



动物营养学报  
*Chinese Journal of Animal Nutrition*  
ISSN 1006-267X, CN 11-5461/S

## 《动物营养学报》网络首发论文

题目： 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡生长性能和盲肠菌群的影响  
作者： 金瑶瑶，徐彬，王琳焱，孙全友，席燕燕，袁艳枝，王改利，付趁，李绍钰  
收稿日期： 2020-12-09  
网络首发日期： 2021-04-19  
引用格式： 金瑶瑶，徐彬，王琳焱，孙全友，席燕燕，袁艳枝，王改利，付趁，李绍钰. 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡生长性能和盲肠菌群的影响[J/OL]. 动物营养学报. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5461.S.20210419.1110.052.html>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡生长性能和盲肠菌群的影响

金瑶瑶<sup>1,2</sup> 徐彬<sup>2</sup> 王琳焱<sup>2</sup> 孙全友<sup>2</sup> 席燕燕<sup>2</sup> 袁艳枝<sup>1,2</sup>  
王改利<sup>2</sup> 付趁<sup>2</sup> 李绍钰<sup>2\*</sup>

(1.河南农业大学动物科技学院, 郑州 450002; 2.河南省农业科学院畜牧兽医研究所, 郑州 450002)

**摘要:** 本试验旨在研究酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌喂肉仔鸡对其生长性能和盲肠菌群的影响。选取 1 日龄科宝(Cobb)肉仔鸡 480 只, 随机分为 4 组(每组 6 个重复, 每个重复 20 只): 对照组饲喂基础饲料, 抗生素组、试验 I 组和试验 II 组分别在基础饲料中添加 20 mg/kg 抗生素(主要成分为维吉尼霉素)、1 g/kg 酶解青蒿以及 1 g/kg 酶解青蒿+200 mg/kg 地衣芽孢杆菌。试验期 42 d。结果表明: 1) 与对照组相比, 试验 II 组肉仔鸡平均日增重显著提高( $P<0.05$ ), 抗生素组和试验 I 组平均日增重分别提高 5.18% 和 7.49% ( $P>0.05$ ); 试验 II 组肉仔鸡终末体重显著提高( $P<0.05$ ), 抗生素组和试验 I 组分别提高 6.94% 和 6.94% ( $P>0.05$ )。各组肉仔鸡平均日采食量和料重比差异不显著( $P>0.05$ )。2) 对肉仔鸡盲肠菌群进行 alpha 多样性分析发现, 抗生素组和各试验组盲肠菌群多样性均有所提高( $P<0.05$ )。对 4 组肉仔鸡盲肠菌群组成进行分析显示, 在门水平上, 优势菌门主要为厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和软壁菌门(Tenericutes)。与对照组相比, 抗生素组和各试验组厚壁菌门相对丰度显著提高( $P<0.05$ ), 试验 I 组和试验 II 组拟杆菌门相对丰度显著降低( $P<0.05$ )。在属水平上, 与对照组相比, 抗生素组和各试验组拟杆菌属相对丰度显著降低( $P<0.05$ ), 试验 I 组和试验 II 组粪杆菌属相对丰度显著提高( $P<0.05$ ), 试验 II 组瘤胃球菌科 UCG-014 菌属相对丰度显著提高( $P<0.05$ )。由此得出, 酶解青蒿用于肉仔鸡饲料具有替代抗生素的潜质。饲料单独添加酶解青蒿具有改善肉仔鸡生长性能的趋势, 酶解青蒿和地衣芽孢杆菌联用可通过改善盲肠菌群结构, 提高肠道菌群多样性, 以及提高厚壁菌门与拟杆菌门相对丰度的比例来提高肉鸡生长性能。

**关键词:** 酶解青蒿; 地衣芽孢杆菌; 肉仔鸡; 生长性能; 肠道菌群

中图分类号: S816.7

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2021)07-0000-00

饲料全面禁抗对肉仔鸡生长速度和肠道健康造成挑战, 因此寻找一种绿色安全的饲料添加剂来代替抗生素成为大势所趋。青蒿为一年生草本植物, 其被广泛种植于世界各地。青蒿中的主要有效成分为倍半萜类、氨基酸、多酚以及黄酮类等, 这些有效成分使得青蒿具有抗菌、抗炎及抗疟疾等作用<sup>[1-2]</sup>。然而, 植物细胞壁的存在使得青蒿

中有效成分的释放存在阻碍, 而使用纤维素酶和果胶酶处理, 可以促进植物中有效成分的释放<sup>[3]</sup>。研究发现, 在热应激肉仔鸡饲料中添加酶处理的青蒿, 可以提高肉仔鸡采食量, 增强其抗氧化能力, 缓解热应激对肉仔鸡造成的损伤<sup>[4]</sup>; 在肉仔鸡饲料中添加青蒿粉和青蒿精油, 可在一定程度上减少肉仔鸡盲肠中肠杆菌科细菌的数量, 并使乳

收稿日期: 2020-12-09

基金项目: 国家肉鸡产业技术体系项目(CARS-41-G19)

作者简介: 金瑶瑶(1996—), 女, 河南洛阳人, 硕士研究生, 研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 1298242440@qq.com

\* 通信作者: 李绍钰, 研究员, 硕士生导师, E-mail: lsy9617@aliyun.com

酸菌数量得到相应地增加<sup>[5]</sup>。地衣芽孢杆菌为兼氧革兰氏阳性菌,具有较强的抗逆性,在肠道中可通过与有害菌竞争定植位点,促进有益菌定植,起到改善肠道健康的作用。在肉仔鸡饲料中添加地衣芽孢杆菌,可显著提升平均日增重,降低盲肠中致病菌的数量,显著提高乳杆菌属的丰度,改善肠道内环境<sup>[6]</sup>。目前,酶解青蒿对肉仔鸡的影响主要集中于生长性能,其对肠道菌群方面的影响报道较少,并且酶解青蒿与地衣芽孢杆菌联合应用对生长性能以及肠道菌群的影响更是鲜有报道。因此,本试验通过在肉仔鸡饲料中单独添加酶解青蒿或与地衣芽孢杆菌联用,利用高通量测序技术探讨其对肉仔鸡肠道菌群的影响,进而观察对生长性能的作用,以期酶解青蒿在肉仔鸡生产中的应用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

青蒿产于重庆,收割于生长盛期至花蕾期,使用纤维素酶和果胶酶对其进行处理,酶解青蒿主要活性成分为青蒿素、多酚和黄酮类化合物。抗生素主要成分为维吉尼霉素,含量为 50%。地衣芽孢杆菌活菌总数量为  $2 \times 10^{10}$  CFU/g。

### 1.2 试验设计

选用初始体重相近的 1 日龄科宝(Cobb)肉仔鸡 480 只,随机分为 4 组,每组 6 个重复,每个重复 20 只。对照组饲喂基础饲料,抗生素组、试验 I 组和试验 II 组分别饲喂在基础饲料中添加 20 mg/kg 抗生素、1 g/kg 酶解青蒿以及 1 g/kg 酶解青蒿+200 mg/kg 地衣芽孢杆菌的饲料。基础饲料参照中华人民共和国农业行业标准 NY/T 33—2004《鸡饲养标准》进行配制,其组成及营养水平见表 1。

### 1.3 饲养管理

饲养试验在河南大用实业有限公司进行,采用 3 层笼养,每笼饲养 20 只鸡,试验期 42 d。试验期间鸡只自由采食和饮水;试验第 1 周温度保持在 32~34 °C,然后每周逐渐降低 2~3 °C,直至降为 23 °C 并保持不变;按常规免疫程序进行接种。

### 1.4 测定指标及方法

#### 1.4.1 生长性能的测定

在 42 日龄,以重复为单位对试验鸡进行称重,称重前肉鸡禁食 12 h,同时详细记录试验期间

各重复耗料量,计算平均日采食量、平均日增重和料重比。

表 1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets (air-dry basis)

项目 Items	1~21 日龄	22~42 日龄
	1 to 21 days of age	22 to 42 days of age
原料 Ingredients		
玉米 Corn	60.00	62.00
豆粕 Soybean meal	34.30	31.00
豆油 Soybean oil	2.00	3.20
石粉 Limestone	1.25	1.40
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	1.35	1.20
蛋氨酸 Met	0.25	0.30
赖氨酸 Lys	0.20	0.35
食盐 NaCl	0.35	0.25
预混料 Premix <sup>1)</sup>	0.20	0.20
氯化胆碱 Choline chloride	0.10	0.10
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>		
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.13	12.55
粗蛋白质 CP	21.50	20.08
钙 Ca	1.02	0.90
有效磷 AP	0.46	0.41
蛋氨酸 Met	0.50	0.42

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets: VA 8 000 IU, VB<sub>1</sub> 4.2 mg, VB<sub>2</sub> 4 mg, VB<sub>6</sub> 4.5 mg, VB<sub>12</sub> 0.02 mg, VD<sub>3</sub> 3 000 IU, VE 20 IU, VK<sub>3</sub> 2 mg, 生物素 biotin 0.15 mg, 叶酸 folic acid 1.0 mg, D-泛酸 D-pantothenic acid 11 mg, 烟酸 nicotinic acid 10 mg, Cu (as copper sulfate) 10 mg, Fe (as ferrous sulfate) 80 mg, Mn (as manganese sulfate) 80 mg, Zn (as zinc sulfate) 75 mg, I (as potassium iodide) 0.40 mg, Se (as sodium selenite) 0.30 mg。

2) 代谢能为计算值,其他为实测值。ME was a calculated value, while the others were measured values.

#### 1.4.2 盲肠菌群的测定

在 42 日龄,每组随机选取 3 只接近平均体重的肉仔鸡进行屠宰,收集盲肠内容物于无菌冻存管中,置于液氮中保存,用于菌群测定。

用 FastDNA Spin Kit for Soil(MP 公司,美国)试剂盒对盲肠内容物进行 DNA 抽提,用 Nanodrop 2000 对 DNA 浓度和纯度进行检测,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测进行 DNA 提取质量。

采用通用引物 338F(5'-ACTCCTACGG-

GAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACH-VGGGTWTCTAAT-3') 对细菌 16S rRNA V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。扩增体系为 20  $\mu$ L, 包括 4  $\mu$ L 5 $\times$ FastPfu 缓冲液、2  $\mu$ L 2.5 mmol/L 脱氧核糖核苷三磷酸 (dNTPs)、上下游引物各 0.8  $\mu$ L (5  $\mu$ mol/L)、0.4  $\mu$ L FastPfu 聚合酶和 10 ng DNA 模板。在 ABI GeneAmp<sup>®</sup> 9700 型 PCR 仪器上进行程序设置: 95  $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 27 个循环 (95  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s), 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 用 AxyPrep DNA (Axygen 公司, 美国) 试剂盒进行纯化, 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。利用 Quantifluor<sup>™</sup>-ST 荧光定量仪 (Promega 公司, 美国) 进行定量检测。根据 Illumina MiSeq 平台进行对纯化后的扩增片段构建 PE 300 文库, 利用 Illumina MiSeq PE 300 平台进行测序。

## 1.5 数据处理与分析

生长性能数据采用 SPSS 20.0 软件进行单因

素方差分析 (one-way ANOVA), 若差异显著, 则用 Duncan 氏法进行多重比较, 以  $P < 0.05$  为差异显著性判断标准, 结果以平均值  $\pm$  标准差表示。

盲肠菌群原始测序序列使用 Trimmomatic 软件质控, FLASH 软件进行拼接。对优化后的序列根据 97% 的相似度进行操作分类单元 (OTU) 聚类, 并且对每个样本在各个水平的菌群组成进行统计。试验结果在 I-Sanger 云平台进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡生长性能的影响

由表 2 可知, 与对照组相比, 试验 II 组肉仔鸡平均日增重和 42 日龄终末体重显著提高 ( $P < 0.05$ ), 抗生素组和试验 I 组上述指标有提高趋势, 但差异不显著 ( $P > 0.05$ )。各组之间肉仔鸡平均日采食量和料重比无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 2 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡生长性能的影响

Table 2 Effects of enzymatically treated *Artemisia annua* combined with *Bacillus licheniformis* on growth performance of broilers

项目 Items	对照组 Control group	抗生素组 Antibiotic group	试验 I 组 Trial group I	试验 II 组 Trial group II
平均日采食量 ADFI/g	79.08 $\pm$ 7.03	82.12 $\pm$ 3.95	83.49 $\pm$ 8.40	87.76 $\pm$ 7.26
平均日增重 ADG/g	50.20 $\pm$ 3.80 <sup>b</sup>	52.80 $\pm$ 2.30 <sup>ab</sup>	53.96 $\pm$ 3.66 <sup>ab</sup>	57.19 $\pm$ 5.49 <sup>a</sup>
料重比 F/G	1.62 $\pm$ 0.12	1.56 $\pm$ 0.12	1.55 $\pm$ 0.12	1.54 $\pm$ 0.15
初始体重 Initial body weight/g	42.32 $\pm$ 0.90	42.59 $\pm$ 0.64	42.98 $\pm$ 0.40	42.05 $\pm$ 0.91
终末体重 Final body weight/kg	2.16 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	2.31 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	2.31 $\pm$ 0.15 <sup>ab</sup>	2.41 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ( $P > 0.05$ ), while with different letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same as below.

### 2.2 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡盲肠菌群的影响

#### 2.2.1 序列及 OTU 统计

本次试验采用高通量测序的方法对各组肉仔鸡盲肠菌群进行了测序分析, 最终获得 667 924 条有效序列, 平均长度 414.61 bp。对获得的有效序列按照 97% 相似性进行 OTU 聚类分析, 得到所有样本平均聚类的 OTU 数目为 828。同时, 采用随机抽样的方法, 从获得的样本中随机抽取一定数量的序列, 进行稀释曲线的绘制, 得到图 1。在该曲线中, 当测序量达到一定的深度, 则曲线趋于平

坦, 由此可得出本次测序样本深度充分, 数据量合理。

#### 2.2.2 alpha 多样性分析

由表 3 可知, 各组肉仔鸡盲肠菌群测序覆盖度达到 99.77% 以上。抗生素组和各试验组肉仔鸡盲肠菌群 Ace 指数和 Chao1 指数与对照组相比均有提高的趋势, 但差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 抗生素组和各试验组肉仔鸡盲肠菌群 Shannon 指数显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且 Simpson 指数显著低于对照组 ( $P < 0.05$ )。这说明在肉仔鸡饲料中添加酶解青蒿和地衣芽孢杆菌有助于提高肉仔鸡盲肠菌

群丰富度和多样性。

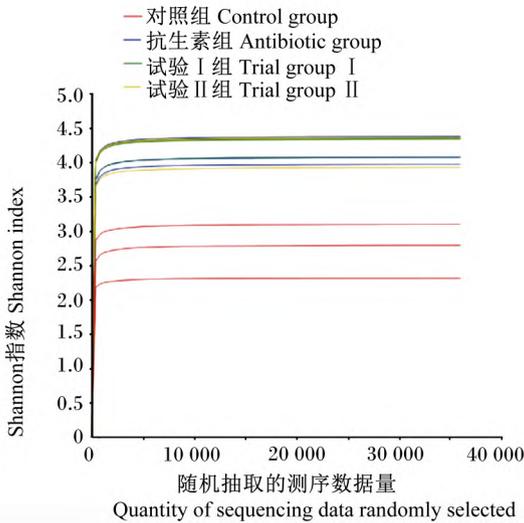


图1 稀释曲线

Fig.1 Rarefaction curves

表3 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡盲肠菌群多样性的影响

Table 3 Effects of enzymatically treated *Artemisia annua* combined with *Bacillus licheniformis* on diversity in cecal microbiota of broilers

项目 Items	对照组 Control group	抗生素组 Antibiotic group	试验 I 组 Trial group I	试验 II 组 Trial group II
覆盖度 Coverage/%	99.772	99.786	99.787	99.775
Ace 指数 Ace index	421.42±103.99	532.74±32.13	524.69±23.49	521.95±14.61
Chao1 指数 Chao1 index	427.54±100.23	552.34±24.97	541.70±22.51	550.44±34.13
Shannon 指数 Shannon index	2.73±0.40 <sup>b</sup>	4.14±0.21 <sup>a</sup>	4.25±0.15 <sup>a</sup>	4.21±0.25 <sup>a</sup>
Simpson 指数 Simpson index	0.19±0.06 <sup>a</sup>	0.06±0.02 <sup>b</sup>	0.05±0.01 <sup>b</sup>	0.04±0.01 <sup>b</sup>

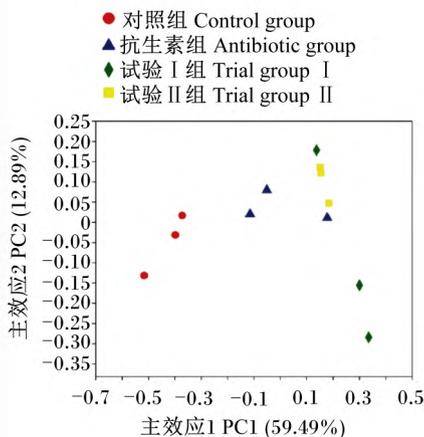


图2 PCoA 图

Fig.2 PCoA graph

### 2.2.3 beta 多样性分析

图2为各组肉仔鸡盲肠菌群组成的主坐标分析(PCoA)图。结果显示,抗生素组和各试验组在主效应1(PC1)上与对照组有较为明显的组间区分,说明抗生素组和试验组的菌群组成更为相似。

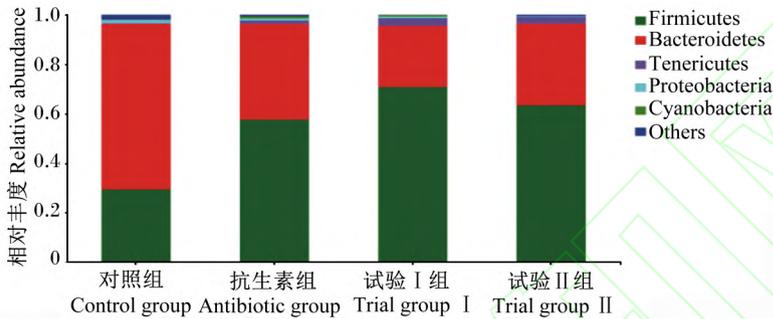
### 2.2.4 盲肠菌群组成

从门水平分析,各组肉仔鸡盲肠菌群组成见图3和表4。由图3可知,各组肉仔鸡盲肠菌群中,厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和软壁菌门(Tenericutes)为优势菌门,其总的相对丰度占96.7%~99.2%。由表4可知,与对照组相比,抗生素组和各试验组肉仔鸡盲肠菌群中厚壁菌门相对丰度显著提高( $P<0.05$ ),软壁菌门相对丰度有降低趋势,但差异不显著( $P>0.05$ );与对照组相比,试验I组、试验II组肉仔鸡盲肠菌群中拟杆菌门相对丰度显著降低( $P<0.05$ )。上述结果说明在饲料中添加酶解青蒿和地衣芽孢杆菌改变了肉仔鸡盲肠在门水平上的菌群组成。

从属水平分析,各组肉仔鸡盲肠菌群组成见图4和表5。由图4可知,各组肉仔鸡盲肠菌群中菌属的相对丰度不同,其中相对丰度大于2%的菌属有19种。对照组相对丰度较高的菌属为拟杆菌属(*Bacteroides*, 58.11%)、考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*, 10.23%)和另枝菌属(*Alistipes*, 6.92%)。抗生素组相对丰度较高的菌属为拟杆菌属(20.45%)、另枝菌属(8.02%)和粪杆菌属(*Faecalibacterium*, 7.37%)。试验I组相对丰度较高的菌属为粪杆菌属(15.46%)、巴恩斯氏菌属(*Barne-siella*, 9.20%)和未明确梭菌科相关菌属(norank\_f\_Clostridiales\_vadinBB60\_group, 7.98%)。试验II组相对丰度较高的菌属为粪杆菌属(15.11%)、瘤胃球菌科 UCG-014 菌属(*Ruminococcaceae\_UCG-*

014, 13.57%)、拟杆菌属(11.99%)。由表 5 可知, 与对照组相比, 抗生素组和各试验组肉仔鸡盲肠菌群中拟杆菌属相对丰度显著降低 ( $P < 0.05$ ), 试验 I 组、试验 II 组粪杆菌属相对丰度显著提高 ( $P < 0.05$ ), 抗生素组、试验 I 组瘤胃球菌科 UCG-014

菌属相对丰度有提高趋势, 但差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 试验 II 组瘤胃球菌科 UCG-014 菌属相对丰度显著提高 ( $P < 0.05$ ), 试验 I 组未明确梭菌科相关菌属相对丰度显著提高 ( $P < 0.05$ ), 试验 I 组、试验 II 组考拉杆菌属相对丰度显著降低 ( $P < 0.05$ )。



Firmicutes: 厚壁菌门; Bacteroidetes: 拟杆菌门; Tenericutes: 软壁菌门; Proteobacteria: 变形菌门; Cyanobacteria: 蓝藻菌门; Others: 其他。

图 3 肉仔鸡盲肠菌群在门水平上的分布

Fig.3 Microflora distribution in cecum of broilers at phylum level

表 4 肉仔鸡盲肠优势菌群在门水平上的相对丰度

Table 4 Relative abundance of dominant microflora in cecum of broilers at phylum level

物种 Species	对照组 Control group	抗生素组 Antibiotic group	试验 I 组 Trial group I	试验 II 组 Trial group II
厚壁菌门 Firmicutes	29.28±9.50 <sup>b</sup>	57.63±7.08 <sup>a</sup>	70.87±16.48 <sup>a</sup>	63.45±4.64 <sup>a</sup>
拟杆菌门 Bacteroidetes	67.19±11.50 <sup>a</sup>	38.77±7.94 <sup>ab</sup>	24.72±18.78 <sup>b</sup>	33.01±5.21 <sup>b</sup>
软壁菌门 Tenericutes	0.23±0.12	1.33±1.22	3.12±2.21	2.74±0.61

### 3 讨论

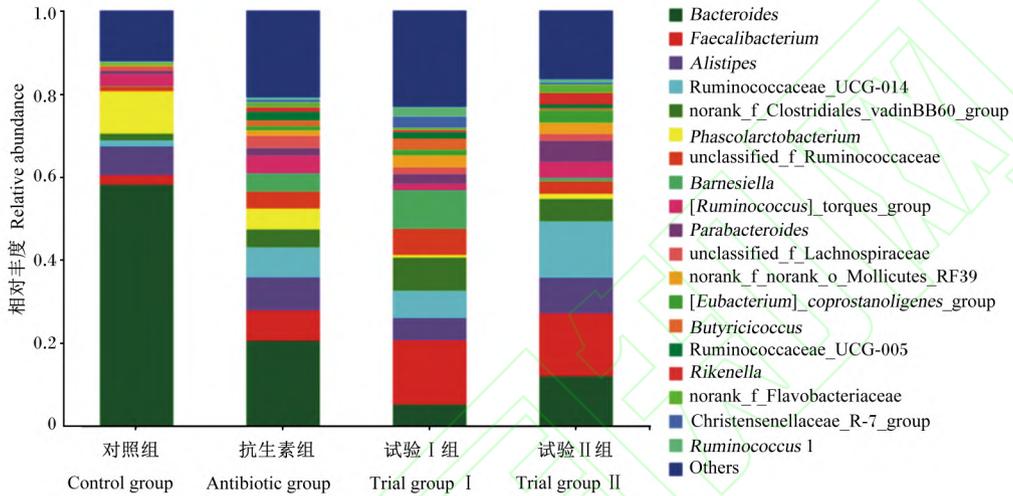
#### 3.1 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡生长性能的影响

青蒿具有抗球虫、抗氧化、改善肠道黏膜形态和提高肠道消化酶等作用, 从而为肉仔鸡的健康生长提供保障。酶解青蒿是由纤维素酶和果胶酶对青蒿进行处理得到的, 经过酶处理可以使青蒿中有效成分得到更高效地释放。地衣芽孢杆菌为兼性厌氧菌, 在肠道内定植后可迅速消耗掉肠道中的游离氧, 为肠道中的有益菌提供适宜生长的环境, 并且其本身在肠道中定植后还可产生许多淀粉酶、蛋白酶和脂肪酶等消化酶<sup>[7]</sup>, 此外, 地衣芽孢杆菌也能刺激肠道免疫细胞的生长, 从而提高肠道对致病菌的抑制作用<sup>[8]</sup>。热应激条件下, 肉仔鸡饲料中添加 0.005% 青蒿油和 1% 青蒿粉混

合物, 可显著提高肉仔鸡平均日采食量, 减少大肠杆菌以及葡萄球菌的数量, 增加乳酸杆菌的数量<sup>[9]</sup>; 加入酶解青蒿, 可提高热应激状态下肉仔鸡空肠中脂肪酶、胰蛋白酶的活性, 提高空肠绒毛高度与绒隐比(绒毛高度/隐窝深度), 改善热应激状态下肉仔鸡的肠道形态<sup>[10]</sup>。而在肉鸡饲料中单独添加地衣芽孢杆菌时, 发现其不仅能提高坏死性肠炎肉仔鸡生长性能, 并且可以调节坏死性肠炎所带来的肠道菌群的改变<sup>[11]</sup>。本试验中, 饲料添加抗生素和单独添加酶解青蒿有提高肉仔鸡平均日增重和终末体重的趋势, 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌添加则显著提高肉仔鸡 1~42 日龄平均日增重和终末体重。抗生素维吉尼霉素可能通过抑制革兰氏阳性有害菌, 延长饲料在肠道中的停留时间, 从而提高营养物质的吸收<sup>[12]</sup>。本试验单独添加酶解青蒿对肉仔鸡生长性能的影响与 Wan

等<sup>[13]</sup>的研究结果相似,酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对生长性能的影响优于单独添加酶解青蒿,初步推测其可能原因一方面是酶解青蒿改善了肠道形态,扩大了小肠对营养物质消化吸收表面积,并且其活性成分抑制了肠道中的有害菌;另一方面

是地衣芽孢杆菌在肠道内定植后可产生有利于消化的酶和短链脂肪酸,从而提高饲料的消化吸收率,并且促进有益菌群的增殖。因此,本试验结果表明,饲料单独添加酶解青蒿或与地衣芽孢杆菌联用对肉仔鸡生长性能的改善效果不亚于抗生素。



*Bacteroides*: 拟杆菌属; *Faecalibacterium*: 粪杆菌属; *Alistipes*: 另枝菌属; *Ruminococcaceae\_UCG-014*: 瘤胃球菌科 UCG-014 菌属; *norank\_f\_Clostridiales\_vadinBB60\_group*: 未明确梭菌科相关菌属; *Phascolarctobacterium*: 考拉杆菌属; *unclassified\_f\_Ruminococcaceae*: 未分类的瘤胃球菌科菌属; *Barnesiella*: 巴恩斯氏菌属; *[Ruminococcus]\_torques\_group*: 瘤胃球菌属扭链群; *Parabacteroides*: 副杆状菌属; *unclassified\_f\_Lachnospiraceae*: 未分类毛螺旋菌科相关菌属; *norank\_f\_norank\_o\_Mollicutes\_RF39*: *norank\_f\_norank\_o\_柔膜菌纲 RF39* 菌属; *[Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group*: 产粪甾醇真细菌群菌属; *Butyricoccus*: 丁酸球菌属; *Ruminococcaceae\_UCG-005*: 瘤胃球菌科 UCG-005 菌属; *Rikenella*: 理研菌属; *norank\_f\_Flavobacteriaceae*: 未明确黄杆菌科菌属; *Christensenellaceae\_R-7\_group*: 克里斯滕菌科 R-7 群菌属; *Ruminococcus 1*: 瘤胃球菌属 1; Others: 其他。

图 4 肉仔鸡盲肠菌群在属水平上的分布

Fig.4 Microflora distribution in cecum of broilers at genus level

表 5 肉仔鸡盲肠优势菌群在属水平上的相对丰度

Table 5 Relative abundance of dominant microflora in cecum of broilers at genus level

物种 Species	对照组 Control group	抗生素组 Antibiotic group	试验 I 组 Test group I	试验 II 组 Test group II
拟杆菌属 <i>Bacteroides</i>	58.11±18.12 <sup>a</sup>	20.45±7.65 <sup>b</sup>	5.17±5.53 <sup>b</sup>	11.99±1.30 <sup>b</sup>
粪杆菌属 <i>Faecalibacterium</i>	2.27±1.86 <sup>b</sup>	7.37±6.07 <sup>ab</sup>	15.46±5.82 <sup>a</sup>	15.11±3.58 <sup>a</sup>
另枝菌属 <i>Alistipes</i>	6.92±9.24	8.02±4.15	5.40±1.05	8.57±2.28
瘤胃球菌科 UCG-014 菌属 <i>Ruminococcaceae_UCG-014</i>	1.47±1.33 <sup>b</sup>	7.17±3.38 <sup>ab</sup>	6.53±2.17 <sup>ab</sup>	13.57±5.83 <sup>a</sup>
未明确梭菌科相关菌属 <i>Norank_f_Clostridiales_vadinBB60_group</i>	1.66±1.59 <sup>b</sup>	4.35±2.05 <sup>ab</sup>	7.98±2.31 <sup>a</sup>	5.39±0.97 <sup>ab</sup>
考拉杆菌属 <i>Phascolarctobacterium</i>	10.23±3.24 <sup>a</sup>	5.03±5.66 <sup>ab</sup>	0.66±0.51 <sup>b</sup>	1.28±0.52 <sup>b</sup>
未分类的瘤胃球菌科菌属 <i>Unclassified_f_Ruminococcaceae</i>	1.10±0.82	4.10±0.73	6.34±5.02	3.07±1.34

### 3.2 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡盲肠菌群多样性和丰富度的影响

肠道是动物机体重要的消化器官,也是机体中最大的细菌库,肠道的生物屏障主要由肠道中的菌群构成,菌群的数量和结构对宿主的消化和健康起到重要的作用<sup>[14]</sup>。肠道菌群分析中,Ace 指数和 Chao1 指数越大反映肠道菌群的丰富度越高,Shannon 指数越大、Simpson 指数越小则反映肠道菌群的多样性越高,且肠道菌群多样性通常与菌群的稳定性和抵抗致病菌感染的能力呈正相关<sup>[15]</sup>。余怡然<sup>[16]</sup>研究表明,给 MRL/lpr 小鼠灌胃 0.24 g/mL 青蒿水剂,与模型小鼠相比,青蒿组小鼠肠道菌群 Shannon 指数和 Simpson 指数显著提高,表明灌胃青蒿水剂可以提高试验小鼠肠道菌群多样性和丰富度。袁慧坤<sup>[17]</sup>研究表明,在北京鸭的饲料中添加地衣芽孢杆菌,可使北京鸭肠道菌群多样性得到提高,与对照组相比,地衣芽孢杆菌添加组肠道菌群 Chao1 指数和 Shannon 指数均有增加的趋势。在本试验中,抗生素组和各试验组肉仔鸡盲肠菌群 Shannon 指数显著高于对照组,并且 Simpson 指数显著低于对照组,表明抗生素组和试验组的肠道菌群多样性高于对照组;同时,对照组的 Ace 指数和 Chao1 指数也低于抗生素组和试验组,表明抗生素组和试验组肠道菌群丰富度高于对照组。引起试验 I 组、试验 II 组肉仔鸡肠道菌群多样性和丰富度提高的原因,可能是由于饲料中加入的酶解青蒿中的有效活性成分如多酚、黄酮等物质具有提高肠道菌群数量以及调节菌群多样性等作用<sup>[18]</sup>;同时,地衣芽孢杆菌可通过消耗肠道游离氧促进厌氧有益菌增殖,从而提高肠道菌群多样性和丰富度,进而起到改善肠道微生态平衡的作用<sup>[19]</sup>。因此,本试验结果说明,饲料单独添加酶解青蒿或与地衣芽孢杆菌联用均可提高肉仔鸡肠道菌群的多样性和丰富度。

### 3.3 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡盲肠菌群组间差异的影响

由 PCoA 图可知,各组肠道菌群具有不同的肠道区系,但是抗生素组和试验组肠道菌群组间差异较小。从本试验的肠道菌群组成以及组间差异分析可知,饲料单独添加酶解青蒿或与地衣芽孢杆菌联用增加了肉仔鸡肠道菌群中分解纤维素以及产生丁酸等有益菌的数量,使肠道菌群向有益健康的方向发展,从而促进肉仔鸡的生长。酶解

青蒿主要是通过其活性成分中的青蒿素抑制革兰氏阴性菌如大肠杆菌的蛋白质合成、破坏细菌细胞壁以及干扰细菌药物外排基因表达来达到抑菌效果<sup>[20]</sup>。地衣芽孢杆菌则主要是通过生物夺氧使肠道达到厌氧环境,促进有益菌的生长。维吉尼霉素主要作用于革兰氏阳性菌如金黄色葡萄球菌的核糖体,从而阻止细菌蛋白质的合成,并且由于其不能通过革兰氏阴性菌的细胞膜,所以其对革兰氏阴性菌没有影响<sup>[21]</sup>。因此,本试验在饲料中添加抗生素、酶解青蒿以及酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌会对肉仔鸡肠道菌群区系产生不同的影响,但都是抑制了不同种属的有害菌,使肠道菌群往健康方向发展。

### 3.4 酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌对肉仔鸡盲肠菌群组成的影响

研究表明,在门水平上,肠道菌群主要由厚壁菌门(35%~80%)和拟杆菌门(17%~60%)组成<sup>[22]</sup>。当肠道中的厚壁菌门相对丰度得到提升时,有利于机体吸收食物中的热量<sup>[23]</sup>,厚壁菌门相对丰度的提高还可以促进微生物菌群对纤维素的分解<sup>[24]</sup>,并且其产生的短链脂肪酸有利于维持机体肠道健康<sup>[25]</sup>。张亚楠等<sup>[26]</sup>对不同产蛋水平的蛋鸡肠道菌群进行分析表明,在门水平上,不论产蛋量高或产蛋量低的组,4种优势菌门均为厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和变形菌门,而且厚壁菌门的相对丰度在所有组别中占绝对优势地位。在本试验中,厚壁菌门和拟杆菌门为各组的优势菌门,并且与对照组相比,抗生素组和各试验组厚壁菌门相对丰度显著提高,试验 I 组、试验 II 组拟杆菌门相对丰度显著降低,这表明添加抗生素、酶解青蒿以及酶解青蒿联合地衣芽孢杆菌改变了肉仔鸡肠道菌群结构。Turnbaugh 等<sup>[27]</sup>研究发现,体型较为瘦小的小鼠其肠道中的拟杆菌门相对丰度相对较高,而肠道中富集厚壁菌门的小鼠则较肥胖。由此提示本研究中试验组肉仔鸡生长性能的提高可能是通过调整厚壁菌门和拟杆菌门相对丰度的比例而实现的。

本试验中,在属水平上,对照组和抗生素组的优势菌属为拟杆菌属,该属细菌能帮助宿主分解多糖,并且可以产生丁酸盐,从而提高宿主免疫力,有利于调节肠道免疫系统<sup>[28-29]</sup>;试验 I 组、试验 II 组的优势菌属为粪杆菌属和瘤胃球菌科 UCG-014 菌属,该类菌属被认为是肠道健康象征

标志的最重要菌群之一,其可以分泌抗炎物质(水杨酸)和抗炎分子,协助抵御外来入侵病菌,同时可以减轻肠道炎症保护肠道健康<sup>[30-31]</sup>,同时该菌属也能够产生丁酸,而丁酸又可以有效地促进鸡空肠、盲肠防御素 9、防御素 14 和放线菌素 B1 基因的变达,抑制异原微生物如沙门氏菌的侵袭<sup>[32]</sup>。在本试验中,饲料添加抗生素降低了肉仔鸡盲肠中有害菌属的相对丰度,提高了肠道的免疫能力,并且其优势菌属拟杆菌属能够促进营养物质的消化吸收,进而提高生长性能。试验 I 组、试验 II 组单独添加酶解青蒿或与地衣芽孢杆菌联用均对肉仔鸡盲肠中粪杆菌属和瘤胃球菌科 UCG-014 菌属相对丰度具有提升作用,且联合作用对瘤胃球菌科 UCG-014 菌属相对丰度的提升效果更好,其原因可能是酶解青蒿中的有效活性成分青蒿素、多酚类物质降低了拟杆菌属的相对丰度,并且为粪杆菌属和瘤胃球菌科 UCG-014 菌属等菌属提供了底物,从而促进其在肠道中的生长繁殖<sup>[33]</sup>。在试验 II 组中,酶解青蒿和地衣芽孢杆菌联合添加对瘤胃球菌科 UCG-014 菌属的增殖产生协同效应,其一方面原因可能是地衣芽孢杆菌在肠道内定植后消耗活性氧,并通过分泌活性物质抑制有害菌群,促进有益菌增殖;另一方面可能为酶解青蒿的加入为瘤胃球菌科 UCG-014 菌属提供了底物,加强了其在肠道内的增殖效果。此外,增殖后的这些有益菌属又可促进肠道中葡萄糖的代谢以及纤维的吸收,从而提高肉仔鸡体重。

因此,本研究结果说明,单独添加酶解青蒿或与地衣芽孢杆菌联用能使肠道中厚壁菌门、粪杆菌属和瘤胃球菌科 UCG-014 菌属相对丰度显著提高,这些菌群的增加有助于机体对营养物质的吸收,有利于维持肠道健康,从而提高肉仔鸡生长性能。

## 4 结 论

① 饲料单独添加酶解青蒿对肉仔鸡生长性能具有一定的提升作用,其与地衣芽孢杆菌联用对生长性能的促进效果更佳。

② 酶解青蒿单独添加或与地衣芽孢杆菌联用均能改善肉仔鸡肠道菌群结构,提高肠道菌群多样性,提高盲肠中厚壁菌门与拟杆菌门相对丰度的比例,维持肠道健康。

## 参考文献:

- [1] 徐杰,邓龙兴,胡国元,等.青蒿素衍生物抗菌机理研究[J].天然产物研究与开发,2018,30(5):725-730.  
XU J,DENG L X,HU G Y,et al.Study on antibacterial mechanism of artemisinin derivatives [J].Natural Product Research and Development,2018,30(5):725-730.(in Chinese)
- [2] MAGBOOL F A R,HUSSEIN S E O.Pharmacological aspect of artemisinin and aresunate as potent anti-malarial agents-overview [J].European Journal of Pharmaceutical and Medical Research,2018,5(2):101-108.
- [3] PURI M,SHARMA D,BARROW C J,et al.Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants [J].Trends in Biotechnology,2012,30(1):37-44.
- [4] WAN X L,JIANG L Y,ZHONG H R,et al.Effects of enzymatically treated *Artemisia annua* L. on growth performance and some blood parameters of broilers exposed to heat stress [J].Animal Science Journal,2017,88(8):1239-1246.
- [5] PANAITTE T D,CRISTE R D,VLAICU P A,et al.Influence of *Artemisia annua* on broiler performance and intestinal microflora [J].Brazilian Journal of Poultry Science,2019,21(4):1-9.
- [6] CHEN Y C,YU Y H.*Bacillus licheniformis*-fermented products improve growth performance and the fecal microbiota community in broilers [J].Poultry Science,2020,99(3):1432-1443.
- [7] DARAFSH F,SOLTANI M,ABDOLHAY H A,et al.Improvement of growth performance,digestive enzymes and body composition of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) following feeding on probiotics: *Bacillus licheniformis*,*Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae* [J].Aquaculture Research,2020,51(3):957-964.
- [8] MIDHUN S J,NEETHU S,ARUN D,et al.Dietary supplementation of *Bacillus licheniformis* HGA8B improves growth parameters,enzymatic profile and gene expression of *Oreochromis niloticus* [J].Aquaculture,2019,505:289-296.
- [9] SARACILA M,CRISTE R D,PANAITTE T D,et al.*Artemisia annua* as phyto-genic feed additive in the diet of broilers (14-35 days) reared under heat stress (32 °C) [J].Brazilian Journal of Poultry Science,2018,20(4):825-832.

- [10] SONG Z H ,CHENG K ,ZHENG X C ,et al.Effects of dietary supplementation with enzymatically treated *Artemisia annua* on growth performance ,intestinal morphology ,digestive enzyme activities ,immunity ,and antioxidant capacity of heat-stressed broilers [J].Poultry Science 2018 ,97( 2) : 430-437.
- [11] 周梦佳 ,曾东 ,倪学勤 ,等.地衣芽孢杆菌 H2 对坏死性肠炎肉鸡生长性能及肠道菌群的影响 [J].中国农业大学学报 2017 22( 1) : 55-61.  
ZHOU M J ,ZENG D ,NI X Q ,et al.Effects of *Bacillus licheniformis* H2 on the growth performance and gut microflora of broiler chickens infected with necrotic enteritis [J].Journal of China Agricultural University 2017 22( 1) : 55-61.( in Chinese)
- [12] 张金灵 ,李琰 ,殷明郁 ,等.几种多肽类抗生素添加剂在饲料中的应用研究 [J].四川畜牧兽医 2014 ,41( 2) : 37-38 41.  
ZANG J L ,LI Y ,YIN M Y ,et al.Study on the application of antimicrobial peptide feed additives in feedstuff [J].Sichuan Animal & Veterinary Sciences , 2014 41( 2) : 37-38 41.( in Chinese)
- [13] WAN X L ,SONG Z H ,NIU Y ,et al.Evaluation of enzymatically treated *Artemisia annua* L. on growth performance ,meat quality ,and oxidative stability of breast and thigh muscles in broilers [J].Poultry Science 2017 96( 4) : 844-850.
- [14] KIM H B ,ISAACSON R E.The pig gut microbial diversity: understanding the pig gut microbial ecology through the next generation high throughput sequencing [J].Veterinary Microbiology 2015 ,177( 3/4) : 242-251.
- [15] KONSTANTINOV S R ,FAVIER C F ,ZHU W Y ,et al.Microbial diversity studies of the porcine gastrointestinal ecosystem during weaning transition [J].Animal Research 2004 53( 4) : 317-324.
- [16] 余怡然.青蒿鳖甲对 MRL/lpr 狼疮小鼠肠道微生物的影响研究 [D].硕士学位论文.杭州: 浙江中医药大学 2019: 12-13.  
YU Y R.Effects of *Artemisia annua* turtle carapace on intestinal microorganisms in MRL/lpr lupus mice [D].Master' s Thesis. Zhejiang: Zhejiang Chinese Medical University 2019: 12-13.( in Chinese)
- [17] 袁慧坤.日粮中添加芽孢杆菌对北京鸭生长性能、肠道菌群的影响 [D].硕士学位论文.哈尔滨: 东北农业大学 2019: 28-31.  
YUAN H K.Effects of dietary supplementation of *Bacillus* on growth performance and intestinal flora in Beijing duck [D].Master' s Thesis. Harbin: Northeast Agricultural University 2019: 28-31.( in Chinese)
- [18] 文秋 ,杨瑞瑞 ,金晓露.植物多酚对畜禽肠道健康的保护作用研究进展 [J].中国科学( 生命科学) , 2020 50( 9) : 914-926.  
WEN Q ,YANG R R ,JIN X L.Research advances on the beneficial effects of plant polyphenols on intestinal health in farm animals [J].Science China( Life Sciences) 2020 50( 9) : 914-926.( in Chinese)
- [19] YANG J J ,ZHAN K ,ZHANG M H.Effects of the use of a combination of two *Bacillus* species on performance ,egg quality ,small intestinal mucosal morphology and cecal microbiota profile in aging laying hens [J].Probiotics and Antimicrobial Proteins 2020 ,12( 1) : 204-213.
- [20] 黄梅 ,罗俊 ,沈建英.双氢青蒿素与头孢呋辛对大肠杆菌的协同抗菌作用及机制研究 [J].中国中药杂志 2020 45( 12) : 2975-2981.  
HUANG M ,LUO J ,SHEN J Y.Synergistic antibacterial effect and mechanisms of dihydroartemisinin and cefuroxime in combination [J].China Journal of Chinese Materia Medica 2020 45( 12) : 2975-2981.( in Chinese)
- [21] BUTAYE P ,DEVRIESE L A ,HAESEBROUCK F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria [J].Clinical Microbiology Reviews 2003 ,16( 2) : 175-188.
- [22] SHOAIE S ,KARLSSON F ,MARDINOGLU A ,et al. Understanding the interactions between bacteria in the human gut through metabolic modeling [J].Scientific Reports 2013 3: 2532.
- [23] 韩岗 ,马婧 ,陶士珩 ,等.厚壁菌门细菌及其祖先蛋白的氨基酸偏好性研究 [J].安徽农业科学 2011 ,39( 30) : 18408-18410.  
HAN G ,MA J ,TAO S H ,et al.The study of Amino acid biases in Firmicutes and their ancestral proteome [J].Journal of Anhui Agricultural Sciences 2011 ,39( 30) : 18408-18410.( in Chinese)
- [24] BRULC J M ,ANTONOPOULOS D A ,BERG MILLER M E ,et al.Gene-centric metagenomics of the fiber-adherent bovine rumen microbiome reveals forage specific glycoside hydrolases [J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2009 ,106( 6) : 1948-1953.
- [25] ZHANG J C ,GUO Z ,XUE Z S ,et al.A phylo-functional core of gut microbiota in healthy young Chinese

- cohorts across lifestyles ,geography and ethnicities [J].  
The ISME Journal ,2015 ,9( 9) : 1979-1990.
- [26] 张亚楠 ,魏单平 ,韩瑞丽 ,等.高产期不同产蛋水平蛋  
鸡肠道微生物群落特征 [J].中国兽医学报 ,2017 ,  
37( 6) : 1179-1185.  
ZHANG Y N ,WEI D P ,HAN R L ,et al.The charac-  
ter of the intestinal microbiota associated with laying  
performance in hens [J].Chinese Journal of Veterinary  
Science ,2017 ,37( 6) : 1179-1185.( in Chinese)
- [27] TURNBAUGH P J ,LEY R E ,MAHOWALD M A ,et  
al. An obesity-associated gut microbiome with in-  
creased capacity for energy harvest [J].Nature ,2006 ,  
444( 7122) : 1027-1031.
- [28] ZHANG W ,MA C ,XIE P ,et al. Gut microbiota of  
newborn piglets with intrauterine growth restriction  
have lower diversity and different taxonomic abun-  
dances [J]. Journal of Applied Microbiology ,2019 ,  
127( 2) : 354-369.
- [29] 李亚丹 ,任宏伟 ,吴彦彬 ,等.拟杆菌与肠道微生态  
[J].微生物学通报 ,2008 ,35( 2) : 281-285.  
LI Y D ,REN H W ,WU Y B ,et al.*Bacteroides* and  
gut microbial ecology [J].Microbiology China ,2008 ,  
35( 2) : 281-285.( in Chinese)
- [30] MIQUEL S ,LECLERC M ,MARTIN R ,et al. Identifi-  
cation of metabolic signatures linked to anti-inflamma-  
tory effects of *Faecalibacterium prausnitzii* [J].mBio ,  
2015 ,6( 2) : 1-10.
- [31] QUÉVRAIN E ,MAUBERT M A ,MICHON C ,et al.  
Identification of an anti-inflammatory protein from  
*Faecalibacterium prausnitzii* ,a commensal bacterium  
deficient in Crohn ' s disease [J].Gut ,2016 ,65( 3) :  
425-425.
- [32] SUNKARA L T ,ACHANTA M ,SCHREIBER N B ,  
et al. Butyrate enhances disease resistance of chickens  
by inducing antimicrobial host defense peptide Gene  
expression [J].PLoS One ,2011 ,6( 11) : e27225.
- [33] 卢烽 ,廖小军 ,胡小松 ,等.多酚对肠道微生物影响的  
研究进展及对多酚指示菌的探讨 [J].食品工业科  
技 ,2018 ,39( 16) : 330-335.  
LU F ,LIAO X J ,HU X S ,et al. Research advances in  
the effect of polyphenols on the gut microbes and the  
discuss about microbes which will appear as polyphe-  
nols [J]. Science and Technology of Food Industry ,  
2018 ,39( 16) : 330-335.( in Chinese)

# Effects of Enzymatically Treated *Artemisia annua* Combined with *Bacillus licheniformis* on Growth Performance and Cecal Microbiota of Broilers

JIN Yaoyao<sup>1,2</sup> XU Bin<sup>2</sup> WANG Linyi<sup>2</sup> SUN Quanyou<sup>2</sup> XI Yanyan<sup>2</sup> YUAN Yanzhi<sup>1,2</sup>  
WANG Gaili<sup>2</sup> FU Chen<sup>2</sup> LI Shaoyu<sup>2\*</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Henan Academy of Agricultural Science, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to investigate the effects of dietary enzymatically treated *Artemisia annua* combined with *Bacillus licheniformis* on the growth performance and cecal microbiota of broilers. A total of 480 Cobb broilers of one-day-old were randomly divided into 4 groups with 6 replicates per group and 20 broilers per replicate. Broilers in the control group were fed a basal diet, and those in the antibiotic group, trial group I and trial group II were fed the basal diets supplemented with 20 mg/kg antibiotics (a kind of virginiamycin premix), 1 g/kg enzymatically treated *Artemisia annua* and 1 g/kg enzymatically treated *Artemisia annua*+200 mg/kg *Bacillus licheniformis*, respectively. The experiment lasted for 42 days. The results showed as follows: 1) compared with the control group, the average daily weight gain of broilers in the trial group II was significantly increased ( $P<0.05$ ), and which in the antibiotic group and trial group I was increased by 5.18% and 7.49% ( $P>0.05$ ), respectively; the final body weight of broilers in the trial group II was significantly increased ( $P<0.05$ ), and which in the antibiotic group and trial group I was increased by 6.94% and 6.94% ( $P>0.05$ ), respectively. There was no significant difference in average daily feed intake and the ratio of feed to gain among all groups ( $P>0.05$ ). 2) The alpha diversity analysis in cecal microbiota of broilers found that the cecal microbiota diversity in the antibiotic group and both trial groups were significantly improved ( $P<0.05$ ). The composition analysis in cecal microbiota of broilers in all 4 groups found that, at the phylum level, the dominant microbial phyla were mainly Firmicutes, Bacteroidetes and Tenericutes. Compared with the control group, the Firmicutes relative abundance in the antibiotic group and both trial groups was significantly increased ( $P<0.05$ ), and the Bacteroidetes relative abundance in the trial group I and trial group II was significantly decreased ( $P<0.05$ ). At the genus level, compared with the control group, the Bacteroides relative abundance in the antibiotic group and both trial groups was significantly reduced ( $P<0.05$ ), the *Faecalibacterium* relative abundance in the trial group I and trial group II was significantly increased ( $P<0.05$ ), and the Ruminococcaceae\_UCG-014 relative abundance in the trial group II was significantly increased ( $P<0.05$ ). It is concluded that enzymatically treated *Artemisia annua* has the potential of antibiotic substitutes in broiler diets. The addition of enzymatically treated *Artemisia annua* to the diet alone has a tendency to improve the performance of broilers. Enzymatically treated *Artemisia annua* combined with *Bacillus licheniformis* can improve the growth performance of broilers by improving the structure of cecal microbiota, increasing the richness and diversity of intestinal microbiota, and increasing the relative abundance ratio of Firmicutes to Bacteroides. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(7)]

**Key words:** enzymatically treated *Artemisia annua*; *Bacillus licheniformis*; broilers; growth performance; intestinal microbiota

\* Corresponding author, professor, E-mail: lsy9617@aliyun.com