Archive of SID

مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۴، دوره ۷۰، شماره ۲، ۲۰۲-۱۹۵
Original Article
Journal of Veterinary Research. 70,2: 195-202, 2015

اثر سطوح مختلف اسانس درمنه دشتی (*Artemisia sieberi*) بر خصوصیات مورفولوژی روده، جمعیت میکروبی و سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی

شکوفه غضنفری[1*] مسعود ادیب مرادی[2] فرزانه رحیمی نیت[1]
۱) گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، تهران-ایران
۲) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران

(دریافت مقاله: ۸ بهمن ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۹ فروردین ماه ۱۳۹۴)

چکیده

زمینه مطالعه: اسانس‌ها به عنوان محرک‌های رشد نقش مهمی در بهبود فلور میکروبی و خصوصیات مورفولوژیکی روده و سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی دارند. **هدف:** هدف از تحقیق حاضر، بررسی سطوح مختلف اسانس درمنه دشتی بر مورفولوژی روده، جمعیت میکروبی سکوم و سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی بود. **روش کار:** از ۲۰۰ قطعه جوجه یک روزه سویه رأس (۳۰۸) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار به مدت ۴۲ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (جیره پایه)، سطوح مختلف اسانس درمنه دشتی (۱۰۰mg/kg، ۲۰۰ و ۳۰۰ + جیره پایه) و ۶۰۰mg/kg آنتی بیوتیک فلاووفسفولیپول + جیره پایه بودند. در ۴۲ روزگی، خصوصیات مورفولوژی و جمعیت میکروبی روده و سیستم ایمنی از طریق اندازه‌گیری وزن بورس و طحال و اندازه‌گیری پادتن تولیدی مورد ارزیابی قرار گرفت. **نتایج:** تیمار اسانس درمنه دشتی در سطح ۳۰۰mg/kg و تیمار آنتی بیوتیک بیشترین جمعیت لاکتوباسیل و کمترین جمعیت اشرشیاکلی را در بین تیمارهای آزمایشی داشتند ($p<0/0001$). تیمارهای اسانس درمنه دشتی و آنتی بیوتیک بیشترین ارتفاع پرز را در بخش دئودنوم نسبت به تیمار شاهد داشتند ($p<0/01$). ضخامت لایه اپیتلیوم و تعداد سلول‌های گابلت در تیمارهای اسانس درمنه دشتی و آنتی بیوتیک در تمامی بخش‌های روده کوچک کمتر از تیمار شاهد بود ($p<0/05$). از نظر عمق کریپت و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. تیمار اسانس درمنه دشتی در سطح ۳۰۰mg/kg دارای بیشترین مقدار تیتر نیوکاسل بود ($p>0/01$). **نتیجه گیری نهایی:** افزودن اسانس درمنه دشتی در سطح ۳۰۰mg/kg به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی می‌تواند در تثبیت میکروفلورای مفید (لاکتوباسیل) و کاهش باکتری‌های مضر (اشرشیاکلی) سکوم مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: تیتر آنتی بادی، درمنه دشتی، جوجه گوشتی، لاکتوباسیل، ارتفاع پرز

مقدمه

نگهداری صنعتی طیور در ابعاد وسیع و به صورت فشرده، امکان بروز بیماریها را افزایش داده که جهت کاهش میزان وقوع این بیماریها و نیز کمک به افزایش رشد و بهبود صفات تولیدی از مواد شیمیایی مختلف از جمله آنتی بیوتیک‌ها در سطح وسیعی در واحدهای پرورش جوجه‌های گوشتی استفاده می‌شود (۱۹). استفاده از آنتی بیوتیک‌ها به واسطه ایجاد مقاومت دارویی در انسان، پسماند دارو در لاشه و به هم خوردن تعادل میکروفلور طبیعی روده ممنوع شده است. به گونه‌ای که در بسیاری از نقاط جهان توصیه‌های فراوانی در رأستای عدم استفاده از آنتی بیوتیک‌های محرک رشد می‌شود، لذا برای جبران این کاهش رشد، یافتن جایگزین‌های مناسب ضروری است. در سال‌های اخیر، گیاهان آروماتیک و عصاره آنها به عنوان محرک‌های بالقوه رشد، توجه بسیاری را به خود جلب کرده‌اند. درمنه دشتی با نام علمی *Artemisia sieberi* Besser از خانوادهٔ Compositae تیره Radiae می‌باشد. درمنه گیاهی بوته‌ای به رنگ سبز متمایل به خاکستری و دارای ریشه عمودی ضخیم و ساقه‌های گلدار به ارتفاع ۳۰Cm تا ۴۰ می‌باشد. جنس درمنه دارای بیش از ۴۰۰ گونه در سطح جهان و ۳۴ گونه در ایران می‌باشد. موطن اصلی آن آسیا بوده و از این قاره به اروپا و آمریکا برده شده است. درمنه یکی از گیاهان با ارزش مناطق بیابانی ایران است که پراکندگی جغرافیایی آن در برگیرنده سراسر ایران به جز نواحی غربی است(۳۴). Lopes-Lutz و همکاران در سال ۲۰۰۸ مهم‌ترین ترکیبات موجود در گیاه درمنه را سابینن، بتاتیوجن، میرسن و کامفور بیان کردند و اسانس این گیاه را به سه گروه شیمیایی اصلی تقسیم کردند؛ اسانس غنی از تیوجن، اسانس غنی از سابینن و اسانس غنی از اپوکسی سیمن (۲۰). Yousefi و همکاران در سال ۲۰۰۵، نشان دادند فعالیت ضدمیکروبی اسانس *Artemisi hausskenechti* از آنتی بیوتیک‌های مانند نالیدیکسیک اسید، جنتامایسین، سفالونین، آموکسی سیلین بیشتر است (۳۳). ترکیبات اصلی اسانس این گیاه سینئول، کامفور، آرتمیزین و بورنئول می‌باشد. Royo و همکاران در سال ۱۹۹۹، با انجام تحقیقات روی اسانس گیاه *Artemisia sieberi* خواص ضدمیکروبی آن را به وجود ترکیباتی مانند کامفور، آلفاتیوجن، سینئول، میرسین بورنئول، سیمن نسبت دادند (۲۷). آرتمیزین یک سزکویی ترپن لاکتون است که از گیاه درمنه سیبری بدست می‌آید، آرتمیزین در ساختمان شیمیایی خود دارای یک گروه اندوپراکسید تری‌اکسان است که فعالیت بیولوژیک از جمله فعالیت ضدمالاریایی دارد (۱۲). در پزشکی سنتی ایران، از دم کرده این گیاه برای

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۳۶۰۴۰۹۰۷ نمابر: ۰۲۱-۳۶۰۴۰۹۰۷ Email: shghazanfari@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

درمان نارسایی کبد، گلودرد، عفونت گوش، اشتهاآور، ضد انگل اسکاریس، درمان نفخ و ضد التهاب استفاده می‌شود (۵). فلور میکروبی دستگاه گوارش نقش مهمی در تغذیه، سم‌زدایی ترکیبات مشخص، رشد و حفاظت در مقابل باکتری‌هـای پاتوژن ایفا می‌کند. در جوجه‌ها عدم وجود میکروفلور طبیعی یک عامل اصلی برای ایجاد عفونت باکتریایی می‌باشد. از طرفی مشخص شـده که فلور میکروبی نرمال دستگاه گوارش دارای آثار مثبتی بر سیستم ایمنی بدن می‌باشد. اسانس‌ها نقش شاخص و عملکردی مهمی در تغییر و اصلاح میکروفلور روده‌ای و موضعی شدن باکتری‌های پاتوژن ایفا می‌کنند. به نظر می‌رسـد بیشترین خاصیت ضد میکروبی در کلیه اسانس‌های مورد مطالعه از ترکیب‌های مونوترپنی ناشی می‌شود. ثابت شده است که ترکیب اصلـی گیاه درمنه یـک مونوترپن بنام تیوجن می‌باشـد، مصرف این گیاه موجب افزایش ترشح اسید معده و تولید صفرا می‌شود که در دسترسی بهتر به مواد مغذی و تکامل سیستم ایمنی و حجم آنتی بادی تولیدی تأثیر گذار اسـت (۲۱). Khalaji و همکاران در سال ۲۰۱۱، نشان دادند افزودن پودر برگ درمنه سیبری به میزان ۱٪ در جیره جوجه‌های گوشتی موجب افزایش مونوسـیت و فعالیت بیشتر ماکروفاژها در ارتباط با سیستم ایمنی می‌شود، اما در پاسخ ایمنی بر علیه تزریق گلبول قرمز گوسفند تأثیری نداشت. آنها همچنین گزارش کردند پودر برگ درمنه سیبری جمعیت *E.coli* و کلی فرم در سـکوم را کاهش می‌دهد، اما تأثیری بر جمعیت لاکتوباسیل ندارد (۱۷). ثابت شده است حضور میکروفلورای مفید سبب افزایش طول پرز، کریپت و تکثیر سلولی می‌گردد، همچنین باکتری‌های بیماریزا با تولید ترکیبات سمی ماننـد آمونیاک، باعث تخریب لایه اپیتلیوم می‌شـوند و با افزایش ترن‌آور سـلولی برای نوسـازی سلول‌های آتروفی شـده ارتفاع پرز کاهش و عمق کریپت افزایش می‌یابد. همچنین گزارش شـده اسـت که ارتفاع پرز روده جوجه‌های تغذیه شده با مکمل اسیدآلی و گیاهان دارویی در مقایسه با گروه شاهد بالاتر می‌باشد (۱). هدف از این تحقیق بررسی سطوح مختلف اسانس درمنه دشتی *Artemisia sieberi* بر مورفولوژی روده، جمعیت میکروبی سکوم و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش کار

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی رأس سویه ۳۰۸ با ۵ تیمار و ۴ تکرار و تعداد ۱۰ پرنده در هر تکرار انجام شد. جیره‌های آزمایشی بر اسـاس ذرت کنجاله سویا با توجه به نیازمندی‌های توصیه شده توسط کاتالوگ رأس ۳۰۸ برای دوره‌های مختلف آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) با استفاده از نرم افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم گردیدند (جدول۱). تیمارهای آزمایشی شـامل: ۱) جیره پایه +۱۰۰mg/kg اسـانس درمنه دشـتی، ۲) جیره پایه +۲۰۰mg/kg اسانس درمنه دشـتی، ۳) جیره پایه +۳۰۰mg/kg اسانس درمنه دشتی، ۴) شاهد (جیره پایه و فاقد اسانس درمنه دشتی)، ۵) جیره پایه +۶۰۰mg/kg آنتی بیوتیک فسفوفلاوولیپول بودند. شرایط محیطی برای همه گروه‌های آزمایشـی یکسان بود. اسانس درمنه دشتی از شرکت باریج اسانس (کاشان، ایران) تهیه شد. طبق آنالیز شیمیایی اسانس درمنه دشتی (توسط آزمایشگاه مجهز به دستگاه GC/MASS در شرکت باریج اسانس)، این اسـانس دارای ۴۰٪ آلفا-تیوجن می‌باشد. بر این اساس اسانس درمنه دشـتی مورد استفاده در این آزمایش از نوع غنی از تیوجن می‌باشد. اسانس درمنه دشتی ابتدا با روغن سویای مورد استفاده در جیره مخلوط شده و پس از آن مخلوط همگن حاصل به جیره اضافه شد.

برای بررسـی تغییرات فلور میکروبی در دسـتگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی از محتویات سکوم نمونه برداری شد. بدین منظور از هر تکرار ۱ پرنده با وزن نزدیک به میانگین انتخاب، کشتار شده و ۱g مواد دفعی از محل سـکوم برداشته شد و به ۵ cc محلول گلیسرین اضافه شد، سپس نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات میکروبی (آزمایشگاه میکروبیولوژی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران) فریز شدند. فراوانی گونه‌های لاکتوباسیل و اشرشـیاکلی در محتویات سکوم تعیین شد. برای انجام آزمایش از روش cfu (شمارش قطره‌های کلنی) در محلول استریل بافر فسفات PBS استفاده گردید (۱۵). محیط‌های کشـت مورد اسـتفاده به صورت تجاری از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. برای شمارش لاکتوباسیل‌ها از محیط کشت MRS اسـتفاده شد و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ ° انکوباسیون گردید و برای شمارش اشرشیاکلی از محیط کشـت مکانکی آگار استفاده شد و به مدت ۲۴ سـاعت در دمای ۳۷ °C انکوباسـیون گردید (۸). برای محاسـبه تعداد باکتری‌ها، تعداد کلنی شمارش شده براساس واحد کلنی شکل یافته (cfu) colony forming unit در هر گرم نمونه سکوم استفاده شد.

برای بررسی تغییرات مورفولوژیکی در روده کوچک جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی، از هر تکرار ۱ پرنده با وزن نزدیک به میانگین انتخاب، کشتار شده و از هر سه قسمت روده، دئودنوم (قسمت میانی دئودنوم)، ژژنوم (قسـمت میانی ژژنوم) و ایلئوم (۵Cm بعد از زائده مکل) هر یک به اندازه ۲Cm نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها پس از شستشو با محلول بافرفسفات سـالین (PBS) به داخل ظروف پلاسـتیکی حاوی ۶-۷ mL فرمالین ۱۰٪ انتقال یافتند. برای تهیه اسـلایدهای بافتی با ضخامت کم از روش واکس پارافین استفاده شد. آزمایش‌های مورفولوژی مطابق با روش IJI و همکاران در سال ۲۰۰۱ انجام شد (۱۶). برای برش‌گیری از قالب پارافینی از دستگاه میکروتوم اسـتفاده شـد. برش‌های انجام شـده ضخامتی در حدود ۶µm داشـتند. از ائوزیـن برای رنگ‌آمیـزی و از میکروسـکوپ نوری متصل به کامپیوتر برای بررسی مورفولوژی روده استفاده شد. پارامترهای ارتفاع پرز، عمق کریپت، ضخامت اپیتلیوم و تعداد سلول‌های گابلت اندازه‌گیری شد و نسبت بین ارتفاع پرز به عمق کریپت از طریق محاسبه بدست آمد.

برای بررسـی غلظت تیتر آنتی بادی، واکسـن نیوکاسل-آنفولانزا به صـورت ترکیبـی در ۸ روزگی به صورت زیر جلدی تزریق شـد. همچنین

www.SID.ir

Archive of SID

واکسن نیوکاسل (لاسوتا) در ۱۸ روزگی از طریق آب آشامیدنی به جوجه‌ها داده شد. سپس جهت تعیین تیتر آنتی‌بادی در سن ۲۸ روزگی از هر تکرار بـه طور تصادفی ۲ قطعه پرنده انتخاب و خونگیـری از ورید بال به میزان ۲mL انجام شـد و نمونه‌های خون جهـت اندازه‌گیری پارامترهای خونی به آزمایشگاه انتقال یافت. در آزمایشگاه نمونه‌های خون پس از جداسازی سـرم بوسـیله سـانترفیوژ در ۳۰۰۰rpm دور در دقیقه بـرای تعیین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسـل و آنفولانزا با استفاده از روش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین در سن ۴۲ روزگی در زمان کشتار دو پرنده از هر تکرار انتخاب و وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال اندازه گیری شد و به صورتی درصدی نسبت به وزن زنده بیان شد.

همه داده‌های درصدی قبل از تجزیه آماری به Arcsin تبدیل شدند. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار با اسـتفاده از رویه GLM در نرم افزار SAS تجزیه آماری گردید. تفاوت بین میانگین تیمارها بوسـیله آزمون چند دامنه‌ای توکی آزموده شـد و معنی‌داری در سطح ۵٪ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

جمعیت میکروبی سکوم: اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی سـکوم در جدول ۲ ارائه شـده است. نتایج نشـان داد که از لحاظ جمعیت باکتریایی و میکروفلور روده‌ای بین گروه‌های مختلف آزمایشـی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<0/05$). بطوریکه تیمار اسـانس درمنه دشتی در سـطح ۳۰۰mg/kg و تیمار آنتی بیوتیک بیشـترین جمعیت لاکتوباسیل و کمتریـن جمعیت اشرشـیاکلی را در بین تیمارهای آزمایشـی داشـتند ($p<0/0001$). تیمار شاهد کمترین جمعیت لاکتوباسیل و بیشترین جمعیت اشرشـیاکلی را در بین تیمارهای آزمایشی داشت ($p<0/0001$). تیمارهای اسـانس درمنه دشتی در سـطوح ۱۰۰mg/kg و ۲۰۰ از نظر جمعیت‌های لاکتوباسیل و اشرشیاکلی در حد متوسط بودند.

خصوصیـات مورفولـوژی روده کوچـک: اثـر تیمارهای آزمایشـی بر خصوصیات مورفولوژیکی در جدول ۳ ارائه شـده است. نتایج نشان داد که اسانس درمنه دشتی بر ارتفاع پرز در دئودنوم و ضخامت لایه اپیتلیوم وتعداد سـلول‌های گابلت در بخش‌های دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم تأثیر معنی‌داری می‌گـذارد. بـه طوریکه تیمارهای اسـانس درمنه دشـتی و آنتی بیوتیک بیشـترین ارتفاع پرز را در بخش دئودنوم نسـبت به تیمار شـاهد داشـتند ($p<0/01$). ضخامت لایه اپیتلیوم و تعداد سـلول‌های گابلت در تیمارهای اسانس درمنه دشتی و آنتی بیوتیک در تمامی بخش‌های روده کوچک کمتر از تیمار شـاهد بود ($p<0/05$). عمق کریپت و نسـبت ارتفاع پرز به عمق کریپـت در بخش‌های دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم از لحاظ آماری بین تیمارها تأثیر معنی‌داری نشان نداد ($p>0/05$).

سیستم ایمنی: نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس آنفولانزا و نیوکاسـل در جدول ۴ گزارش شـده اسـت. تیتر آنفولانزا تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($p>0/05$). غلظت تیتر نیوکاسـل در تیمار ۳۰۰mg/kg و ۱۰۰ اسانس درمنه دشتی در مقایسه با سایر تیمارها بیشترین بود ($p<0/01$). همچنین از نظر وزن بورس و طحال اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($p>0/05$).

جدول۱. ترکیب جیره غذایی پایه دوره‌های مختلف رشـدی در جوجه‌های گوشتی [*] ترکیب مکمل معدنی اسـتفاده شـده به ازای هر کیلوگرم شامل:g ۵۰ منگنز، g۵۰ روی، g۲۵ آهن،g ۵ مس،mg ۵۰۰ ید،mg ۱۰۰ سلنیوم می‌باشد. [**]ترکیب مکمل مکمل ویتامینی اسـتفاده شده به ازای هر کیلوگرم شامل:IU ۳۵۰۰۰۰۰ ویتامین A، IU ۱۰۰۰۰۰۰ ویتامیـن D۳،IU ۹۰۰۰ ویتامیـن E، mg ۳۳۰۰ mg،B۱۲ ۷/۵ ریبوفلاوین، mg ۱۵۰۰۰ نیاسین، mg ۵۰۰۰ پانتوتنیک اسید، mg ۱۰۰۰ منادیون، mg۱۵۰ پیریدوکسین، mg ۵۰۰ بیوتین، mg ۲۵۰۰۰۰ کولین می‌باشد.

(٪) اجزای جیره	دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)	دوره رشد (۲۴-۱۱روزگی)	دوره پایانی (۴۲-۲۵روزگی)
ذرت	۵۵/۹۵	۵۷/۷۲	۶۳
کنجاله سویا	۳۶/۶۵	۳۴/۲۶	۲۹/۲۵
روغن سویا	۲/۷۹۵	۴/۱۷	۴
دی کلسیم فسفات	۱/۷۸۵	۱/۴۵	۱/۳۵
سنگ آهک	۱/۳۳	۱/۱۶	۱/۱۴
نمک	۰/۲	۰/۲	۰/۲۹
مکمل ویتامینی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی ال-متیونین	۰/۳۹	۰/۳۲۵	۰/۲۷
ال- لایزین	۰/۴	۰/۲۱۵	۰/۲
انرژی قابل سوخت و ساز (Kcal/kg)	۲۹۳۸	۳۰۵۵	۳۱۰۰
(٪) ماده خشک	۸۶/۱۰	۸۶/۸۶	۸۶/۸۷
(٪) پروتئین خام	۲۱/۴۸	۲۰/۳۷	۱۸/۵۷
(٪)کلسیم	۱/۰۱	۰/۹۱	۰/۸۲
(٪) فسفر قابل دسترس	۰/۵۱	۰/۴۴	۰/۴۱
(٪) لایزین	۱/۴۰	۱/۲۹	۱/۰۶
(٪)متیونین	۰/۷۲	۰/۶۵	۰/۵۷
(٪) سدیم کلراید	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۵

جدول۲. اثر سـطوح مختلف اسـانس درمنه دشـتی بر جمعیت میکروفلور سکوم در جوجه‌های گوشـتی (۴۲ روزگی). [a-b-c] تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیر مشابه معنی‌دار اسـت ($p<0/05$). [**] خطای اسـتاندارد میانگین. *cfu: واحد کلونی شکل یافته.

تیمار	میکروفلور سکوم (Log *cfu/g)	
	لاکتوباسیل	اشرشیاکلی
۱۰۰ mg/kg	۴/۸۵[b]	۵/۸۷[b]
۲۰۰ mg/kg	۵/۱۳[b]	۵/۷۳[b]
۳۰۰ mg/kg	۳/۶۳[c]	۶/۲۹[a]
شاهد	۵/۷۴[a]	۴/۴۶[c]
آنتی بیوتیک	۳/۳۳[c]	۶/۲۵[a]
SEM[**]	۰/۱۴۵	۰/۰۶
p Value	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳. اثر سطوح مختلف اسانس درمنه دشتی بر خصوصیات مورفولوژی روده باریک در جوجه‌های گوشتی (۴۲ روزگی). [c] تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف غیر مشابه معنی‌دار است ($p<0/05$). [*] خطای استاندارد میانگین.

تیمار / (µm) پارامترها	۱۰۰ mg/kg	۲۰۰ mg/kg	۳۰۰ mg/kg	شاهد	آنتی بیوتیک	±SEM	p value
دئودنوم							
ارتفاع پرز	۱۷۶۶[a]	۱۷۶۹/۵[a]	۱۷۶۸/۷[a]	۱۷۳۷/۵[b]	۱۷۶۰/۵[a]	۵/۹۵	۰/۰۰۹
عمق کریپت	۱۵۰/۲۵	۱۵۰/۵	۱۵۰/۲۵	۱۴۲/۲۵	۱۴۹/۲۵	۲/۸۱	۰/۲۳۳
نسبت ارتفاع/عمق	۱۱/۷۷	۱۱/۷۶	۱۱/۷۸	۱۲/۲۴	۱۱/۷۹	۰/۲۲	۰/۵۱۱
ضخامت لایه اپیتلیوم	۴۰[b]	۳۸/۵[b]	۳۸[b]	۴۹/۲۵[a]	۴۳[b]	۲/۰۱۵	۰/۰۰۷
تعداد سلول‌های گابلت	۷[b]	۶/۲۵[b]	۶[b]	۱۰/۲۵[a]	۷/۲۵[b]	۰/۶۲۵	۰/۰۰۲
ژژنوم							
ارتفاع پرز	۸۵۱/۷۵	۸۵۸/۲۵	۸۵۴/۵	۸۴۴	۸۶۰	۴/۲۶	۰/۱۲
عمق کریپت	۱۵۲/۵[ab]	۱۵۳[ab]	۱۵۵[a]	۱۴۴/۷۵ [b]	۱۴۸/۵ [ab]	۲/۹۵	۰/۱۵۸
نسبت ارتفاع/عمق	۵/۵۹	۵/۶۱	۵/۵۱	۵/۸۳	۵/۷۹	۰/۱۲	۰/۳۳۹
ضخامت لایه اپیتلیوم	۳۶/۲۵[ab]	۳۴/۵[b]	۳۵/۲۵[b]	۴۱[a]	۳۴[b]	۱/۶۵۵	۰/۰۵
تعداد سلول‌های گابلت	۷/۷۵[b]	۶/۵[b]	۶/۵[b]	۹/۷۵[a]	۶/۵[b]	۰/۴۳۷	۰/۰۰۰۵
ایلئوم							
ارتفاع پرز	۷۹۳	۷۹۷	۷۹۷/۵	۷۷۵/۵	۷۸۹	۶/۱۶	۰/۱۲۶
عمق کریپت	۱۰۴/۵	۱۰۴	۱۰۶	۹۹/۵	۱۰۹/۵	۴/۱	۰/۵۵۷
نسبت ارتفاع/عمق	۷/۶	۷/۶۹	۷/۵۶	۷/۸۴	۷/۲۴	۰/۳۱۷	۰/۷۴۷
ضخامت لایه اپیتلیوم	۳۱[b]	۲۸/۵[b]	۲۶/۷۵[b]	۳۷/۷۵[a]	۲۵/۷۵[b]	۱/۶۷	۰/۰۰۱
تعداد سلول‌های گابلت	۷/۷۵[b]	۷[bc]	۶[c]	۹/۵[a]	۵/۷۵[c]	۰/۴۷۸	۰/۰۰۲

جدول۴. اثر سطوح مختلف اسانس درمنه دشتی بر سیستم ایمنی در جوجه‌های گوشتی. [a-b-c] تفاوت ارقام در هر ستون با حروف غیر مشابه معنی‌دار است ($p<0/05$). [*] خطای استاندارد میانگین.

تیمار	تیتر آنفولانزا	تیتر نیوکاسل	٪بورس	٪طحال
۱۰۰ mg/kg	۳/۵	۵/۲۵[ab]	۰/۲۹۶	۰/۱۲
۲۰۰ mg/kg	۳/۶۲	۴/۲۵[b]	۰/۳۱	۰/۱۳
۳۰۰ mg/kg	۳/۸۷	۷/۱۲[a]	۰/۳۰	۰/۱۴
شاهد	۳/۸۷	۴/۲۵[b]	۰/۳۲	۰/۱۲
آنتی بیوتیک	۴/۱۲	۴/۳۷[b]	۰/۲۹	۰/۱
SEM*	۰/۲۹	۰/۵۵	۰/۰۱	۰/۰۱
p Value	۰/۶۳	۰/۰۰۲	۰/۱۶	۰/۱۹

بحث

جمعیت میکروبی سکوم: در این تحقیق، تیمار اسانس درمنه دشتی در سطح ۳۰۰mg/kg و تیمار آنتی بیوتیک بیشترین جمعیت لاکتوباسیل و کمترین جمعیت اشرشیاکلی را در بین تیمارهای آزمایشی داشتند ($p<0/0001$). این یافته‌ها با نتایج Tiihonen و همکاران در سال ۲۰۱۰ که بیان کردند اسانس باعث بهبود و تثبیت میکروفلورای سکوم به ویژه افزایش لاکتوسیلوس در ۴۲ روزگی می‌شود، مطابقت داشت (۳۰). لاکتوباسیل‌ها به همراه بیفیدوباکترها با تولید اسید استیک و اسید لاکتیک و همچنین کاهش pH می‌توانند مانع رشد باکتری‌های بیماریزا شوند. لاکتوباسیل‌ها قادرند از دو طریق سیستم ایمنی را تقویت و تحریک نمایند، این میکروارگانیسم‌ها در طول دیواره روده تکثیر و توسعه پیدا می‌کنند و یا این که با کمک آنتی ژن‌های آزاد شده، میکروارگانیسم‌های مرده را جذب و مستقیماً ایمنی را تحریک می‌نمایند(۳۲). مطالعات مختلفی انجام شده که در آن اثرات ضد میکروبی اسانس‌های مختلف علیه باکتری *E.coli* فلور روده پرندگان مورد بررسی قرار گرفته است (۲۶). Mahboubi و Farzin در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که اسانس درمنه دشتی جمع آوری شده از منطقه کاشان در برابر میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله باکتری‌های گرم مثبت، باکتری‌های گرم منفی، مخمرها و قارچها فعالیت ضد میکروبی نشان می‌دهد، که در این میان باکتری‌های گرم مثبت و قارچها نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری نشان دادند.آنها همچنین نتیجه گرفتند که خاصیت ضدمیکروبی اسانس درمنه دشتی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک بی‌سروس و ال-مونوسیتوژنوس بر علیه باکتری گرم مثبت بیشتر می‌باشد (۲۲). طی بررسی که توسط Greathead در سال ۲۰۰۳ انجام شده است، فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی در شرایط درون تنی به خاطر ماهیت چربی دوستی آنها می‌باشد که باعث تخریب یکپارچگی و ساختار غشای باکتریایی از طریق غیرفعال‌سازی آنزیم‌های خارج سلولی باکتریایی می‌باشد (۱۳). در کل این نتایج نشان دادند که افزودن اسانس درمنه دشتی در سطح ۳۰۰mg/kg به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی می‌تواند در تثبیت میکروفلورای مفید سکوم مؤثر باشد و در مقابل می‌تواند متأثر از شرایط تغذیه‌ای و محیطی دستخوش تغییرات اساسی گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

خصوصیات مورفولوژی روده کوچک: در این آزمایش مشخص شد که استفاده از اسانس درمنه دشتی ارتفاع پرز را در دئودنوم افزایش و ضخامت لایه اپیتلیوم و تعداد سلول‌های گابلت را در روده کوچک کاهش داد. مخاط دستگاه گوارش اولین بافتی است که در تماس با ترکیبات تغذیه‌ای است. وضعیت مخاط و ساختار میکروسکوپی آن شاخص خوبی از پاسخ روده به مواد فعال در خوراک و تغییرات مورفولوژی روده‌ای مانند پرزهای کوتاه‌تر و عمیق شدن کریپت در حضور مواد سمی می‌باشد (۳۱). افزایش ارتفاع ویلی منجر به افزایش سطح تماس و در نتیجه باعث جذب بیشتر مواد مغذی می‌شود (۳). به نظر می‌رسد کاهش تعداد سلول‌های گابلت متعاقب استفاده از اسانس، مربوط به شرایط تنش کمتر در محیط داخلی روده به دلیل کاهش بار میکروبی باشد که منجر به کاهش احتیاج برای محافظت لایه موکوسی می‌شود. از طرفی اسیدهای چرب فرار موجود در اسانس گیاهان موجب افزایش سرعت تولید سلول‌های کریپت می‌گردد، همچنین تحریک فعالیت ترشح آنزیم‌های گوارشی توسط اسانس منجر به افزایش عمق کریپت می‌شود. گزارش شده است که ارتفاع پرز روده جوجه‌های تغذیه شده با مکمل اسیدآلی و گیاهان دارویی در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود. احتمال دارد که ترکیبات مؤثره موجود در اسانس باکتری‌های بیماریزا را در دیواره روده کوچک کاهش دهند و با کاهش تولید ترکیبات سمی توسط باکتری‌ها باعث تغییر در مورفولوژی دیواره روده جوجه‌های گوشتی شده و در نتیجه از تخریب و آسیب سلول‌های مخاطی دیواره روده جلوگیری نمایند(۱۰). بنابراین منطقی است که فرض کنیم که باکتری‌ها می‌توانند باعث تغییرات در ساختار مخاط روده کوچک در جوجه‌های گوشتی شوند.

سیستم ایمنی: در این تحقیق، غلظت تیتر نیوکاسل در تیمار ۳۰۰mg/kg و ۱۰۰ اسانس درمنه دشتی در مقایسه با سایر تیمارها بیشترین بود ($p<۰/۰۱$). همچنین از نظر وزن بورس و طحال اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

Toghyani و همکاران در سال ۲۰۱۰، با بررسی اثر آویشن بر تیتر آنتی‌بادی نیوکاسل و آنفولانزا در ۲۴ روزگی و وزن اندام‌های لنفی بورس و طحال در ۴۲ روزگی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده نکردند (۲۹). Lavinia و همکاران در سال ۲۰۰۹ بیان کردند که استفاده از اسانس‌های روغنی استخراجی از چند گیاه دارویی باعث افزایش سطح ایمنی در طیور می‌شود (۱۸). همچنین Fararh و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند اسانس سیاه دانه سرشار از فلاونوئیدها است و موجب تقویت سیستم ایمنی در طیور می‌شود(۹). ترکیبات فعال گیاهان دارویی مانند پلی‌ساکاریدها، گلیکوپروتئینها و مشتقات اسید کافئیک و آلکامیدها توانایی تعدیل و بهبود سیستم ایمنی را دارند (۲). پلی ساکاریدهای گیاهی باعث بهبود ترشح پادتن‌ها می‌شوند (۲۴). همچنین خیلی از این ترکیب‌ها فعالیت ماکروفاژها را تقویت می‌کنند (۱۱). Mitsch و همکاران در سال ۲۰۰۴، با بررسی ترکیبی از روغن‌های مؤثره آن که حاوی تیمول، کارواکرول، کورکومین و پیپرین بود بیان نمودند که این مواد سبب کاهش تکثیر کلستریدیوم پرفرنجنس در روده و افزایش سطح ایمنی بدن آنها می‌گردد که شاید بتوان بهبود پاسخ ایمنی در ارتباط با تیتر (نیوکاسل یا آنفولانزا) را در استفاده از اسانس درمنه دشتی را به این موارد ربط داد (۲۳). Haq و همکاران در سال ۱۹۹۹، با بررسی اثر گیاه دارویی سیر گزارش کردند که تیتر آنتی بادی بر علیه نیوکاسل در ۸ هفتگی در تیمارهایی که در جیره خود سیر مصرف می‌نمودند، نسبت به شاهد بالاتر بود اما این برتری از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (۱۴). El-Habbak و همکاران در سال ۱۹۸۹ بیان داشتند که استفاده از سیر در جیره موجب افزایش تیتر آنتی‌بادی در بلدرچین ژاپنی می‌شود (۷). Cook و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند گیاه Astegalan وزن نسبی بورس را در ۲۸ روزگی نسبت به گروه کنترل افزایش می‌دهد (۴). در مطالعه دیگری Dong و همکاران در سال ۲۰۰۷، افزایش وزن نسبی طحال، بورس و تیموس را در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با عصاره یونجه گزارش کردند (۶). در تحقیقات صورت گرفته توسط Takahashi و همکاران در سال ۲۰۰۰ مشخص شده که گیاهان دارویی رشد اندام‌های ایمنی را تحریک می‌کنند (۲۸).

در کل این نتایج نشان دادند که افزودن اسانس درمنه دشتی به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی می‌تواند در تثبیت میکروفلورای مفید(لاکتوباسیل) و کاهش باکتری‌های مضر (شرشیاکلی) سکوم مؤثر باشد. باکتری‌ها می‌توانند باعث تغییرات در ساختار مخاط روده کوچک در جوجه‌های گوشتی شوند به طوریکه در این آزمایش مشخص شد که استفاده از اسانس درمنه دشتی ارتفاع پرز را در دئودنوم افزایش و ضخامت لایه اپیتلیوم و تعداد سلول‌های گابلت را در روده کوچک کاهش داد. همچنین استفاده از اسانس درمنه دشتی در جیره طیور بدلیل مهار میکروب‌های بیماریزا و خنثی کردن سموم حاصله از آنها به واسطه ترکیبات ضد میکروبی موجب بهبود میکروفلور روده به واسطه غالب شدن لاکتوباسیل‌ها می‌شود که این سبب ایجاد ایمنی مؤثر و مطلوب در پرنده می‌شود به طوریکه سطح ۳۰۰mg/kg اسانس درمنه دشتی دارای بیشترین میزان تیتر نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی بود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه تهران-پردیس ابوریحان به خاطر حمایت مالی تحت شماره اعتبار پژوهشی ۲۷۳۴۱/۰۷ برای اجرای این طرح کمال سپاس را دارند.

References

1. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008) Biological effects of essential oils. Food. Chem Toxicol. 46: 446–75.
2. Bauer, R. (1996) Echinacea drugs, effects and ac-

www.SID.ir

Archive of SID

tive ingredients. Z Aerztl Fortbild. 90: 111-115.
3. Caspary, W.F. (1992) Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. Am J Clin Nutr. 55: 299-308.
4. Cook, N.C., Samman, S. (1999) Flavonoids-chemistry metabolism, cardio perfective effects and dietary sources. J Nutr Biochem.7: 66-76.
5. Dafwang, I. I., Cook, M.E., Sunde, M. L., Bird, H. R. (1985) Bursal, intestinal and spleen weights and antibody response of chicks fed subtherapuetic levels of dietary antibiotics. Poult Sci. 64: 634-639.
6. Dong, X.F., Gao, W.W., Tong, J.M., Lia, H.Q., Sa, R.N., Zhang, Q. (2007) Effect of polysavone (*AlfaAlfa* Extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens. Poult Sci. 86: 1955-1959.
7. El-Habbak, M.M.E., Saleh, K., Arbid, M.S., Hagazi, A.G., Sofy, H. (1989) Influence of Garlic (*Allium sativum* L.) on some biological and biochemical changes in Japanese quails with special refrence to its hypocholestrolemic activity. Archive fur Geflugclkunde. 53: 73-79.
8. Engberg, R.M., Hedemann, M.S., Jensen, B.B., Lesser, T.D. (2000) Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. Poult Sci. 79: 1311–1319.
9. Fararh, K.M., Atoji, Y., Shimizu, Y., Shiina, T., Nikami, H., Takewaki, T. (2004) Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozotocininduced diabetic hamsters. Res Vet Sci. 77: 123-9.
10. Gee, J.M., Lee-Finglas, W., Wortley, G.W., Johnson, J.T. (1996) Fermentable carbohydrate elevate plasma entroglucagon but high viscosity is also necessary to stimulate small bowell mucosal cell proliferation in rats. J Nutr. 105: 827-838.
11. Goel, V., Chang, C., Slama, J.V., Barton, R., Bauer, R., Gahler, R., Basu, T.K. (2002) Alkylimides of Echinacea purpurea stimulate alveolar macrophage function in normal rats. Int J Immunopharmacol. 2:381-387.
12. Goudarzi, M., Rahbari, S., Hadadzadeh, H., Yeganeh Parsat, M., Shafiyi, A., Pourmaydani, A. (2005) Study the effect of leaf and extract of Artemisia annua on coccidiosis in broiler chickens. J Vet Res (University of Tehran). 61: 339-344.
13. Greathead, H. (2003) Plants and plant extracts for improving animal productivity. Proc Nutr Soc. 62: 279-290.
14. Haq, A.U., Meraj, K.A., Rasool, S. (1999) Effect of supplementing *Allium sativum* (Garlic) and *Azadirachta indica* (Neem) leaves in broiler feeds on their blood cholesterol, triglycerides and antibody titre. Int J Agric Biol. 1: 125-127.
15. Hashemi, S.R., Zulkifli, I., Davoodi, H., Zunita, Z., Ebrahimi, M. (2012) Growth performance, intestinal microflora, plasma fatty acid profile in broiler chickens fed herbal plant (*Euphorbia hirta*) and mix of acidifiers. Anim Feed Sci Technol. 178: 167–174.
16. Iji, P.A., Saki, A.A., Tivey, D.R. (2001) Intestinal development and body growth of broiler chicks on diets supplemented with non-starch polysaccharides. Anim Feed Sci Technol. 89: 175-188.
17. Khalaji, S., Zaghari, M., Hatami, K.H., Lotfi, L., Nazarian, H. (2011) Black Cumin Seeds, Artemisia leaves (*Artemisia Sieberi*), and Camellia L. plant extract as phytogenic products in broiler diets and their effects on performance, blood constituents, immunity and cecal microbial population. Poult Sci. 90: 2500–2510.
18. Lavinia, S., Dumitrescu, G., Drinceanu, D., Stef, D. (2009) The effect of medicinal plants and plant extracted oils on broiler duodenum morphology and immunological profile of broiler. Rom Biotechnol Lett. 9: 1906-1914.
19. Lee, K.W., Everts, H., Beyen, A.C. (2003) Dietary carvacrol lowers body gain but improves feed conversion in female broiler chickens. J Appl Poult Res. 12: 394-399.
20. Lopes-Lutz, D., Alviano, D.S., Alviano, C.S., Kolodziejczyk, P.P. (2008) Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. Phytochemistry. 69: 1732–1738.
21. Lis-Balchin, M., Deans, S.G., Eaglesham, E. (1998) Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. Flavour Fragr J. 13: 98-104.

www.SID.ir

Archive of SID

22. Mahboubi, M., Farzin, N. (2009) Antimicrobial activity of *Artemisia sieberi* essential oil from central Iran. Iran J Microbiol. 1: 43-48.
23. Mitsch, P., Zitter-Eglseer, K., Kohler, B., Gabler, C., Losa, R., Zimpernik, I. (2004) The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfingens* in the intestines of broiler chickens. J Poult Sci. 83: 669-675.
24. Nie, W., Zhang, Y.X. (1999) Progress of the immunomodulating effect of polysaccharides and their mechanism. Chin Pharmacol Bull. 15: 3-5.
25. Nikaido, H., Vaara, M. (1985) Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiol Rev. 49: 1-23.
26. Ouweh, A.C., Tiihonen, K., Kettunen, H., Peuranen, S., Schulze, H., Rautonen, N. (2010) In vitro effects of essential oils on potential pathogens and beneficial members of the normal microbiota. Vet Med. 55: 71-78.
27. Royo, P., Martin-Casabona, N., Martinez, E., Andonegui, M. (1999) In vitro susceptibility of *Mycobacterium Kansasii* to the difluorinated quinolone of spoufloxacin using a broth microdilution and macrodilution MIC system. Int J Tuberc Lung Dis. 3: 349-53.
28. Takahashi, K., Mashiko, T., Akiba, Y. (2000) Effects of dietary concentration of xylitol on growth in male broiler chicks during immunological stress. Poult Sci. 79: 743-747.
29. Toghyani, M., Tohidi, M., Gheisari, A.A., Tabeidian, S.A. (2010) Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. Afr J Biotechnol. 9: 6819-6825.
30. Tiihonen, K., Kettunen, H., Bento, M.H.L., Saarinen, M., Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Schulze, H., Rautonena, N. (2010) The effect of feeding essential oils on broiler performance and gut microbiota. Br Poult Sci. 51: 381-392.
31. Viveros, A., Chamorro, S., Pizarro, M., Arija, I., Centeno, C., Brenes, A. (2011) Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. Poult Sci. 90: 566-578.
32. Wang, X., Gibson, G.R. (1993) Effect of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. J Appl Bacteriol. 75: 373-388.
33. Yousefi, J., Nasir-Ahmadi, A., Jasbi, A.R. (2005) Biological activity *Artemisia Haussknechtii* essential oil. Pajouhesh Sazandegi (In Persian). 29: 28-30.
34. Zhang, C.Y., Yam, K.L., Chikindas, M.L. (2004) Effective control of *Listeria monocytoge* nes by combination of nisin formulated and slowly released into a broth system. Int J Food Microbiol. 90: 15-22.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of different levels of *Artemisia sieberi* essential oil on intestinal morphology characteristics, microflora population and immune system in broiler chickens

Ghazanfari, Sh.[1*], Adib Moradi, M.[2], Rahimi Niat, F.[1]

[1]*Department of Animal and Poultry Sciences, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Tehran-Iran*

[2]*Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran*

(Received 27 January 2015, Accepted 18 April 2015)

Abstract:

BACKGROUND: Essential oils as growth stimulant play an important role in improving intestinal microflora and morphological properties and immune system in broiler chickens. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to investigate the effects of *Artemisia sieberi* oil on intestinal morphology, secum microflora and immune system in broiler chickens. **METHODS:** Two hundred day-old broiler chickens (Ross 308) were allocated to 5 treatments, 4 replications with a completely randomized design during 42 days of age. Experimental treatments consisted of control (basal diet) or basal diets containing different levels of *Artemisia sieberi* oil (100, 200 and 300 mg/kg) and 600 mg/kg flavophospholipol antibiotic. On day 42 days of age, intestinal morphology and microflora population and immune system were evaluated by measuring the weight of bursa of fabricious and spleen and antibody production. **RESULTS:** The results indicated that the highest lactobacillus count and the lowest *Escherichia coli* count of the caecum was found by inclusion of 300 mg/kg *Artemisia sieberi* oil in the diet ($p<0.0001$). The antibiotic and *Artemisia sieberi* oil treatments showed higher villus height in the duodenum compared with control group ($p<0.01$). *Artemisia sieberi* oil and antibiotic supplementations significantly decreased epithelial thickness and goblet cell number of the small intestinal compared with control group ($p<0.05$). The dietary supplementation did not significantly affect the crypt depth and villus height to crypt depth ratio in small intestine. The level of 300 mg/kg *Artemisia sieberi* oil significantly increased antibody titration against Newcastle disease virus ($p<0.01$). **CONCLUSIONS:** Adding *Artemisia sieberi* oil at levels of 300 mg/kg to broiler chicken diets can improve gut microflora (as measured by changes in populations of *Escherichia coli* and *lactobacillus*).

Keyword: antibody titer, *Artemisia sieberi*, broiler chicken, lactobacillus, villus height

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Composition of basal diet at different growth periods in broiler chickens. (*) Mineral mix supplied the following per kilogram of diet: Mn. 50 g; Zn, 50 g; Fe, 25 g; Cu, 5 g; I, 500 mg; Se, 100 mg. (**)Vitamin mix supplied the following per kilogram of diet: vitamin A, 3500000 IU; D3, 1000000 IU; vitamin E, 9000 mg; vitamin B2, 7.5 mg; riboflavine, 3300 mg; niacin, 15000 mg; pantothenic acid, 5000 mg; menadion, 1000; pirodoxine, 150 mg; biotine, 500 mg; choline , 250000 mg.

Table 2. Effects of *Artemisia sieberi* essential oil on cecum microbial population in broiler chickens (42 days). (a,b,c) Means within a column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$). (*)SEM: standard error of means, cfu: Colony Forming Unit.

Table 3. Effects of *Artemisia sieberi* essential oil on small intestinal morphology in broilers chickens (42 days). (a,b,c) Means within a row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$). (*)SEM: standard error of means.

Table 4. Effects of *Artemisia sieberi* essential oil on immune system in broilers chickens. (a,b,c) Means within a column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$). (*)SEM: standard error of means.

***Corresponding author's email: shghazanfari@ut.ac.ir, Tel: 021-36040907, Fax: 021-36040907**

www.SID.ir