختلف در زنیان شناسایی شد. عمده‌ترین ترکیب آن تیمول به میزان ۳۹/۵۵ درصد و سایر ترکیبات مهم شامل ترپینن به میزان ۳۷/۶۹ درصد و سایمن به میزان ۱۹/۱۷ درصد

جدول ۲. ترکیب شیمیایی اسانس زنیان

غلظت (درصد)	اجزای تشکیل‌دهنده
۳۹/۵۵	Thymol
۳۷/۶۹	gamma-Terpinene
۱۷/۱۹	Cymene
۱/۲	trans-beta-Ocimene
۰/۵۷	Alfa-Terpinolene
۰/۳	Ethyltetramethylcyclopentadiene
۰/۳	Trans-Anethole
۰/۲۶	beta-phellandrene
۰/۱۷	alpha-Terpinene

تهیه و نمونه‌ها به آرامی روی آب با دمای ۴۰ تا ۴۵ شناور شدند تا چین و چروک‌های برش‌ها از بین برود. در نهایت، پس از پارافین‌گیری و آب‌دهی با درجات نزولی الکل اتیلیک رنگ‌آمیزی گسترش‌های بافتی به روش معمول رنگ‌آمیزی همتاکسیلین-اُوزین انجام گرفت و از میکروسکوپ نوری متصل به کامپیوتر برای بررسی ریخت‌شناسی روده استفاده شد (۱۶). پارامترهای ارتفاع و ضخامت پرز و عمق کریپت اندازه‌گیری شدند. ارتفاع پرز از قاعده تا رأس آن و عرض پرز نیز براساس میانگین اندازه در سه سطح قاعده‌ای، میانی و رأسی هر پرز گزارش شد. عمق کریپت‌ها نیز به صورت میزان فرورفتگی بین دو پرز تعریف گردید. نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت از طریق محاسبه به دست آمد. به ازای هر نمونه ۱۰ پرز در ۳ برش مورد ارزیابی قرار گرفت (۸).

شمارش میکربی روده

از هر تکرار یک جوجه به صورت تصادفی انتخاب و پس از کشتار یک گرم از محتویات سکوم و ایلئوم آن در شرایط عاری از آلودگی برداشت شد و در ظرفهای استریل در مجاورت یخ برای انجام آزمایش‌های میکروبی به آزمایشگاه منتقل گردید. در همان روز، از نمونه‌ها سری رقت (10^{-1} تا 10^{-10}) با استفاده از بافر سالین فسفات تهیه و یک میکرولیتر در سه تکرار از هر رقت بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت روگوسا آگار^۲ (جهت شمارش لاکتوباسیل‌ها)، روگوسا آگار حاوی عصاره گوجه‌فرنگی (شمارش بیفیدوباکترها)، EMB^۳ (شمارش کلی‌فرم‌ها) و RCA^۴ (شمارش کلستریدیا) کشت داده شد. بیفیدوباکترها و کلی‌فرم‌ها ۲۴h و در دمای ۳۷ °C و لاکتوباسیل‌ها به مدت ۴۸ تا ۷۲h در دمای ۳۷ °C و کلستریدیوم‌ها به مدت ۴۸h در دمای ۳۷ °C گرمخانه‌گذاری شدند. کلی‌فرم‌ها در شرایط هوایی و بیفیدوباکترها، کلستریدیوم‌ها و لاکتوباسیل‌ها در شرایط بی‌هوازی در گرمخانه قرار داده شدند. به استثنای رقت‌های اول که تعداد کلنی‌های تشکیل شده در آن‌ها غیر

^۴ Reinforced clostridial agar

^۱ PBS

^۲ MRS

^۳ Eosin Methylene Blue Agar

داد ($p < 0.05$). نسبت طول پرز به عمق کریپت در تیمار حاوی ۳۵۰ mg در کیلوگرم از گروه شاهد (۷/۹) و فرمالین (۸/۱) بیشتر بود ($p < 0.05$)، اما بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. هرچند، مقدار عددی آن در تیمارها بیشتر از گروه شاهد بود. در ژئوژنوم، فرمالین موجب افزایش طول پرز از ۱۵۵۸/۵ به ۱۷۸۱/۰ μm گردید ($p < 0.05$). در حالیکه تیمارهای زیان موجب افزایش عددی آن گردیدند. عرض پرز و عمق کریپت تحت تأثیر هیچ‌یک از افزودنی‌ها قرار نگرفتند و نسبت طول پرز به عمق کریپت روندی مشابه طول پرز داشت. بدین ترتیب که بیشترین مقدار به فرمالین (۸/۴) و کمترین مقدار به گروه شاهد (۶/۴) مربوط می‌شد و تیمارهای زیان فقط موجب افزایش عددی آن گردیدند. مقایسه خصوصیات ریخت‌شناسی پرزهای روده در دو بخش دئودنوم و ژئوژنوم

بود. داده‌های مربوط به ریخت‌شناسی پرزهای روده باریک در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان دادند که افزودن زیان و فرمالین به خوراک اثرهای معنی‌داری بر خصوصیات پرزهای روده داشته است ($p < 0.05$). در دئودنوم، طول پرز در همه تیمارها به جز گروهی که ۷۰۰ mg/kg زیان را دریافت کرده بودند، به‌طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($p < 0.05$). به‌طوریکه، مقدار آن در جوجه‌هایی که خوراک حاوی ۱۷۵، ۳۵۰ و ۷۰۰ mg/kg زیان را مصرف کرده بودند، به ترتیب به ۲۰۱۲/۱، ۲۰۹۰/۲ و ۱۹۳۱/۰ μm و در در گروهی که به جیره آن‌ها فرمالین افزوده شده بود به ۲۰۵۳/۵ μm رسید. عرض پرزها و عمق کریپت‌ها تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند. اما، عمق کریپت در گروهی که به خوراک آن‌ها فرمالین افزوده شده بود، نسبت به گروه‌هایی که جیره‌شان حاوی ۳۵۰ و ۷۰۰ mg/kg بود، افزایش نشان

جدول ۳. مقایسه تاثیر سطوح مختلف زیان و فرمالین بر ریخت‌شناسی پرزهای روده باریک جوجه گوشتی

ریخت‌شناسی پرزهای روده (μm)				تیمار		
نسبت طول پرز به عمق کریپت	عمق کریپت	عرض پرز	طول پرز			
۷/۹ ^a	۲۲۳/۵ ^{ab}	۱۱۳/۴ ^a	۱۷۶۸/۶ ^a	شاهد	دئودنوم	
۹/۰ ^{ab}	۲۲۴/۶ ^{ab}	۱۱۷/۴ ^a	۲۰۱۲/۱ ^b	زیان ۱۷۵mg		
۱۰/۵ ^b	۱۹۹/۵ ^a	۱۱۳/۶ ^a	۲۰۹۰/۲ ^b	زیان ۳۵۰mg		
۸/۸ ^{ab}	۲۲۲/۳ ^a	۱۱۴/۳ ^a	۱۹۳۱/۰ ^{ab}	زیان ۷۰۰mg		
۸/۱ ^a	۲۶۶/۹ ^b	۱۰۴/۰ ^b	۲۰۵۳/۵ ^b	فرمالین		
۰/۴۵	۱۰/۸۲	۱/۹۶	۵۸/۵۰	SEM		
۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۳	P value		
۶/۴ ^a	۲۴۷/۳	۱۱۳/۵	۱۵۵۸/۵ ^a	شاهد		ژئوژنوم
۷/۲ ^{ab}	۲۳۴/۹	۱۰۴/۰	۱۶۴۲/۰ ^{ab}	زیان ۱۷۵mg		
۷/۰ ^{ab}	۲۳۹/۶	۱۳۰/۹	۱۵۹۰/۳ ^{ab}	زیان ۳۵۰		
۷/۰ ^{ab}	۲۵۱/۱	۱۱۶/۶	۱۷۴۳/۵ ^{ab}	زیان ۷۰۰mg		
۸/۴ ^b	۲۱۵/۰	۱۱۹/۷	۱۷۸۱/۰ ^b	فرمالین		
۰/۴۱	۱۲/۹۶	۷/۱۱	۴۷/۲۶	SEM		
۰/۰۳۹	۰/۳۳۹	۰/۱۳۲	۰/۰۰۷	P value		
۸/۹ ^a	۲۲۷/۴	۱۱۲/۵	۱۹۷۱/۱ ^a	دئودنوم	P value	
۷/۲ ^b	۲۳۷/۵	۱۴۰/۷	۱۶۶۳/۱ ^b	ژئوژنوم		
۰/۴۹	۱۲/۸۸	۳۸/۱۰	۶۱/۱۱	SEM		
۰/۰۰۰	۰/۲۱۶	۰/۲۴۵	۰/۰۰۰			

a, b میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۳. مقایسه تاثیر سطوح مختلف زنیان و فرمالین بر باکتری‌های محتویات داخل روده جوجه گوشتی

تعداد باکتری (log CFU/g)				تیمار	
کل‌فرم	کلستریدیوم	لاکتوباسیل	بیفیدوباکتر		
۵/۶۷	۷/۰۶ ^a	۷/۱۳ ^{ab}	۶/۹۸ ^{ab}	شاهد	
۵/۲۱	۷/۲۹ ^a	۷/۵۱ ^{ab}	۶/۵۹ ^b	۱۷۵ زنیان	ایلنوم
۴/۹۸	۵/۸۰ ^b	۸/۳۱ ^a	۷/۱۱ ^{ab}	۳۵۰ زنیان	
۵/۲۰	۵/۴۳ ^b	۶/۱۲ ^b	۷/۸۹ ^a	۷۰۰ زنیان	
۵/۲۱	۶/۰۳ ^b	۸/۱۴ ^a	۶/۰۷ ^b	فرمالین	
۰/۲۷۹	۰/۱۹۷	۰/۳۸۰	۰/۲۶۱	SEM	
۰/۵۳۱	۰/۰۰۰	۰/۰۳۳	۰/۰۰۱	P value	
۵/۶۰	۸/۱۵ ^a	۷/۹۹	۷/۱۸ ^{bc}	شاهد	سکوم
۶/۱۹	۶/۸۱ ^b	۷/۰۵	۸/۲۲ ^{ab}	۱۷۵ زنیان	
۵/۳۵	۶/۹۹ ^b	۷/۹۲	۷/۳۴ ^{abc}	۳۵۰ زنیان	
۵/۸۴	۷/۵۴ ^{ab}	۸/۱۹	۸/۴۴ ^a	۷۰۰ زنیان	
۵/۹۵	۶/۹۳ ^{ab}	۸/۱۰	۶/۸۴ ^c	فرمالین	
۰/۲۴۶	۰/۳۳۱	۰/۳۷۱	۰/۲۹۹	SEM	
۰/۱۷۶	۰/۰۲۶	۰/۲۲۵	۰/۰۰۳	P value	

a, b, c میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی دار دارند.

هیچ‌یک از جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند. اما تعداد بیفیدوباکترها در گروه‌هایی که ۷۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم زنیان مصرف کرده بودند، نسبت به آن‌ها که فرمالین به آن‌ها داده شده بود و گروه‌هایی که ۱۵۰ mg/kg زنیان مصرف کرده بودند کاهش داشت ($p < 0.05$). همچنین، تعداد لاکتوباسیل‌ها در طوری که به آن‌ها ۷۰۰ mg/kg زنیان داده شده بود، نسبت به آن‌ها که به جیره‌شان فرمالین اضافه شده بود و آن‌ها که در خوراک‌شان ۳۵۰ mg/kg زنیان وجود داشت، کاهش نشان داد ($p < 0.05$). تیمارهای حاوی ۳۵۰ و ۷۰۰ mg/kg زنیان توانستند به طور موثری از رشد کلستریدیوم جلوگیری نمایند و تعداد آن را به طور معنی‌داری کاهش دهند ($p < 0.05$). اما مصرف ۷۰۰ mg/kg زنیان در جیره بر تعداد کلستریدیوم ایلنوم بی‌اثر بود. در سکوم، تعداد بیفیدوباکتر، لاکتوباسیل و کل‌فرم در گروه شاهد به ترتیب ۷/۱۸، ۷/۹۹، ۸/۱۵ و ۵/۶ log (CFU/g) بود. در سکوم، هر سه تیمار زنیان موجب افزایش جمعیت بیفیدوباکتر شدند اما فقط در سطح ۷۰۰ mg/kg این افزایش

نشان داد که اندازه طول و عرض پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت در دئودنوم کمتر از ژئوژنوم است و این اختلاف در اندازه طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). تحلیل آماری داده‌های مربوط به ریخت‌شناسی روده‌ها نشان داد که در دئودنوم طول پرز در فرمالین تفاوتی با هیچ‌یک از گروه‌های زنیان نداشت. اما، عرض پرزها در گروه فرمالین نسبت به گروه‌های زنیان کاهش یافته بود ($p < 0.05$). همچنین عمق کریپت‌ها در ۳۵۰ و ۷۰۰ ppm کمتر از گروه فرمالین بود. نسبت طول پرز به عمق کریپت نیز اگرچه در هر سه غلظت زنیان نسبت به فرمالین افزایش یافته بود، اما، تفاوت معنی‌دار فقط در سطح ۳۵۰ ppm مشاهده شد ($p < 0.05$). در ژئوژنوم تفاوتی بین ریخت‌شناسی روده در فرمالین با هیچ‌یک از غلظت‌های زنیان دیده نشد.

نتایج بدست آمده از شمارش و آنالیز تعداد باکتری‌های موجود در ایلنوم و سکوم در جدول ۴ آمده است. در ایلنوم، تعداد بیفیدوباکتر، لاکتوباسیل و کل‌فرم در گروه شاهد به ترتیب ۶/۹۸، ۷/۱۳ و ۷/۰۶ log (CFU/g) بود که تحت تأثیر

(۱۳۹۳)، بیشترین میزان ترکیب شیمیایی در زیان تیمول به میزان ۵۴/۴۵ درصد و سایمن به میزان ۲۲/۱۵ درصد بود (۲۳). میزان ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در تعدادی از مطالعات بیشتر و در برخی کمتر از مقادیر به‌دست‌آمده در این مطالعه بود. علت اختلاف در پروفایل اسانس‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت در شرایط رشد مانند محل و زمان کشت و نیز روش استخراج اسانس باشد (۲۱، ۲۲، ۲۴، ۲۵).

ریخت‌شناسی روده بیانگر میزان سلامت روده می‌باشد. پرزها محل اصلی هضم و جذب مواد مغذی در روده هستند. مهم‌ترین سلول‌های پرز آنتروسیست‌ها هستند که عمل جذب را بر عهده دارند و فراوانی آن‌ها در سر پرز بیشتر است (۲۶). هر چه از ابتدای روده به سمت انتهای آن پیش برویم، از ارتفاع پرز، عمق کریپت و نسبت طول پرز به عمق کریپت کاسته می‌شود (۲۷). در مطالعه حاضر، طول پرز در دئودنوم بیشتر از ژئوژنوم بود. چادهااری (۲۰۱۸) نیز همین نتیجه را گزارش کرد (۸). عوامل مختلفی از جمله فلور میکروبی روده و عصاره گیاهان دارویی بر ریخت‌شناسی روده در محل پرزها و کریپت‌ها موثر است (۲۸). اسانس‌های گیاهی با بهبود جمعیت میکروبی روده به نفع میکروبی‌های مفید مانند بیفیدوباکترها می‌شوند. از فواید بیفیدوباکترها در روده می‌توان به بهبود سیستم ایمنی، رقابت با باکتری‌های پاتوژن بر سر محل اتصال به روده و مواد غذایی و تولید اسیدهای چرب فرار را که به رشد پرزها و تأمین انرژی متابولیکی در میزان می‌انجامد، اشاره نمود (۲۹). همچنین، با کاهش میکروبی‌های بیماری‌زا در روده التهابات تخریب پرزهای روده کاهش می‌یابد که به افزایش طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت می‌شود و میزان عمق کریپت که نشان‌دهنده تولید مجدد پرزها می‌باشد کاهش می‌یابد (۲۶). در این مطالعه، زیان در دئودنوم، با غلظت ۱۷۵ ppm طول پرز و با غلظت و ۳۵۰ ppm طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت را افزایش داد اما در ژئوژنوم اثری بر ریخت‌شناسی روده نداشت. در مطالعه صوفی‌نیا و همکاران (۱۳۹۷)، با مصرف پودر زیان با غلظت ۷۵۰۰ و ۱۵۰۰۰ ppm طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت افزایش یافت (۳۰). گنجه

معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در مقابل، فرمالین تعداد بیفیدوباکتر را از نظر عددی کاهش داد. در سکوم نیز مانند ایلئوم مصرف زیان و فرمالین بر جمعیت لاکتوباسیل‌ها و کلی‌فرم‌ها بی‌تأثیر بود. با مصرف جیره‌های حاوی ۱۷۵ و ۳۵۰ mg/kg زیان تعداد کلستریدیوم‌های سکوم کاهش یافت ($p < 0.05$). اما در جمعیت کلستریدیایی سایر گروه‌ها اختلافی مشاهده نشد. مقایسه تعداد باکتری‌ها در روده جوجه‌هایی که اسانس یا فرمالین در یافت کرده بودند نشان داد که در ایلئوم، در غلظت ۷۰۰ ppm زیان، تعداد بیفیدوباکترها بیشتر، و تعداد لاکتوباسیل‌ها کمتر آن در فرمالین بود و در سایر غلظت‌ها با هم اختلافی نداشتند. تعداد کلستریدیوم‌ها فقط در غلظت ۱۷۵ ppm زیان بیشتر از فرمالین بود و در سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در سکوم، تعداد باکتری‌ها در گروه‌ها زیان و فرمالین با هم اختلافی نشان ندادند.

بحث

اسانس‌های گیاهی به دلیل آب‌گریز بودن قادر هستند که از دیواره سلولی و میتوکندریایی باکتری‌ها عبور کرده و با خروج یونها و مولکول‌های حیاتی از دیواره سلولی موجب مرگ میکروارگانیسم شوند (۱۸). ترکیبات فنولی مانند تیمول، گاما ترپینن و سایمن که حدود ۹۴ تا ۹۶ درصد کل ترکیبات آن را تشکیل می‌دهند (۱۹)، دارای فعالیت باکتریایی وسیع می‌باشند (۲۰). در این مطالعه بیشترین ترکیب شیمیایی اسانس زیان مربوط به تیمول بود (۳۹/۵۵ درصد). پس از آن گاما ترپینن و سایمن با ۳۷/۶۹ و ۱۹/۱۷ درصد قرار داشتند. در مطالعه شاکری و همکاران (۲۰۱۷) که روی زیان انجام شد، میزان تیمول ۵۷/۱۸، میزان سایمن ۲۲/۵۵ و میزان ترپینن ۱۳/۰۷ درصد مشخص گردید (۲۱). در آزمایشی که توسط آبرومند و همکاران (۲۰۱۰) صورت پذیرفت نشان داده شد که زیان به‌عنوان گیاه بومی ایران دارای اثرات ضد میکروبی مشخصی می‌باشد و اسانس حاصل از آن دارای تیمول به میزان ۳۵/۲۸ درصد، گاما ترپینن به میزان ۳۲/۱۹ درصد و پاراسایمن به میزان ۲۳/۵۱ درصد می‌باشد (۲۲). در بررسی دیگری که توسط خسروی پور و رضاییان دلویی (

و در ژئوژنوم با غلظت ۷۰۰۰ ppm تعداد آنها را افزایش داد. مونتروریوس (۲۰۱۱) نشان داد که ترکیبات فیتوژنیک تغییری در تعداد بیفیدوباکترها در سکوم جوجه‌های گوشتی در ۲۸ روزگی بوجود نمی‌آورد. اما، در ۴۲ روزگی موجب افزایش آن می‌شود (۳۷).

نشان داده شده است که زنیان اثر ضدباکتریایی بر گونه‌های پاتوژن مانند کلستریدیا دارد (۳۸). اما، باکتری‌های گرم مثبت به اثر ضدباکتریایی زنیان پاسخ بهتری می‌دهند که این می‌تواند به دلیل اختلاف در ساختار لیپوپلی ساکاریدی دیواره سلولی باشد. در بین باکتری‌های گرم منفی ای کولای نیز به زنیان حساس می‌باشد (۳۹, ۴۰). در این مطالعه، زنیان در دئودنوم با غلظت‌های ۳۵۰ و ۷۰۰ ppm و در ژئوژنوم با غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۵۰ ppm موجب کاهش جمعیت کلستریدیایی گردید. در مطالعه حاجی‌پور و همکاران (۲۰۱۸) با مصرف زنیان در بلدرچین تعداد باکتری‌های ای کولای تغییری نداشت. اما، تعداد لاکتوباسیل‌ها از ۷/۳۷ به $\log(\text{CFU/g})$ ۸/۵۴ افزایش یافت (۳۶). در مطالعه ولی‌اللهی و همکاران (۲۰۱۴) تعداد باکتری‌های ای کولای با خوراندن ۲۰۰ ppm زنیان در روده از ۷/۱۱ به $\log(\text{CFU/g})$ ۶/۴۵ کاهش پیدا کرد (۲۰). تعداد کلی‌فرم‌ها نیز با افزودن ۳۵۰ از ۷/۱۷ به $\log(\text{CFU/g})$ ۴/۶۵ رسید (۱۳). در مطالعه فلکی و همکاران (۲۰۱۶) نیز همین نتیجه را به دست آوردند (۴۱). در این مطالعه فرمالین موجب کاهش تعداد بیفیدوباکتر و کلستریدیوم در ایلئوم و افزایش عددی لاکتوباسیل‌ها در روده گردید. البته مطالعه زیادی در خصوص اثر فرمالین بر میکروفلور روده پرداخته نشده است و بیشتر آن‌ها با بررسی اثر آن بر عملکرد پرنده و قابلیت هضم خوراک به این نتیجه رسیده‌اند به طور غیر مستقیم به می‌تواند بر باکتری‌های روده موثر باشد (۳۱).

به طور کلی، زنیان بر باکتری‌های مفید بی‌تأثیر بوده و با از بین بردن باکتری‌های پاتوژن (کلستریدیوم‌ها) موجب بهبود ساختار روده (طول کریبیت‌ها و نسبت طول کریبیت به عمق پرزها) در ژئوژنوم و دئودنوم طیور می‌شود، هر چند که

و همکاران (۲۰۱۵) ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ ppm زنیان را به خوراک طیور گوشتی افزودند و مشاهده کردند که اندازه طول پرز در هر سه تیمار و اندازه عمق و نسبت طول پرز به عمق کریبیت فقط در ۳۵۰ ppm افزایش معنی‌دار داشته است (۱۳). چادهاری (۲۰۱۸) زنیان را به میزان ۴۰۰ ppm به خوراک اضافه کرد و در روز ۳۹ مشاهده نمود که زنیان موجب کاهش عددی طول پرز، عمق کریبیت و نسبت طول پرز به عمق کریبیت گردید. این کاهش در دئودنوم بیشتر از ژئوژنوم بود (۸). تحقیقات زیادی در خصوص اثر فرمالین بر ریخت‌شناسی روده انجام نشده است (۳۱). در این مطالعه فرمالین اثر مثبتی بر ریخت‌شناسی روده داشت. با این حال، به گزارش قدیانلو، افزودن فرمالین به خوراک در ۲۸ روزگی تغییر معنی‌داری در طول، ضخامت پرز، عمق کریبیت و نسبت طول پرز به عمق کریبیت بوجود نیاورد. اما، در ۱۴ روزگی باعث کاهش معنی‌دار عمق کریبیت شد (۳۲).

در مطالعه حاضر، تعداد باکتری‌های روده با سایر مطالعات همخوانی داشت (۳۳, ۳۴). نشان داده شده است که باکتری‌های مفید روده شامل لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترها به اسانس‌های گیاهی مقاوم هستند (۳۵). در این مطالعه، استفاده از زنیان بر جمعیت باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک اثر نامطلوبی نداشت. چادهاری (۲۰۱۸) نیز همین نتیجه را گزارش کرد (۸). در مطالعه حاجی‌پور و همکاران (۲۰۱۸) با مصرف زنیان در بلدرچین تعداد لاکتوباسیل‌ها از ۷/۳۷ به $\log(\text{CFU/g})$ ۸/۵۴ افزایش یافت (۳۶). ولی‌اللهی و همکاران (۲۰۱۴) با خوراندن ۲۰۰ ppm زنیان مشاهده نمودند که تعداد لاکتوباسیل‌ها در روده از ۴/۴۴ به $\log(\text{CFU/g})$ ۵/۲۴ افزایش یافت (۲۰). در مطالعه گنجه و همکاران (۲۰۱۵)، تعداد لاکتوباسیل‌ها با افزودن ۲۵۰ ppm اسانس زنیان موجب کاهش تعداد لاکتوباسیل‌ها از ۷/۰۷ به $\log(\text{CFU/g})$ ۷/۰۱ در ۴۲ روزگی شد. اما با بیشتر شدن زنیان به ۳۵۰ ppm تعداد باکتری‌ها رو به افزایش گذاشت (۱۳). به گزارش شریفی (۲۰۱۳)، تعنا فلفلی و زیره تعداد بیفیدوباکتر را کاهش دادند (۳۳) و این درحالی است که در این مطالعه در ایلئوم زنیان با غلظت ۱۷۵ ppm تعداد بیفیدوباکتر را کاهش

- morphology in broiler chicken. *Livestock science*. 2012;147(1-3):113-8.
10. Moein MR, Zomorodian K, Pakshir K, Yavari F, Motamedi M, Zarshenas MM. Trachyspermum ammi (L.) sprague: chemical composition of essential oil and antimicrobial activities of respective fractions. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*. 2015;20(1):50-6.
11. Navarro V, Villarreal ML, Rojas G, Lozoya X. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *Journal of ethnopharmacology*. 1996;53(3):143-7.
12. Pattnaik S, Subramanyam V, Kole C. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*. 1996;86(349):237-46.
۱۳. گنج، معینی س. تأثیر پودر و عصاره هیدروالکلی زبان در مقایسه با آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی، ریخت‌شناسی روده و کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی. علوم دامی ایران. ۲۰۱۵؛۴۶(۳):۲۸۹-۹۹.
14. Adams Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. USA: Allured Publishing Corporation: Carol Stream; 1995.
15. Khaksar V, Golian A, Raji A. Effect of Feed Additives on Intestinal Histomorphology of Broilers Fed Wheat-Based Diet. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 2013;3(4).
16. Slaoui M, Fiette L. Histopathology procedures: from tissue sampling to histopathological evaluation. *Drug safety Evaluation*: Springer; 2011. p. 69-82.
۱۷. کوچکی اینامدع. اثر کربوهیدرات‌های دیواره سلولی سبوس و دانه گندم در جیره‌های همراه و بدون آنزیم بر فعالیت آنزیم‌های سرم و روده، اسیدهای چرب فرار، ریخت‌شناسی و جمعیت باکتریایی روده جوجه‌های گوشتی. فصلنامه علمی پژوهشی وزارت جهاد کشاورزی. ۱۳۹۴؛۲۵۳:۲۸-۶۸.
18. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods — A review. *International journal of food microbiology*. 2004;94(3):223-53.
19. Soltani Howyzeh M., Sadat Noori SA, Shariati V. Essential oil profiling of Ajowan (*Trachyspermum ammi*) industrial medicinal plant. *Industrial Crops and Products*. 2018;119:255-9.
- این اثر در دژدودنوم قوی‌تر و معنی‌دارتر بود. فرمالین نیز می‌تواند بر خواص ریخت‌شناسی (طول کریپت‌ها) و کاهش کلستریدیوم‌ها در دژدودنوم موثر باشد، اما در ژئوزنوم بر میکروفلور روده بی‌تأثیر بود.

منابع

1. Da Silva JPL, Franco BdM. Application of oregano essential oil against *Salmonella enteritidis* in mayonnaise salad. *Embrapa Agroindústria de Alimentos-Artigo em periódico indexado (ALICE)*. 2012;2(5):70-5.
2. Wales AD, Allen VM, Davies RH. Chemical treatment of animal feed and water for the control of *Salmonella*. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2010;7(1):3-15.
3. Zulkifli I, Fauziah O., Omar A.R., Shaipullizan S., Siti Selina A.H. Respiratory epithelium, production performance and behaviour of formaldehyde-exposed broiler chicks. *Veterinary Research Communications*. 1999;23(2):91-9.
۴. نقی‌زاده ف، کریمی‌ترشیزی م.ا، رحیمی ش. تأثیر نانوسیلور و ضدعفونی‌کننده‌های خوراک بر عملکرد، جمعیت میکروبی روده و کلسترول زرده مرغ تخم‌گذار. تولیدات دامی. ۲۰۱۱؛۱۳(۱):۵۸-۴۹.
5. Arts JH, Rennen MA, de Heer C. Inhaled formaldehyde: evaluation of sensory irritation in relation to carcinogenicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2006;44(2):144-60.
6. Abdel-Fattah S.A., El-Sanhoury M.H., El-Mednay N.M., Abdel-Azeem F. Feed additive strategies to control gastrointestinal colonisation of salmonella in poultry. *International journal in poultry science*. 2008;7:215-22.
7. Brenes A, Roura E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal feed science and technology*. 2010;158(1-2):1-14.
8. Chowdhury S, Mandal GP, Patra AK, Kumar P, Samanta I, Pradhan S, et al. Different essential oils in diets of broiler chickens: 2. Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes. *Animal feed science and technology*. 2018;236:39-47.
9. Agostini P, Sola-Oriol D, Nofrarias M, Barroeta A, Gasa J, Manzanilla E. Role of in-feed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology, and

۲۹. ضیایی لسنممان. اثر پودر دانه زنیان و ویتامین C بر ریخت شناسی روده جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی. دومین همایش ملی پژوهش‌های نوین در علوم دامی. ۱۳۹۷.
30. Ricke SC, Richardson K, Dittoe D. Formaldehydes in feed and their potential interaction with the poultry gastrointestinal tract microbial community-A Review. *Frontiers in Veterinary Science*. 2019;6:188.
۳۱. قدیانلو، رحیمی، شعبان، ترشیزی ک، محمدامیر. اثر اسیدهای آلی و فرمالدئید بر مرفولوژی روده جوجه‌های گوشتی و کاهش آلودگی سالمونلایی دان. مجله تحقیقات دامپزشکی (Journal of Veterinary Research). 2009;64(3).
32. Sharifi SD, Khorsandi SH, Khadem AA, Salehi A, Moslehi H. The effect of four medicinal plants on the performance, blood biochemical traits and ileal microflora of broiler chicks. *Veterinarski arhiv*. 2013;83(1):69-80.
33. Bogusławska-Tryk M, Szymeczko R, Piotrowska A, Burlikowska K, Śliżewska K. Ileal and Cecal Microbial Population and Short-Chain Fatty Acid Profile in Broiler Chickens Fed Diets Supplemented with Lignocellulose. *Pakistan Veterinary Journal*. 2015;35(2).
34. Ouwehand A, Tiihonen K, Kettunen H, Peuranen S, Schulze H, Rautonen N. In vitro effects of essential oils on potential pathogens and beneficial members of the normal microbiota. *Veterinarni Medicina*. 2010;55(2):71-8.
35. Hajiaghapour M, Rezaei-pour V. Comparison of two herbal essential oils, probiotic, and mannan-oligosaccharides on egg production, hatchability, serum metabolites, intestinal morphology, and microbiota activity of quail breeders. *Livestock science*. 2018;210:93-8.
36. Estrada A, Wilkie D, Drew M. Administration of *Bifidobacterium bifidum* to chicken broilers reduces the number of carcass condemnations for cellulitis at the abattoir. *Journal of Applied Poultry Research*. 2001;10(4):329-34.
37. Mountzouris K, Paraskevas V, Tsirtsikos P, Palamidi I, Steiner T, Schatzmayr G, et al. Assessment of a phyto-genic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. *Animal feed science and technology*. 2011;168(3-4):223-31.
38. Myers SR, Hawrelak J, Cattley T. Essential oils in the treatment of intestinal dysbiosis: a preliminary in vitro study. *Alternative Medicine Review*. 2009;14(4):380-4.
20. Valiollahi MR, Gholami M, Namjoo AR, Rahimian Y, Rafiee A. Effect of using sumac (*Rhus coriaria* L.) and ajwain (*Trachyspermum copticum*) powders on performance and intestinal microbial population in broiler chicks. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*. 2014;4(10):545-9.
21. Shakeri G, Jamshidi A., Khanzadi S., Azizzadeh M. Modeling of *Salmonella typhimurium* growth under the effects of *Carum copticum* essential oil, temperature, pH and inoculum size. *Veterinary Research Forum*. 2017;8(1):59-65.
۲۲. شریفان ا، پرویزآبرومند آ، متقیان پور ز. بررسی اثر روش استخراج بر ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه زنیان (*Carum copticum*). علوم غذایی و تغذیه. ۲۰۱۰;۲(۲):۱۰-۸.
۲۳. خسروی پور س، رضائیان دلوثی ر. فعالیت ضد باکتریایی اسانس گیاه زنیان بر باکتری‌های *Pectobacterium carotovorum* و *Escherichia coli* subsp. *carotovorum* در محیط کشت آگار مغذی. تحقیقات بیماری‌های گیاهی. ۱۳۹۴;۲(۲):۴۳-۵۶.
24. Rota MC, Herrera A, Martínez RM, Sotomayor JA, Jordán MJ. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*. 2008;19(7):681-7.
۲۵. نقدی بادی ح، یزدانی د، نظری ف، ساجد م. ع. تغییرات فصلی عملکرد و ترکیبات اسانس آویشن (*Thymus vulgaris*) در تراکم‌های مختلف کاشت. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی. ۲۰۰۳;۵(۵):۵۱-۶.
26. Ma Y, Guo T. Intestinal morphology, brush border and digesta enzyme activities of broilers fed on a diet containing Cu²⁺-loaded montmorillonite. *British Poultry Science*. 2008;49(1):65-73.
27. Rahimi S, Karimi K. Effect of various levels of probiotic on morphology of small intestinal mucosa in broiler chicks. 14th World Vet. Poult. Congr., Istanbul. Turkey World's Poultry Sci Assoc, Turkish Branch, Ankara, Turkey. 2005.
28. Iji P, Hughes R, Choct M, Tivey D. Intestinal structure and function of broiler chickens on wheat-based diets supplemented with a microbial enzyme. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2001;14(1):54-60.

39. Asif HM, Sultana S, Akhtar N. A panoramic view on phytochemical, nutritional, ethanobotanical uses and pharmacological values of *Trachyspermum ammi* Linn. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014;4:S545-S53.
40. Vitali LA, Beghelli D, Nya PCB, Bistoni O, Cappellacci L, Damiano S, et al. Diverse biological effects of the essential oil from Iranian *Trachyspermum ammi*. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016;9(6):775-86.
41. AR SM. Growth performance, carcass characteristics and intestinal microflora of broiler chickens fed diets containing *carum copticum* essential oil. *Poultry Science Journal*. 2016;4(1):37-46.

Evaluation of *Trachyspermum ammi* and formaldehyde on microbial population and intestine morphology in broilers

Arash Yarmohammadi¹, **Mohsen Farkhoy^{1*}**, Ali misaghi², Neda Nafarieh¹, abas barin¹

¹ Department of animal health and nutrition, faculty of Veterinary medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

² Department of Food Hygiene and Quality Control, faculty of Veterinary medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Abstract

This study was conducted to evaluate the effect of formalin and *Trachyspermum ammi* (ajwain) of three concentrations on the microbial population and morphology of broilers. 150 one-day-old male broiler chicks were randomly divided into groups comprising of three replicates in each group. Each replicate contained 10 chicks. Five experimental diets composed of 1) basal diet with no additive 2) basal diet+ 175 ppm *T. ammi* 3) basal diet+ 350 ppm *T. ammi* 4) basal diet+ 700 ppm *T. ammi* 5) basal diet+ 0.1 percent formaldehyde. At the end of the experiment intestinal morphometric indices and microbiota counts were determined. In ileum, the count of bifidobacteria decreased in the groups received formaldehyde; ajwain at 700 ppm decreased the number of Lactobacilli but had no adverse effect on beneficial bacteria (Lactobacilli and Bifidobacteria). Also, formaldehyde and ajwain at 350 and 700 ppm decreased clostridia population in Ileum. In caecum, ajwain increased Bifidobacteria population at the concentration of 700 ppm and decreased Clostridia number at the concentration of 350 and 700 ppm. There was no difference between Coliforms counts in groups in Ileum and caecum. In duodenum, villus height increased in the groups with 175 ppm ajwain, villus height and villus height to cryptal depth ratio at 350 ppm ajwain. Use of ajwain at 700 ppm has no effect on duodenum morphology. However, formaldehyde increased villus height, villus width and crypt depth but had no impact on villus height to cryptal depth ratio. In jejunum, there was no difference in intestine morphology between the groups fed by basal diet and other groups except formaldehyde increased villus height. In conclusion, both ajwain and formaldehyde could improve intestine morphology and decrease undesirable bacterial counts.

Keywords: formaldehyde, intestine morphology, microbial population, *Trachyspermum ammi*

* mfarkhoy@ut.ac.ir