



## Original Research Paper

## Effect of different levels *Tanacetum balsamita* hydroalcoholic essential oil on broiler chickens performance and humoral and cell mediated immunity

Ali Tork<sup>1</sup>, Ali Khatibjoo<sup>1\*</sup>, Mohammad Akbari Gharaei<sup>1</sup>, Kamran Taherpour<sup>1</sup>, Mahdi Soltani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

<sup>2</sup>Department of Animal Science Research, Khorasan Razavi Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Promotion Organization, Mashhad, Iran

### Key Words

Broiler  
Hydroalcoholic essence  
Immunity  
Performance

### Abstract

**Introduction:** Medicinal plant essential oil has antimicrobial and antioxidant properties and improve small intestine microbial population and feed digestibility and for this purpose its inclusion to broiler chickens' diet as antibiotic replacement. Present study was conducted in order to compare the effect of different levels of *Tanacetum balsamita* hydroalcoholic essential oil with vitamin E and C on Ross-308 broiler chickens performance and immunity.

**Materials & Methods:** Three hundred broiler chickens (equal number of male and female) were used in a completely randomized design in 6 treatments and 5 replicates with 10 birds in each. The dietary treatment consisted of: 1) basal diet as control group, 2 and 3) basal diet supplemented with 200 and 400 mg/kg *Tanacetum balsamita* hydroalcoholic essential oil, respectively, 4) basal diet supplemented with 200 mg/kg Vitamin E, 5) basal diet supplemented with 200 mg/kg vitamin C and 6) basal diet supplemented with 200 mg/kg virginiamycin antibiotic.

**Result:** The results showed that the amount of feed intake, body weight gain, feed conversion ratio and European production efficiency factor, IgG, IgM and total antibody titer against SRBC, New-castle disease and avian influenza virus's antibody titer were not affected by dietary treatments ( $P>0.05$ ). Treatments had no effect on toe web swelling index after 4 and 24h post injection period but broiler chickens fed diets containing 200 and 400 mg/kg *Tanacetum balsamita* essential oil had higher swelling index at 48h after injection whereas there were no significant differences between vitamin E and antibiotic groups ( $P<0.05$ ) and chickens fed diets supplemented with 200 mg/kg essential oil and vitamin E and C had higher lymphocyte percentage and lower heterophil percentage and heterophil to lymphocyte ratio compared to control group ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** In conclusion, although *Tanacetum balsamita* essential oil improved cell mediated immunity of broiler chickens but the results revealed that due to its non-significant effect on broiler chickens performance and immunity, its addition to broiler chickens' diet is not economically advisable.

\* Corresponding Author's email: [a.khatibjoo@gmail.com](mailto:a.khatibjoo@gmail.com), [a.khatibjoo@ilam.ac.ir](mailto:a.khatibjoo@ilam.ac.ir)

Received: 26 June 2021; Reviewed: 24 July 2021; Revised: 27 September 2021; Accepted: 25 October 2021

(DOI): [10.22034/AEJ.2021.286067.2530](https://doi.org/10.22034/AEJ.2021.286067.2530)

## مقاله پژوهشی

## تأثیر سطوح مختلف اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم (*Tanacetum balsamita*) بر عملکرد، ایمنی سلولی و همورال جوجه‌های گوشتی

علی ترک<sup>۱</sup>، علی خطیب‌جو<sup>۱\*</sup>، محمد اکبری‌قرائی<sup>۱</sup>، کامران طاهرپور<sup>۱</sup>، مهدی سلطانی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

<sup>۲</sup> بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

## چکیده

## کلمات کلیدی

اسانس هیدروالکلی  
پاسخ ایمنی  
جوجه گوشتی  
عملکرد

**مقدمه:** اسانس گیاهان داروئی به‌واسطه دارا بودن فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی به‌منظور ایجاد شرایط مناسب روده و بهبود هضم خوراک به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها به جیره طیور اضافه می‌شوند. بدین‌منظور، در آزمایش حاضر تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم در مقایسه با ویتامین‌های E و C و آنتی‌بیوتیک بر عملکرد، ایمنی سلولی و همورال جوجه‌های گوشتی سویه راس-۳۰۸ مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی (مخلوط مساوی جنس نر و ماده) در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۶ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار اختصاص داده شدند. جیره‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱) جیره پایه (شاهد)، ۲ و ۳) به‌ترتیب جیره پایه + ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، ۴) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E، ۵) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C و ۶) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین. افزودنی‌ها از ۱ تا ۴۲ روزگی به جیره جوجه‌ها اضافه شدند.

**نتایج:** جیره‌های آزمایشی بر عملکرد کل دوره (مقادیر خوراک مصرفی، افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک و شاخص بازدهی تولید اروپائی)، عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل و آنفولانزا، ایمنوگلوبولین اولیه و ثانویه علیه آنتی‌ژن گلوبول قرمز خون گوسفندی تأثیر نداشتند ( $P > 0.05$ ). تیمارهای آزمایشی بر شاخص ضخامت پرده پا در پاسخ به فیتوهمانگلوتینین در ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق تأثیر نداشتند اما در مقایسه با گروه شاهد، شاخص ضخامت پای جوجه‌های دریافت‌کننده جیره دارای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اسانس شاه اسپرم در ۴۸ ساعت پس از تزریق بالاتر بود ولی بین گروه شاهد با گروه دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و ویتامین‌های E و C تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و در مقایسه با گروه شاهد، جوجه‌های دریافت‌کننده جیره دارای ۲۰۰ میلی‌گرم اسانس و ویتامین‌های E و C، درصد لنفوسیت بالاتر و درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت پائین‌تری بودند.

**نتیجه‌گیری و بحث:** اگرچه ویتامین‌های E و C و اسانس شاه اسپرم بر ایمنی سلولی تأثیرگذار بودند، اما یافته‌های این تحقیق نشان داد که به دلیل عدم تأثیر بر عملکرد طیور، افزودن آن‌ها در شرایط این آزمایش به جیره طیور به لحاظ اقتصادی قابل توصیه نیست.

## مقدمه

درصد هتروفیل شد (۹). عیار آنتی‌بادی تولیدی علیه گلبول قرمز گوسفندی در جیره‌های مکمل شده با گیاهان دارویی در مقایسه با جیره حاوی آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین افزایش یافت (۱۰). هم‌چنین، محققین گزارش کردند که افزودن ۱۵ پی‌پی‌ام آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین در مقایسه با عصاره‌های ۵ گیاه دارویی (آویشن، سیر، کاکوتی، مریم‌گلی و نعناع) بر درصد هتروفیل و لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت جوجه‌های گوشتی تأثیر نداشت (۱۱). برخی از محققین نشان دادند که ویتامین C کارایی سیستم ایمنی را افزایش می‌دهد و باعث افزایش مقاومت در مقابل بیماری‌ها می‌شود (۱۲) و Amakye Anim و همکاران، گزارش کردند که ۱۰۰۰ واحد در میلیون مکمل ویتامین C سبب افزایش بهبود عملکرد تولیدی جوجه‌های گوشتی و مقاومت جوجه‌ها در برابر بیماری نیوکاسل شد (۱۳). در تمامی آزمایشات انجام شده، اثر گیاه یا عصاره شاه‌اسپریم بر عملکرد طیور گوشتی و تخم‌گذار بررسی شده است ولی مقایسه‌ای بین عصاره هیدروالکلی این گیاه (به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک) با آنتی‌بیوتیک‌ها یا آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مصنوعی صورت نگرفته است. هم‌چنین در زمینه تأثیر اسانس هیدروالکلی شاه‌اسپریم بر عملکرد و ایمنی جوجه‌های گوشتی نیز مطالعه‌ای انجام نشده است و از آن‌جاکه اسانس این گیاه دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریالی است، لذا در آزمایش حاضر اثر افزودن اسانس هیدروالکلی گیاه دارویی شاه‌اسپریم در مقایسه با ویتامین‌های E و C (به‌عنوان آنتی‌اکسیدان) و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر عملکرد و ایمنی جوجه‌های گوشتی مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در فصل پائیز سال ۱۳۹۷ در مرغداری تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام انجام شد. تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس-۳۰۸ (مخلوط مساوی جنس نر و ماده) از شرکت زربال تهیه و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت-کنجاله سویا در سه دوره آغازین، رشد و پایانی طبق توصیه راهنمای پرورش سویه راس-۳۰۸ و به‌وسیله نرم‌فزار جیره‌نویسی UFFDA با انرژی و پروتئین یکسان تنظیم شدند (جدول ۱). شرایط پرورش از قبیل نور، دما، تهویه و رطوبت نسبی طبق راهنمای استاندارد پرورش جوجه‌های گوشتی مهیا گردید. طول مدت روشنایی سالن در شبانه‌روز طبق دستورالعمل پرورشی بود. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: (۱) جیره پایه (شاهد)، (۲) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس هیدروالکلی گیاه دارویی شاه‌اسپریم، (۳) جیره پایه

یکی از اهداف استفاده از افزودنی‌های خوراکی در جیره طیور گوشتی، ایجاد شرایط مناسب روده و بهبود هضم خوراک می‌باشد (۱). آنتی‌بیوتیک‌ها به‌منظور درمان بیماری‌های گوارشی، جلوگیری از رشد عوامل بیماری‌زای روده‌ای و بهبود عملکرد در تغذیه طیور به‌کار می‌روند، اما استفاده طولانی‌مدت از آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی سبب از بین رفتن باکتری‌های مفید دستگاه گوارش و هم‌چنین ایجاد مقاومت باکتریایی می‌شود. امروزه از ترکیبات مختلفی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله اسانس گیاهان دارویی، پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها رواج یافته است. استفاده از خود گیاهان دارویی یا فرآورده‌های استخراجی از آن‌ها از قبیل عصاره و اسانس اسانس آن‌ها به‌عنوان یک راه‌کار جایگزین می‌تواند مطرح باشد (۲، ۳). شاه‌اسپریم با نام علمی *Tanacetum balsamita* از جمله گیاهان دارویی و معطر ایران است که به گیاهان تیره کلاه پرک‌سانان و رده Anthemideae تعلق دارد (۴). شاه‌اسپریم دارای ترکیبات متنوعی از قبیل روغن‌های فرار (مونوترپن‌ها و سسکویی‌ترپن‌ها)، مشتقات فنیل-روپان، فلاونوئیدها (فلاونول‌ها، مشتقات اپی‌ژنین و مشتقات لوتئولین) و تانن می‌باشد (۵) و این گیاه و اسانس استحصالی از آن دارای خواص ضد میکروبی و آرامش‌بخش است (۶). پودر گیاه دارویی شاه‌اسپریم، عصاره و اسانس هیدروالکلی آن در سال‌های اخیر در جیره طیور گوشتی و تخم‌گذار مورد استفاده قرار گرفته است. محققین با افزودن سطوح مختلف پودر گیاه شاه‌اسپریم (۱، ۱/۵ و ۲ درصد) همراه با سطح ۱ درصد پروبیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی، گزارش کردند که پودر گیاه شاه‌اسپریم سبب بهبود افزایش وزن، افزایش نسبت هتروفیل به لنفوسیت در سطح ۲ درصد و افزایش عیار آنتی‌بادی بالاتری علیه گلبول قرمز خون گوسفندی با سطوح ۱/۵ و ۲ درصد شد (۷) و افزودن ۰/۲ درصد عصاره شاه‌اسپریم سبب بهبود افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک، کاهش هتروفیل، افزایش لنفوسیت و کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت جوجه‌های گوشتی شد (۴). با این وجود در آزمایش دیگری، افزودن ۰/۵ تا ۱ درصد پودر گیاه شاه‌اسپریم سبب کاهش وزن و افزایش ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی شد (۵). در رابطه با اثرات ویتامین E در طیور، گزارش شده است که مکمل کردن سطوح مختلف ویتامین E (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تأثیری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی نداشت اما سطوح مختلف ویتامین E به‌ویژه سطح ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به بهبود پاسخ ایمنی هم‌وزن جوجه‌ها شد (۸). هم‌چنین افزودن ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین E و C به جیره مرغ‌های تخم‌گذار منجر به افزایش درصد لنفوسیت و کاهش

جدول ۱: مواد خوراکی تشکیل‌دهنده (درصد) و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

مواد خوراکی	دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)	دوره رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)	دوره پائینی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)
ذرت	۵۳/۷۰	۶۲/۴۰	۶۹/۷۱
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام)	۳۵/۰	۳۳/۴۰	۲۶/۴۰
روغن سویا	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
گلوتن ذرت (۶۰ درصد پروتئین خام)	۶/۶۰	۰/۰۰	۰/۰۰
دی‌کلسیم فسفات	۱/۴۰	۱/۲۲	۱/۰۰
پوسته صدف	۱/۲۰	۱/۰۸	۱/۰۰
بی‌کربنات سدیم	۰/۲۰	۰/۱۳	۰/۱۵
نمک طعام	۰/۲۵	۰/۲۹	۰/۲۸
مکمل ویتامینه ۱	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل مواد معدنی ۲	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی-ال متیونین	۰/۲۶	۰/۲۴	۰/۲۱
ال-ترئونین	۰/۰۸	۰/۰۶	۰/۰۵
ال-لیزین-هیدروکلرید	۰/۲۶	۰/۱۳	۰/۱۵
<b>ترکیب شیمیایی محاسبه شده</b>			
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری در کیلوگرم)	۲۹۶۰/۰۰	۳۰۸۰/۰۰	۳۱۰۰/۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۳/۹۰	۲۰/۶۵	۱۸/۲۵
لیزین قابل هضم (درصد)	۱/۲۶	۱/۰۹	۰/۹۷
متیونین قابل هضم (درصد)	۰/۵۸	۰/۴۹	۰/۴۴
سیستئین قابل هضم (درصد)	۰/۳۳	۰/۲۹	۰/۲۶
متیونین + سیستئین قابل هضم (درصد)	۰/۹۱	۰/۷۸	۰/۶۹
ترئونین قابل هضم (درصد)	۰/۷۹	۰/۶۸	۰/۶۱
کلسیم (درصد)	۱/۰۵	۰/۹۰	۰/۹۰
فسفر قابل استفاده (درصد)	۰/۵۰	۰/۴۵	۰/۴۵
سدیم (درصد)	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸
کلر (درصد)	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳
آنیون-کاتیون (میلی‌اکی-والان در کیلوگرم)	۲۴۰/۰۰	۲۱۷/۰۰	۲۰۷/۰۰
اسیدلینولئیک (درصد)	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۵۰

۱- هر کیلوگرم مکمل ویتامینه به‌ازای هر کیلوگرم جیره مواد مغذی جاری را تأمین کرد: ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۳۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۲۱ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲ میلی‌گرم ویتامین K3، ۴ میلی‌گرم ویتامین B1، ۴۰ میلی‌گرم ویتامین B2، ۰/۰۲ میلی‌گرم ویتامین B12 و ۰/۷۵ میلی‌گرم اسیدفولیک، ۰/۷۵ میلی‌گرم D-بیوتین، ۴ میلی‌گرم پیروودوکسین، ۸۴۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۰/۱۲۵ میلی‌گرم اتوکسی کونین. ۲- هر کیلوگرم مکمل معدنی به‌ازای هر کیلوگرم جیره مواد مغذی جاری را تأمین کرد: ۱۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۰ میلی‌گرم آهن، ۶۰ میلی‌گرم روی، ۸ میلی‌گرم مس، ۰/۵ میلی‌گرم ید، ۰/۲ میلی‌گرم ید و ۰/۱۵ میلی‌گرم سلنیوم.

+ ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، (۴ جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E، ۵) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C و ۶) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین. اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم از شرکت گیاه اسانس شهر گرگان تهیه شد. ترکیبات موجود در اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم ایران، عبارتند از:  $\beta$ -bisabolene، ۱/۲ درصد؛  $\alpha$ -pinene، ۳/۳ درصد؛ sabinene، ۰/۹ درصد؛  $\beta$ -pinene، ۱ درصد؛ limonene، ۷/۵ درصد؛ 1,8-cineole، ۳/۳ درصد؛ Camphor، ۱/۱ درصد؛ Carvone، ۶۸ درصد؛  $\alpha$ -Thujone، ۱۱/۷ درصد و  $\gamma$ -bisabolene، ۱ درصد گزارش شده است (۱۴، ۱۵). افزودنی‌ها در داخل خوراک مورد استفاده قرار گرفتند و اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم به‌صورت روزانه به جیره‌ها افزوده شد. میانگین مصرف خوراک و افزایش وزن در کل دوره پرورش بر اساس روز مرغ اندازه‌گیری شد و ضریب تبدیل خوراک نیز محاسبه شد. شاخص بازده تولید اروپائی نیز از طریق فرمول زیر محاسبه شد: شاخص تولید (یا بازده) اروپائی =

{(۱۰×ضریب تبدیل خوراک)/درصد ماندگاری×(سن فروش/وزن زنده)}  
اندازه‌گیری پاسخ ایمنی همورال از طریق تعیین عبار پادتن تولید شده علیه گلبول قرمز خون گوسفند (SRBC) در روزهای ۳۱ و ۳۹ دوره پرورش انجام شد. برای این منظور در روزهای ۲۴ و ۳۲ به عضله سینه ۲ قطعه پرنده از هر تکرار، نیم میلی‌لیتر گلبول قرمز گوسفندی ۲/۵ درصد تزریق شد. سپس ۷ روز بعد از هر تزریق، در روزهای ۳۱ و ۳۹، از همان جوجه‌های تزریق شده، از طریق ورید بال خونگیری انجام شد و سرم نمونه‌های خون با سانتریفیوژ جدا شده و برای اندازه‌گیری عبار آنتی‌بادی از روش رقیق‌سازی متوالی (سنجش هم‌آگلوتیناسیون) استفاده شد (۱۶). به‌منظور بررسی پاسخ ایمنی سلولی علیه میتوزن‌های محرک سیستم ایمنی، در روز ۲۲ از هر تکرار یک قطعه جوجه به طور تصادفی انتخاب و با دستگاه میکرومتر ضخامت پرده پا (به‌عنوان ساعت صفر) اندازه‌گیری شد و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سالین (SPB) به پرده پای راست (بین انگشتان سوم و چهارم) و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول فیتوهم‌آگلوتینین به پرده پای چپ در همان ناحیه تزریق شد. در ۳ نوبت (۴، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق) ضخامت (تورم) پرده پای جوجه‌ها توسط دستگاه میکرومتر دیجیتالی لوترون اندازه‌گیری شد و نتیجه به‌صورت شاخص ضخامت پرده پا در ساعات مذکور ثبت و با استفاده از رابطه زیر شاخص پاسخ ایمنی سلولی محاسبه شد (۱۷):

$W = (RLP - RL) - (LLB - LL)$   
در این رابطه،  $W$  = شاخص ضخامت پرده پا یا شاخص تحریک فیتوهم‌آگلوتینین،  $RLP$  = ضخامت پرده پای چپ بعد از تزریق فیتوهم‌آگلوتینین بر حسب میکرومتر،  $RL$  = ضخامت پرده پای چپ

چند دامنه‌ای دانکن با هم مقایسه شدند (۱۸). مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + \varepsilon_{ij}$$

که در این رابطه،  $Y_{ij}$  = مشاهدات،  $\mu$  = میانگین مشاهدات،  $T_i$  = اثر تیمار و  $\varepsilon_{ij}$  = اثر خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده است.

## نتایج

تیمارهای آزمایشی بر خوراک مصرفی، افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل خوراک و شاخص بازده تولید اروپائی جوجه‌های گوشتی در کل دوره پرورش تأثیر نداشتند (جدول ۲). نتایج جداول ۳ و ۴ نشان داد که جیره‌های آزمایشی بر عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل، آنفلوآنزا و گلبول قرمز خون گوسفند و هم‌چنین وزن اندام‌های لنفاوی تأثیر معنی‌داری نداشتند ( $P > 0.05$ ).

قبل از تزریق فیتوهم‌گلوتینین بر حسب میکرومتر، LLB = ضخامت پرده پای راست بعد از تزریق بافر فسفات بر حسب میکرومتر و LL = ضخامت پرده پای راست قبل از تزریق بافر فسفات بر حسب میکرومتر می‌باشد.

در پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی)، از سیاه‌رگ زیربال جوجه‌هایی که به آن‌ها گلبول قرمز خون گوسفندی تزریق شده بود، با استفاده از سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتری خونگیری انجام شد و به میکروتیوب حاوی ۵۰ میکرولیتر ماده ضد انعقاد اتیلن دی‌آمین اسیدتراسیتیک (EDTA) = Ethylenediamine tetra acetic acid ریخته شد. سپس درصد هتروفیل، لنفوسیت و نسبت هتروفیل به لنفوسیت بعد از رنگ‌آمیزی، به روش دستی شمارش شد. داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) و با استفاده از رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و میانگین تیمارها در سطح معنی‌داری ۵ درصد و با آزمون

جدول ۲: تأثیر جیره‌های آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی از ۱-۴۲ روزگی

P-Value	SEM	جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup>						صفات
		۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۰/۳۹	۰/۱	۴/۵۲	۴/۲۹	۴/۲۸	۴/۵۱	۴/۴۱	۴/۴۹	خوراک مصرفی (کیلوگرم)
۰/۴۴	۰/۰۴	۲/۴۵	۲/۴۳	۲/۳۸	۲/۳۹	۲/۴۷	۲/۳۶	وزن بدن (کیلوگرم)
۰/۴۶	۰/۰۶	۱/۸۵	۱/۷۷	۱/۸۱	۱/۸۹	۱/۷۹	۱/۹۱	ضریب تبدیل خوراک مصرفی
۰/۵۱	۱۳/۸	۳۱۲	۳۲۱	۳۱۰	۲۹۶	۳۲۳	۲۹۲	شاخص کارایی تولید اروپائی <sup>۲</sup>

۱- ۱) جیره پایه (شاهد)، ۲) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، ۳) جیره پایه + ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، ۴) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E، ۵) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C و ۶) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین. ۲- EPEF = شاخص کارایی تولید اروپائی (European production efficiency factor)

جدول ۳: تأثیر جیره‌های آزمایشی بر ایمنی همورال، جمعیت سلول‌های خونی و وزن نسبی اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی

P-Value	SEM	جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup>						صفات
		۶	۵	۴	۳	۲	۱	
								عیار آنتی‌بادی
۰/۰۸	۰/۴۷	۳/۶۰	۴/۰۰	۲/۶۵	۳/۸۲	۲/۶۰	۲/۸۰	نیوکاسل
۰/۴۸	۰/۴۲	۳/۸۰	۲/۸۰	۲/۲۰	۲/۸۰	۲/۸۰	۳/۲۰	آنفلوآنزا
								سلول‌های خونی
۰/۰۰۱	۱/۱۸	۶۵/۴ <sup>d</sup>	۷۲/۴ <sup>b</sup>	۸۰/۳ <sup>a</sup>	۶۷/۸ <sup>dc</sup>	۷۰/۳ <sup>bc</sup>	۶۶/۳ <sup>d</sup>	لنفوسیت (/)
۰/۰۰۱	۱/۲۴	۳۶/۶ <sup>a</sup>	۲۴/۴ <sup>c</sup>	۱۸/۰ <sup>d</sup>	۳۱/۰ <sup>ab</sup>	۲۷/۸ <sup>bc</sup>	۳۲/۶ <sup>a</sup>	هتروفیل (/)
۰/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۵۱ <sup>a</sup>	۰/۳۳ <sup>c</sup>	۰/۲۲ <sup>d</sup>	۰/۴۶ <sup>ab</sup>	۰/۳۹ <sup>bc</sup>	۰/۵۰ <sup>a</sup>	نسبت هتروفیل به لنفوسیت
								اندام‌های لنفاوی (درصد از وزن بدن)
۰/۲۸	۰/۰۴	۰/۱۸	۰/۲۲	۰/۱۹	۰/۲۰	۰/۲۱	۰/۲۳	تیموس (/)
۰/۳۱	۰/۰۳	۰/۲۴	۰/۲۸	۰/۲۷	۰/۲۹	۰/۲۵	۰/۲۶	بوس فابریسیوس (/)
۰/۴۴	۰/۰۲	۰/۱۶	۰/۱۸	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۸	طحال (/)

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0.05$ ). ۱- ۱) جیره پایه (شاهد)، ۲) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، ۳) جیره پایه + ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، ۴) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E، ۵) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین C و ۶) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین.

در جدول ۵ نشان داده شده است. تیمارهای آزمایشی تأثیری بر شاخص ضخامت پرده پای جوجه‌های گوشتی در ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق نداشتند در حالی که در مقایسه با جیره شاهد، افزودن اسانس هیدروالکلی شاه اسپرم سبب افزایش شاخص ضخامت پرده پای جوجه‌های گوشتی در ۴۸ ساعت پس از تزریق شد ( $P < 0.05$ ).

جوجه‌های دریافت‌کننده جیره‌های دارای مکمل ویتامین‌های E و C و جیره دارای ۲۰۰ میلی‌گرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم دارای درصد لنفوسیت بالاتر و هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت پائین‌تری نسبت به جوجه‌های گروه شاهد بودند ( $P < 0.05$ ). تأثیر جیره‌های حاوی اسانس هیدروالکلی شاه اسپرم و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر ایمنی سلولی در پاسخ به تزریق فیتوهمگلوتینین

جدول ۴: تأثیر جیره‌های آزمایشی بر عیار آنتی‌بادی جوجه‌های گوشتی علیه گلبول قرمز خون گوسفند

P-Value	SEM	جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup>						صفات
		۶	۵	۴	۳	۲	۱	
								ایمنی اولیه
۰/۱۸	۰/۲۱	۱/۴۰	۱/۰۰	۰/۶۰	۱/۰۰	۱/۲۰	۰/۸۰	ایمنوگلوبولین M
۰/۱۵	۰/۱۶	۱/۴۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۰/۸۰	۱/۴۰	ایمنوگلوبولین G
۰/۲۱	۰/۳۱	۲/۸۰	۲/۰۰	۱/۶۰	۲/۰۰	۲/۰۰	۲/۲۰	ایمنوگلوبولین کل
								ایمنی ثانویه
۰/۵۳	۰/۲۸	۱/۰۰	۱/۴۰	۱/۶۰	۱/۶۰	۱/۸۰	۱/۴۰	ایمنوگلوبولین M
۰/۳۳	۰/۲۶	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۴۰	۲/۰۰	۱/۴۰	۱/۲۰	ایمنوگلوبولین G
۰/۴۳	۰/۴۷	۲/۰۰	۲/۴۰	۳/۰۰	۳/۶۰	۳/۲۰	۲/۶۰	ایمنوگلوبولین کل

(۱-۱) جیره پایه (شاهد)، (۲) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، (۳) جیره پایه + ۴۰۰ میلی‌گرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، (۴) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، (۵) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و (۶) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین.

جدول ۵: تأثیر جیره‌های آزمایشی بر شاخص ضخامت پرده پای جوجه‌های گوشتی پس از تزریق فیتوهمگلوتینین

P-Value	SEM	جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup>						ساعت بعد از تزریق
		۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۰/۵۳	۰/۱۳	۰/۴۶	۰/۲۰	۰/۵۴	۰/۱۹	۰/۴۱	۰/۲۲	۴
۰/۰۹	۰/۱۲	۰/۳۲	۰/۵۱	۰/۲۷	۰/۲۸	۰/۴۵	۰/۱۵	۲۴
۰/۰۴	۰/۱۲	۰/۳۴ <sup>ab</sup>	۰/۵۹ <sup>ab</sup>	۰/۵۸ <sup>ab</sup>	۰/۶۵ <sup>a</sup>	۰/۷۰ <sup>a</sup>	۰/۲۳ <sup>b</sup>	۴۸

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0.05$ ). (۱-۱) جیره پایه (شاهد)، (۲) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، (۳) جیره پایه + ۴۰۰ میلی‌گرم اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم، (۴) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، (۵) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و (۶) جیره پایه + ۲۰۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین.

دارنده اثرات آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش مانند تنش‌های حرارتی یا تراکم مانع از افت عملکرد طیور می‌شوند و عدم تأثیر مکمل‌های ویتامینه و اسانس گیاه داروئی شاه اسپرم بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در آزمایش حاضر ممکن است دلیل عدم تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در شرایط پرورش عادی و بدون تنش باشد. نسبت هتروفیل به لنفوسیت شاخص مهمی در ارتباط با پاسخ سیستم ایمنی بدن است و کم‌تر بودن این شاخص، نشان‌دهنده سیستم ایمنی قوی‌تر می‌باشد (۱۹). Hejazi و Moslemi-Ahangari. با افزودن به میزان ۵ گرم در کیلوگرم پودر آویشن و بادرنجبویه به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی تأثیری بر عیار تیترآنتی‌بادی علیه بیماری

## بحث

موافق با نتایج آزمایش حاضر، گزارش شده است که سطوح مختلف عصاره گیاه داروئی شاه اسپرم در جیره جوجه‌های گوشتی و پودر گیاه شاه اسپرم در جیره مرغ‌های تخم‌گذار اثر معنی‌داری بر عملکرد و درصد تولید جوجه‌های گوشتی و مرغ‌های تخم‌گذار نداشت (۱، ۵، ۴). هم‌چنین مقایسه تأثیر پودر گیاه شاه اسپرم با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس نشان داد که افزودنی‌ها تأثیری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی نداشتند (۷). با این وجود، در رابطه با تأثیر اسانس این گیاه کار مشابهی به‌منظور مقایسه یافت‌نشده آنتی‌اکسیدان‌ها و اسانس‌های

دلیل دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی (۲۸) و افزایش فعالیت ویتامین C (۲۹) به‌طور مستقیم و تغییر فلور میکروبی به‌خصوص افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل به‌طور غیرمستقیم موجب تقویت سیستم ایمنی می‌شوند (۲۶). هم‌چنین، لاکتوباسیل‌ها قادرند سیستم ایمنی بدن را از طریق افزایش جمعیت سلول‌های لنفوسیت B و افزایش تولید پادتن تحریک کنند (۳۰). به‌طور کلی، با توجه به نتایج آزمایش حاضر، اسانس هیدروالکلی گیاه داروئی شاه اسپرم و ویتامین‌های C و E تأثیری بر عملکرد، ایمنی همورال و ایمنی سلولی در ۴ و ۲۴ ساعت پس از تزریق فیتوهماگلوتینین نداشتند درحالی‌که افزودن اسانس شاه اسپرم به جیره جوجه‌های گوشتی موجب بهبود ایمنی سلولی در ۴۸ ساعت پس از تزریق، افزایش درصد لنفوسیت و کاهش درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت شد. با توجه به این‌که آزمایش در شرایط عادی پرورش و بدون ایجاد چالش سرما، گرما و غیره انجام شد، ویتامین‌های C، E و اسانس گیاه شاه اسپرم تأثیر مثبتی بر شاخص‌های مورد بررسی نداشتند. به‌طور کلی، پیشنهاد می‌شود که از اسانس این گیاه به‌منظور تأثیر بر فلور میکروبی دستگاه گوارش و بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش مانند تنش‌های حرارتی یا کوکسیدیوز استفاده شود. هم‌چنین این احتمال نیز وجود دارد که استفاده از غلظت‌های بالاتر این اسانس این گیاه داروئی ممکن است تأثیر بهتری بر عملکرد و دیگر شاخص‌های جوجه‌های گوشتی داشته باشد.

## منابع

1. Nobakht, A., Mansoub, N.H. and Nezhady, M.A.M., 2012. Effects of *Melissa officinalis* L., *Tanacetum balsamita* and *Ziziphora clinopodioides* on performance, blood biochemical and immunity parameters of laying hens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 7: 74-79.
2. Talazadeh, F., Miah, M. and Hooshmandi, K., 2017. Considering the changes of special antibody titer of New Castle disease of broiler chickens fed Bioherbal (Garlic and thyme extract). *Journal of Animal Environment*. 10(1): 103-106. (In Persian)
3. Khatibjoo, A., Heydarzadeh, Z., Jaefai, H. and Aalaei, M., 2017. Effect of garlic powder and flavomycin on performance of broiler chickens fed diets containing different levels of dietary crude fat. *Journal of Animal Science Researches*. 27(2): 15-26.
4. Nobakht, A., Feazi, B. and Safamher, A.R., 2015. The effect of different levels of *tanacetum balsamita* medicinal plant powder and extract on performance, carcass traits and blood parameters of broiler chicks. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 5(3): 665-671.

نیوکاسل نداشت (۲۰). موافق با نتایج آزمایش حاضر، محققین گزارش کردند که آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و سه سطح اسانس مرو تلخ (۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm) و بر عیار آنتی‌بادی بیماری‌های نیوکاسل و گامبورو تأثیر نداشتند (۲۱) و هم‌چنین Toghiani و همکاران، نشان دادند که اسانس هیدروالکلی آویشن و آنتی‌بیوتیک بر تیترا آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفولانزا و عیار آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز خون گوسفند و وزن اندام‌های ایمنی در ۴۲ روزگی تأثیر نداشتند (۲۲). به‌دلیل این‌که تحقیقات کمی در رابطه با تأثیر اسانس گیاه شاه اسپرم بر ایمنی جوجه‌های گوشتی یا مرغ‌های تخم‌گذار انجام شده است، نتایج مخالف تحقیق حاضر یافت نشد. هم‌چنین، مطابق با نتایج آزمایش حاضر، محققین گزارش دادند که مکمل ویرجینیامایسین اثری بر عیار آنتی‌بادی IgM و IgG جوجه‌های گوشتی نداشت است (۲۳). در مقابل، سایر محققین نشان دادند که در جوجه‌های گوشتی، در مقایسه با جیره حاوی آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین، عیار آنتی‌بادی تولیدی علیه گلبول قرمز گوسفند در جیره حاوی گیاه داروئی Panchagavya افزایش داشت (۱۰). مخالف نتایج آزمایش حاضر، با افزودن سطوح مختلف ویتامین E (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به جیره جوجه‌های گوشتی نشان داده شد که پاسخ سیستم همورال مستقیماً تحت تأثیر ویتامین E جیره است به‌طوری‌که سطح ۴۰ میلی‌گرم ویتامین E باعث افزایش عیار آنتی‌بادی علیه گلبول‌های قرمز خون گوسفند و علیه نیوکاسل در مقایسه با گروه شاهد شد (۸). در تحقیق دیگری، محققین با افزودن ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره اتانولی درمنه خزری به جیره جوجه‌های گوشتی گزارش کردند که افزودن عصاره اتانولی باعث افزایش ایمنی سلولی به تزریق فیتوهماگلوتینین، سبب افزایش آنتی‌بادی کل و IgG بر علیه SRBC، وزن تیموس و بورس فابریسیوس شد (۲۴). هم‌چنین Hosseinian-Bilandi و همکاران، با افزودن ۵۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسانس آویشن به جیره جوجه‌های گوشتی نشان دادند که ایمنی سلولی در پاسخ به دی‌نیترو کلروبنزن و فیتوهماگلوتینین و عیار آنتی‌بادی علیه SRBC بهبود یافت (۲۵). گیاهان غنی از فلاوونوئیدها و ترپن‌ها مانند شیرین بیان، مریم‌گلی یا آویشن با افزایش فعالیت ویتامین C باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شوند که از طریق اثرات ضدباکتریایی خود به‌طور غیر مستقیم موجب تقویت سیستم ایمنی می‌شوند (۲۶). با توجه به این‌که گیاهان داروئی جمعیت باکتری‌های مفید نظیر لاکتوباسیلوس را در دستگاه گوارش افزایش می‌دهند و باکتری‌های لاکتوباسیل قادرند سیستم ایمنی بدن را تحریک کنند، انتظار می‌رود که گیاهان داروئی از این طریق بر سیستم ایمنی موثر باشند (۲۷). وجود ترکیبات فنولیک مانند فلاوونوئیدها و ترپن‌ها در گیاهان داروئی به

- enantiomeric distribution of camphor and carvone. Flavour and Fragrance Journal. 16(3): 195-200.
16. **Cheema, M.A., Qureshi, M.A. and Havenstein, G.B., 2003.** A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science. 82(10): 1519-1529.
  17. **Wang, Y., Field, C. and Sim, J., 2000.** Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks. Poultry Science. 79(12): 1741-1748.
  18. **SAS Institute. 2004.** SAS Procedures Guide, Version. 9.4.
  19. **Taheri, H.R., Moravej, H., Malakzadegan, A., Tabandeh, F., Zaghari, M., Shivazad, M. and Adibmoradi, M., 2010.** Efficacy of *Pediococcus acidilactici*-based probiotic on intestinal Coliforms and villus height, serum cholesterol level and performance of broiler chickens. African Journal of Biotechnology. 9: 7564-7567.
  20. **Moslemi-Ahangari, S.M. and Hejazi, S.S., 2017.** The effect of *Thymus vulgaris* and *Melissa officinalis* on histomorphology of Bursa of Fabricius and New-Castle disease antibody titer of broiler chickens. Journal of Animal Environment. (8)2: 77-82. (In Persian)
  21. **Mosaddegh, R., M. Salari, M. Sari, T. Mohammad Abadi and M. Taghizadeh. 2013.** Comparison of addition of *Salvia mirzayanii* essential oil with Virginiamycine on broiler chicken's performance, blood metabolites and some immune parameters. Iranian Journal of Animal Science Research, 5 (1): 20-28 (in Persian).
  22. **Toghyani, M., Tohidi, M., Gheisari, A.A. and Tabeidian, S.A., 2010.** Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. African Journal of Biotechnology. 9(40): 6819-6825.
  23. **Belay, T. and Teeter, R.G., 1994.** Virginiamycin effects on performance and saleable carcass of broilers. The Journal of Applied Poultry Research. 3: 111-116.
  24. **Gholamrezaiesani, S.L., Mohammadi, M., Jalali, S.J., Abolghasemi, S.A. and Roostaie, A.M., 2013.** Effect of *Artemisia annua* leaf powder and ethanolic extract on broiler chicken performance, cell mediated, and humoral immunity. Iranian Journal of Veterinary Research, 14(1): 15-20 (in Persian)
  25. **Hosseinian-Bilandi, S.H., Hosseini, S.M., Mojtahedi, M., and Bashtani, M., 2018.** Effect of Thyme and Ziziphora essence on performance, microbial population and immune response of broiler chickens. Animal Production Research. 7(3): 53-65.
  26. **Cook, N.C. and Samman, S., 1996.** Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. Nutritional Biochemistry. 7: 66-76.
  5. **Nobakht, A. and Mogaddam, M., 2013.** The effects of different levels of costmary (*Tanacetum Balsamita*) medicinal plant on performance, egg traits and blood biochemical parameters of laying hens. Iranian Journal of Applied Animal Science. 3(2): 307-312.
  6. **Jang, I.S., Ko, Y.H., Kang, S.Y. and Lee, C.Y., 2006.** Effect of commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. Animal Feed Science and Technology. 134: 304-315.
  7. **Hosseini-Mansoub, N., 2011.** Comparative influence of using different level of *Tanacetum balsamita* with probiotic on performance and serum composition of broiler chickens. Advances in Environmental Biology. 5(9): 2708-2711.
  8. **Vakili, R. and Daliri, R., 2010.** Effect of vitamin E on broiler chicken performance and immunity. Journal of veterinary research. 65(3): 239-244.
  9. **Ajakaiye, J.J., Perez-Bello, A. and Mollineda-Trujillo, A., 2010.** Impact of vitamins C and E dietary supplementation on leukocyte profile of layer hens exposed to high ambient temperature and humidity. Acta Veterinaria Brno. 79(3): 377-383.
  10. **Mathivanan, R. and Kalaiarasi, K., 2007.** Panchagavya and *Andrographis paniculata* as alternatives to antibiotic growth promoters on hematological, serum biochemical parameters and immune status of broilers. Poultry Science. 44: 198-204.
  11. **Alempour, M., Rahimi, S.H. and Karimi Torshizi, M.A., 2013.** Comparison of the effect of five herbal extracts and virginiamycin on serum lipids and heterophil/lymphocyte ratio in broilers. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 29(1): 1-10.
  12. **Puthongsiriporn, U., Scheideler, S.E., Sell, J.L. and Beck, M.M., 2001.** Effects of vitamin E and C supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. Poultry science. 80(8): 1190-1200.
  13. **Amakye-Anim, J., Lin, T.L., Hester, P.Y., Thiagarajan, D., Watkins, B.A. and Wu, C.C., 2000.** Ascorbic acid supplementation improved antibody response to infectious bursal disease vaccination in chickens. Poultry Science. 79(5): 680-688.
  14. **Monfared, A., Davarani, S.S.H., Rustaiyan, A. and Masoudi, S., 2002.** Composition of the essential oil of *Tanacetum balsamita* L. ssp. *balsamitoides* (Schultz Bip.) Grierson from Iran. Journal of Essential Oil Research. 14(1): 1-2.
  15. **Başer, K.H.C., Demirci, B., Tabanca, N., Özek, T. and Gören, N., 2001.** Composition of the essential oils of *Tanacetum armenum* (DC.) Schultz Bip., *T. balsamita* L., *T. chiliophyllum* (Fisch. & Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* and *T. haradjani* Grierson and the



27. **Diaz, S.S., D'Souza, D., Biswas, D. and Hanning, I., 2015.** Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Poultry Science*. 94(6): 1419-1430.
28. **Xin-Jian L., Hyeok-Min, Y. and In-Ho, K., 2018.** Effects of dietary supplementation of natural and fermented herbs on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters, meat quality and fatty acid composition in growing-finishing pigs. *Italian Journal of Animal Science*. 17(4): 984-993.
29. **Craig, W.J., 1999.** Health-promoting properties of common herbs. *American Journal of Clinical Nutrition*. 70: 491-499.
30. **Haghighi, H.R., Gong, J., Gyles, C.L., Hayes, M.A., Sanei, B., Parvizi, P., Gisavi, H., Chambers, J.R. and Sharif, S., 2005.** Modulation of antibody mediated immune response by probiotic in chickens. Clinical and diagnostic laboratory performance and nutrient availability in broiler. *Journal of Animal Science and Technology*. 36: 630-638.