

Research Article

Vol. 18, No.2 2026, p. 255-267



Effects of Different Levels of Ethanolic Propolis Extract and Multi-Strain Probiotic on Performance, Immune Response, Gut Microflora, and Antioxidant Status in Broiler Chickens

Ali Asghar Nikoukar¹, Ehsan Salehifar^{ID 1*}, Saeid Sobhanirad^{ID 1}

1- Department of Agricultural Science, Ma. C., Islamic Azad University, Mashhad, Iran

*Corresponding Author's Email: E.salehifar@iau.ac.ir**How to cite this article:**

Received: 17-08-2025
Revised: 16-11-2025
Accepted: 26-11-2025
Available Online: 22-06-2026

Nikoukar, A. A., Salehifar, E., & Sobhanirad, S. (2026). Effects of different levels of ethanolic propolis extract and multi-strain probiotic on performance, immune response, gut microflora, and antioxidant status in broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 18(2), 255-267. (In Persian).
<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94890.1266>

Introduction: The increasing global demand for antibiotic-free poultry products has accelerated research into natural alternatives that can enhance growth performance, health, and welfare of broiler chickens. Among these alternatives, propolis a resinous substance produced by honeybees is rich in bioactive compounds such as flavonoids, phenolic acids, and aromatic esters, which exhibit antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties. Probiotics are also widely used for their beneficial effects on gut microbiota modulation, nutrient absorption, and immune function. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of different dietary levels of ethanolic propolis extract (300, 600, and 900 mg/kg), compared with a commercial probiotic, on growth performance, humoral immune response, cecal microbial populations, and antioxidant status in broiler chickens under standard rearing conditions.

Materials and Methods: A total of 240 one-day-old Cobb 500 broiler chicks were allocated to five dietary treatments, with four replicates per treatment and 15 birds per replicate. The experimental treatments consisted of: (1) a control diet without additives; (2) the control diet supplemented with 300 mg/kg ethanolic propolis extract; (3) the control diet supplemented with 600 mg/kg ethanolic propolis extract; (4) the control diet supplemented with 900 mg/kg ethanolic propolis extract; and (5) the control diet supplemented with a commercial probiotic. Birds were reared for 42 days with ad libitum access to feed and water. The experimental diets were formulated to meet nutrient requirements according to the Ross 500 guidelines. Growth performance parameters, including daily weight gain (DWG), feed intake (FI), and feed conversion ratio (FCR), were recorded during starter, grower, finisher, and overall periods. At the end of the experiment, cecal contents were aseptically collected to enumerate *Lactobacillus* spp. and *Escherichia coli* using selective culture media. Blood samples were collected from the wing vein to determine serum immunoglobulin G (IgG) and total immunoglobulin (Total Ig) concentrations using a hemagglutination assay. Antioxidant status was evaluated by measuring serum activities of glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD), as well as malondialdehyde (MDA) concentration, a marker of lipid peroxidation and oxidative stress. Data were analyzed by ANOVA, and treatment means were compared using the appropriate post hoc



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License ([CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/))

 <https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94890.1266>

test when significant differences were detected. Statistical significance was declared at $P < 0.05$.

Results and Discussion: Dietary supplementation improved overall daily weight gain compared with the control group, with the highest DWG observed in birds receiving 900 mg/kg propolis ($P < 0.05$). Across production phases, the 900 mg/kg dose increased FI during the grower and finisher periods ($P \leq 0.005$), consistent with enhanced appetite and/or palatability. Despite higher feed intake at the highest inclusion level, the overall feed conversion ratio (FCR) decreased in the supplemented groups ($P = 0.002$), indicating improved feed efficiency at the flock level. These findings suggest that propolis and the probiotic can support growth by enhancing digestive and absorptive functions, although dose–response patterns may diverge between growth stimulation (pronounced at 900 mg/kg) and feed efficiency (often optimized at moderate inclusion). Both propolis and probiotic treatments increased *Lactobacillus* counts and decreased *Escherichia coli* ($P < 0.05$). The dual pattern expansion of beneficial lactic acid bacteria alongside suppression of *E. coli* supports the concept that these additives can stabilize gut ecology in favor of commensal populations. Such modulation is mechanistically compatible with the observed performance benefits, given the recognized roles of *Lactobacillus* in competitive exclusion, pH reduction via organic acid production, and enhancement of epithelial barrier function. Propolis supplementation decreased MDA ($P < 0.05$; reported $P = 0.02$), consistent with lower lipid peroxidation. In parallel, activities of GPx and SOD increased in the supplemented groups ($P < 0.05$; GPx $P = 0.04$; SOD $P = 0.002$), pointing to strengthened endogenous antioxidant defenses. This biochemical profile plausibly contributes to improved nutrient utilization and growth by mitigating oxidative stress in rapidly growing broilers. No significant differences were detected among treatments for IgG or total immunoglobulins ($P > 0.05$). While null effects on these humoral markers were observed under the present conditions, the performance and antioxidant advantages indicate that propolis and probiotics may act primarily through gut and metabolic pathways rather than by amplifying systemic antibody titers in non-challenged birds. Collectively, the integrated outcomes (performance, microbiota, and antioxidant indices) point to complementary mechanisms microbiota modulation and redox homeostasis as proximate drivers of the observed benefits.

Conclusions: Dietary supplementation with ethanolic propolis extract and a multi-strain probiotic improved several key outcomes in broiler chickens. Overall, daily weight gain increased with supplementation, with the 900 mg/kg propolis level yielding the highest growth, while the feed conversion ratio over the entire experimental period decreased in the supplemented groups. Cecal *Lactobacillus* counts increased, whereas *Escherichia coli* populations decreased ($P < 0.05$), indicating a healthier intestinal microbial balance. Antioxidant capacity improved, as evidenced by decreased malondialdehyde (MDA) concentrations and increased activities of glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD). Humoral immune indices (including serum IgG and total immunoglobulin levels, were not significantly affected. These findings position propolis and probiotics as practical, natural additives to support growth performance, gut health, and oxidative resilience. Further work should delineate dose optimization and the molecular pathways underlying redox and microbiome shifts, and assess long-term impacts under diverse rearing conditions or pathogenic challenges.

Keywords: Antioxidant enzyme, Cecal microbiota, Feed additive, Humoral immunity, Oxidative stress

اثرات سطوح مختلف عصاره اتانولی برهموم و پروبیوتیک بر عملکرد، پاسخ ایمنی، میکروفلور روده و وضعیت آنتی اکسیدانی جوجه های گوشتی

علی اصغر نیکوکار^۱، احسان صالحی فر^{۱*}، سعید سبحانی راد^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۵

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی اثرات سطوح مختلف عصاره اتانولی برهموم (۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم جیره) و پروبیوتیک بر عملکرد، رشد، پاسخ ایمنی همورال، میکروفلور سکوم و وضعیت آنتی اکسیدانی جوجه های گوشتی بود. این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج گروه تیمار شامل گروه شاهد، سه تیمار با سطوح مختلف عصاره برهموم و یک تیمار پروبیوتیک در چهار تکرار و در هر تکرار ۱۵ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ اجرا گردید. یافته ها نشان داد که افزایش وزن روزانه کل در تیمارهای مکمل نسبت به شاهد بهبود یافت و در دز ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشترین مقدار مشاهده شد ($P < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی خوراک کل نیز در گروه های مکمل کاهش یافت ($P = 0.002$). در حالی که تفاوت مصرف خوراک کل بین تیمارها معنی دار نبود ($P = 0.325$)، اما در دوره های رشد و پایداری، مصرف خوراک در تیمارهای حاوی عصاره برهموم (به ویژه در سطح ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0.005$). همچنین تیمارهای برهموم و پروبیوتیک تأثیر معنی داری بر افزایش جمعیت باکتری های مفید *Lactobacillus* و کاهش جمعیت باکتری های *E. coli* در سکوم داشتند ($P < 0.05$). ارزیابی وضعیت آنتی اکسیدانی نشان داد که فعالیت آنزیم های گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گروه های تیمار افزایش و سطح مالون دی آلدئید به طور معنی داری کاهش یافته است ($P < 0.05$). با این حال، تفاوت معنی داری در سطوح ایمونوگلوبولین G و ایمونوگلوبولین کل (IgM+IgG) مشاهده نگردید ($P > 0.05$). نتایج حاصل حاکی از آن است که عصاره اتانولی برهموم و پروبیوتیک می توانند به عنوان مکمل های طبیعی مؤثر در بهبود سلامت میکروبی روده، تقویت وضعیت آنتی اکسیدانی و افزایش عملکرد تولیدی جوجه های گوشتی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: آنزیم های آنتی اکسیدان، استرس اکسیداتیو، افزودنی خوراکی، ایمنی همورال، میکروفلور سکوم

مقدمه

اسیدهای آلی است که خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد باکتریایی قابل توجهی دارد (Bankova et al., 2020). این ویژگی ها سبب شده اند که برهموم به عنوان یک افزودنی بالقوه در جیره طیور مطرح شود که می تواند عملکرد رشد، وضعیت آنتی اکسیدانی، سلامت سیستم ایمنی و تعادل میکروفلور روده را بهبود بخشد (Khodakaramian et al., 2019; Attia et al., 2014; Kocot et al., 2018; Silva et al., 2019; Giacomelli et al., 2022). مطالعات نشان داده اند که افزودن برهموم یا عصاره الکلی آن می تواند با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPx)، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن را تقویت کند و تنش اکسیداتیو را در بافت های مانند کبد و مخاط روده کاهش دهد (Jusril, 2024; Nazari-Bonab et

با افزایش نگرانی ها در مورد مصرف آنتی بیوتیک ها در تغذیه طیور و اثرات منفی احتمالی آن ها بر سلامت انسان و محیط زیست، استفاده از افزودنی های طبیعی و جایگزین های ایمن مانند ترکیبات گیاهی و میکروبی سودمند، به طور گسترده ای مطالعه شده است (Windisch et al., 2008). برهموم، محصول طبیعی تولید شده توسط زنبور عسل، حاوی ترکیبات زیست فعال متنوعی از جمله فلاونوئیدها، فنول ها و

۱- گروه مهندسی کشاورزی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
(*) نویسنده مسئول: (Email: E.salehifar@iau.ac.ir)
<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94890.1266>

مواد و روش‌ها

طرح آزمایش و تیمارها

این آزمایش به منظور بررسی اثر سطوح مختلف عصاره الکلی بره‌موم و پروبیوتیک بر عملکرد، سیستم ایمنی هومورال، میکروفلور روده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی انجام شد. طرح آزمایشی به صورت کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار و در هر تکرار ۱۵ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ بود. تیمارها شامل ۱- شاهد (بدون افزودنی)، ۲- افزودن ۳۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره‌موم به ازای هر کیلوگرم جیره، ۳- افزودن ۶۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره‌موم به ازای هر کیلوگرم جیره، ۴- افزودن ۹۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره‌موم به ازای هر کیلوگرم جیره و ۵- افزودن پروبیوتیک (پروبیوتیک هایپو-تک حاوی *Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and) با غلظت 1×10^9 CFU/g و میزان مصرف ۱ گرم بر کیلوگرم جیره.

بره‌موم به صورت خام از زنبورداری محلی جمع‌آوری شد. عصاره الکلی با استفاده از روش ماسراسیون انجام گردید. ابتدا بره‌موم خشک شده به صورت پودر درآمد و سپس با نسبت ۱:۱۰ (وزن به حجم) در الکل اتانول ۷۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. پس از گذشت زمان، محلول توسط فیلتر قیفی (فیلتر کاغذی Whatman شماره ۱) صاف شد و سپس در دستگاه چرخشی تبخیرکننده (Rotary Evaporator) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید تا عصاره خام به دست آید (Bankova, 2005).

جیره مورد استفاده (جدول ۱) براساس جداول تغذیه‌ای کاتالوگ پرورشی و مطابق با نیازهای جوجه‌های گوشتی راس ۳۰۸ فراهم شد (ROSS, 2008). ترکیبات و محتوای مواد مغذی جیره به گونه‌ای تنظیم گردید که انرژی متابولیک، پروتئین خام و سایر مواد مغذی مورد نیاز جوجه‌ها در تمامی تیمارها برابر باشد. به منظور یکنواخت سازی افزودنی‌ها در جیره، عصاره الکلی بره‌موم و پروبیوتیک ابتدا با مقدار کمی پودر ذرت به عنوان حامل مخلوط و سپس در هم‌زن مکانیکی با کل خوراک ترکیب شدند (Denli et al., 2005).

جوجه‌ها از سن یک روزگی در سالن پرورش در سالن کنترل شده با دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد پرورش یافتند که هر هفته دما به تدریج کاهش یافت تا به دمای نهایی ۲۴ درجه سانتی‌گراد رسید. دوره آزمایش ۴۲ روز بود و دسترسی به آب و خوراک به صورت آزاد فراهم گردید. وزن بدن جوجه‌ها در ابتدا و انتهای هر دوره اندازه‌گیری شد. مصرف خوراک به صورت روزانه ثبت گردید و ضریب تبدیل غذایی به صورت نسبت مصرف خوراک به افزایش وزن محاسبه شد. در پایان دوره آزمایش، نمونه‌هایی از محتویات سکوم از چهار جوجه در هر تکرار گرفته شد.

(al., 2024). همچنین کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در برخی پژوهش‌ها گزارش شده است، هرچند این اثرات وابسته به دوز، منبع و روش استخراج بره‌موم هستند (Nazari-Bonab et al., 2024). از نظر میکروبیولوژیک، بره‌موم می‌تواند اثرات ضد میکروبی انتخابی داشته باشد و با مهار باکتری‌های بیماری‌زا مانند *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* و *Clostridium perfringens*، به حفظ یا افزایش جمعیت باکتری‌های مفید نظیر *Lactobacillus spp.* کمک کند. این تغییرات احتمالاً ناشی از تخریب مستقیم غشای سلولی باکتری‌ها، مهار تشکیل بیوفیلم و اثرات ایمنومدولاتوری غیرمستقیم ناشی از متابولیت‌های فنولی است (Freires et al., 2016).

در کنار افزودنی‌های گیاهی، پروبیوتیک‌ها نیز به عنوان جایگزین‌های مؤثر آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد مورد توجه ویژه قرار دارند. پروبیوتیک‌ها شامل ریزجانداران زنده‌ای هستند که با بهبود تعادل میکروبی روده، تقویت پاسخ ایمنی و افزایش قابلیت هضم مواد مغذی، می‌توانند به بهبود عملکرد و سلامت طیور کمک کنند (Patterson & Burkholder, 2003; Alkhalf et al., 2010). ریزجاندارانی مانند *Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici* و *Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus bulgaricus* به دلیل توانایی در تولید اسیدهای آلی، رقابت برای جایگاه‌های اتصال در روده و تحریک ایمنی موضعی و سیستمیک، در مطالعات تغذیه طیور به طور گسترده استفاده شده‌اند (Gaggia et al., 2010).

با وجود شواهد مثبت، یافته‌های مربوط به اثرات بره‌موم و پروبیوتیک بر شاخص‌های عملکردی و ایمنی طیور همچنان متناقض است که این موضوع احتمالاً ناشی از تفاوت در نوع و منبع بره‌موم، روش استخراج، سطح مصرف، نوع پروبیوتیک و شرایط پرورشی است. برخی مطالعات نشان داده‌اند که مقادیر نسبتاً پایین تا متوسط بره‌موم مثل ۲۵۶-۲۶۲ میلی گرم بر کیلوگرم به بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک منجر می‌شوند، درحالی‌که تأثیر سطح بالاتر، محدود یا بی‌اثر بوده است (Sadarman et al., 2021). در مرغ‌های تخم‌گذار، با مصرف ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، بهبودهایی در تولید تخم و پارامترهای خونی دیده شد (Abdel-Kareem, 2017). همچنین در سطح متوسط ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بره‌موم، تأثیرات مثبت بر عملکرد کلی، ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است (Dosoky et al., 2022). با توجه به ناهمگونی نتایج، پژوهشی که در آن چندین سطح عصاره الکلی بره‌موم با یک پروبیوتیک تجاری مقایسه شود، ضروری به نظر می‌رسد.

جدول ۱ - مواد تشکیل دهنده و ترکیب جیره‌های آزمایشی (درصد ماده خشک)

Table 1- Ingredients and composition of experimental diets (% as DM)

مواد خوراکی Feed ingredient	آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (1-10 days)	رشد (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (11-24 days)	پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (25-42 days)
ذرت Corn	55.0	60.0	65.0
کنجاله سویا Soybean meal	38.0	33.0	28.0
روغن گیاهی Vegetable oil	3.5	4.0	4.5
کلسیم کربنات Calcium carbonate	1.2	1.0	0.9
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.0	0.9	0.8
مکمل ویتامینه و معدنی Vitamin and mineral premix	1.0	1.0	1.0
نمک Salt	0.3	0.3	0.3
ترکیب شیمیایی Chemical composition			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)	3000	3100	3200
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	22.5	20.0	18.0
کلسیم (درصد) Calcium (%)	1.0	0.9	0.8
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus (%)	0.45	0.40	0.35
متیونین + سیستئین (درصد) Methionine + cysteine (%)	0.90	0.80	0.75
لیزین (درصد) Lysine (%)	1.35	1.15	1.00

ده گرم پرمیکس حاوی ۲۴/۰ میلی گرم ویتامین A (۵۰۰،۰۰۰ واحد بین المللی در گرم)، ۶/۰ میلی گرم ویتامین D3 (۱۰۰،۰۰۰ واحد بین المللی در گرم)، ۶۰/۰ میلی گرم ویتامین E (۵۰۰ واحد بین المللی در گرم)، ۶/۶ میلی گرم ویتامین K3 (خالص ۲۲/۷٪)، ۱۰۰،۰ میلی گرم ویتامین B12 (خالص ۱/۰٪)، ۲۰۰۰،۰ میلی گرم بیوتین (خالص ۰/۰۱٪)، ۱۱۰۰،۰ میلی گرم کولین کلرید (خالص ۵۰٪)، ۱/۱ میلی گرم فولیک اسید (خالص ۹۰٪)، ۶۵/۲ میلی گرم نیکوتینیک اسید (خالص ۱۰۰٪)، ۱۶/۳ میلی گرم دی پانتوتنات (خالص ۹۲٪)، ۴/۵ میلی گرم ویتامین B6 (خالص ۱۰۰٪)، ۱۲/۵ میلی گرم ریبوفلاوین (خالص ۸۰٪)، ۲/۵ میلی گرم ویتامین B1 (خالص ۱۰۰٪)، ۳۲/۰۰ میلی گرم کات کبود (CuSO₄·5H₂O)، ۳۳۳،۲۰ میلی گرم فروس سولفات (FeSO₄·H₂O)، ۱۶۶/۸ میلی گرم منگنز اکسید (MnO)، ۱۰ میلی گرم سدیم سولنیت (Na₂SeO₃·5H₂O)، ۲۲۰/۰۰ میلی گرم زینک سولفات (ZnSO₄·H₂O)، ۴/۸۰ میلی گرم کبالت سولفات (CoSO₄·7H₂O)، ۰/۵۶ میلی گرم پتاسیم یدید (KI)، ۱۰۰/۰۰ میلی گرم اتوکسیکین (یک آنتیاکسیدان) و ۵۷۴۲/۹۴ میلی گرم آرد ذرت به عنوان حامل بود.

Ten grams of premix contains 0.24 mg of vitamin A (500,000 IU per gram), 0.6 mg of vitamin D3 (100,000 IU per gram), 0.60 mg of vitamin E (500 IU per gram), 6.6 mg of vitamin K3 (pure 22.7%), 100.0 mg of vitamin B12 (pure 0.1%), 2000.0 mg of biotin (pure 0.01%), 1100.0 mg of choline chloride (pure 50%), 1.1 mg of folic acid (pure 90%), 2.65 mg of nicotinic acid (pure 100%), 3.16 mg of dipantothenate (pure 92%), 4.5 mg of vitamin B6 (pure 100%), 5.12 mg of riboflavin (pure 80%), 2.5 mg of vitamin B1 (100% pure), 32.00 mg of copper sulfate (CuSO₄·5H₂O), 333.20 mg of ferrous sulfate (FeSO₄·H₂O), 166.8 mg of manganese oxide (MnO), 0.1 mg of sodium selenite (Na₂SeO₃·5H₂O), 220.00 mg of zinc sulfate (ZnSO₄·H₂O), 4.80 mg of cobalt sulfate (CoSO₄·7H₂O), 0.56 mg of potassium iodide (KI), 100.00 mg of ethoxyquin (an antioxidant), and 5742.94 mg of corn flour as a carrier.

دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند (Jin et al., 1997). فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و میزان مالون دی آلدئید به عنوان شاخص های تنش اکسیداتیو در تعداد دو نمونه خون از ورید بال جوجه های هر تکرار در ۴۲ روزگی اندازه گیری شدند (Ohkawa, 1979, Aebi, 1984). آنالیزهای خون با استفاده از

نمونه ها تحت شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل گردید. تعداد کل باکتری های لاکتوباسیل با استفاده از محیط MRS آگار و شمارش کل فرم های /شرشیاکلی با محیط MacConkey آگار براساس روش رقیق سازی متوالی و شمارش کلونی انجام شد و نتایج به صورت CFU/g گزارش گردید. محیط ها به مدت ۴۸ ساعت در

مرتبط باشد. همچنین مطابق گزارش‌های پیشین، این تغییرات می‌توانند با نقش ترکیبات زیست‌فعال برهموم و پروبیوتیک‌ها در بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تعدیل میکروبیوتای روده مرتبط باشند (Patterson & Burkholder, 2003; Marquez Aguirre et al., 2018; Ghisalberti, 2016; Freires et al., 2003). در مجموع، مکمل‌های برهموم و پروبیوتیک موجب بهبود بازده مصرف خوراک در کل دوره شدند ($P=0.002$)، هرچند در دوره‌های آغازین و رشد، تیمار ۹۰۰ میلی گرم برهموم، ضریب تبدیل غذایی بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشت ($P<0.05$). نوسان مشاهده‌شده در ضریب تبدیل غذایی احتمالاً به تفاوت در کارایی استفاده از مواد مغذی و تغییرات جمعیت میکروبی روده در سطوح مختلف برهموم مرتبط است؛ زیرا ترکیبات فنولی برهموم می‌توانند بر فعالیت آنزیمی، سلامت روده و تعادل باکتریایی اثر گذاشته و در نتیجه منجر به تغییر در FCR شوند (Tekeli et al., 2011).

برهموم، مجموعه‌ای پیچیده از پلی فنول‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فرار دارد که به‌صورت انتخابی بر ریزجانداران روده اثر می‌گذارد و می‌تواند با مهار بیمارگرها و حمایت از باکتری‌های سودمند، تعادل اکوسیستم روده را بازتنظیم کنند (Bankova, 2005; Bankova et al., 2020; Freires et al., 2016). از سوی دیگر، پروبیوتیک‌ها با رقابت برای جایگاه‌های اتصال، تولید اسیدهای آلی و باکتریوسین‌ها و کاهش PH روده به حذف رقابتی *E.coli* کمک می‌کنند و هضم‌پذیری را بالا می‌برند (Fuller, 1989; Patterson & Burkholder, 2003). کاهش مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز با مصرف برهموم بسیار گزارش شده و این تغییرات می‌توانند بهبود کارایی متابولیک و به تبع آن افزایش رشد را توجیه می‌کند (Koc et al., 2020). همچنین متاآنالیزها تأیید می‌کنند که پاسخ به برهموم و افزودنی‌های گیاهی به دوز، منشأ شیمیایی و شرایط محیطی وابسته است (Saeed et al., 2021). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که مصرف دوز بالاتر برهموم (۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، بیشترین افزایش وزن را در جوجه‌های گوشتی ایجاد می‌کند؛ درحالی‌که دوزهای پایین‌تر برهموم و تیمار پروبیوتیک با ایجاد بهبود نسبی در ضریب تبدیل خوراک، تعادل مناسب‌تری میان رشد و کارایی مصرف خوراک فراهم کردند (Denli et al., 2005; Seven et al., 2008; Mountzouris et al., 2010). بنابراین، اگر هدف راهبرد تغذیه‌ای حداکثرسازی رشد باشد، تیمار ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره برهموم انتخاب مناسبی است؛ اما اگر بهینه‌سازی ضریب تبدیل خوراک در طول دوره باشد، تیمارهای حاوی ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره برهموم و پروبیوتیک گزینه‌های بهتری هستند. ترکیب پروبیوتیک‌ها با این تیمارها نیز از نظر هم‌افزایی احتمالی ارزش آزمون دارد (Khalifa et al., 2022).

کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون (PARS AZMOON، ایران) و مطابق دستورالعمل‌های کارخانه انجام گرفت. برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال، به دو پرنده از هر تکرار تزریق گلبول‌های قرمز شسته‌شده گوسفند (SRBC) انجام شد. در روز ۱۹ پرورش، به هر جوجه ۰/۵ سی‌سی از محلول پنج درصد SRBC به‌صورت زیرجلدی تزریق گردید. یک هفته بعد (روز ۲۶)، تزریق مرحله دوم (یادآور) به همان روش انجام شد. نمونه‌گیری خون در روزهای ۲۶ و ۳۳ از ورید بال بال انجام گردید و تیتراژ آنتی‌بادی‌ها با استفاده از روش هم‌گلوتیناسیون (HA) تعیین گردید (Wegmann & Smithies, 1966). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ تحلیل شدند. آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام گرفت و در صورت وجود تفاوت معنی‌دار، مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی تیمارهای مختلف بر شاخص‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میانگین مصرف خوراک در کل دوره بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ($P=0.325$)، اما در دوره‌های آغازین مصرف خوراک در تیمار حاوی ۹۰۰ میلی گرم برهموم نسبت به شاهد، در دوره رشد در تیمارهای ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم برهموم و در دوره پایانی در تیمارهای پروبیوتیک و ۹۰۰ میلی گرم برهموم افزایش معنی‌دار داشتند ($P<0.05$). بیشترین خوراک مصرفی روزانه در تمام دوره‌ها مربوط به تیمار ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره برهموم بود. افزایش مصرف خوراک در این تیمار ممکن است به نقش ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برهموم در بهبود تعادل میکروبی روده، کاهش ترکیبات ضدتغذیه‌ای و میکروبی مضر و تقویت کارایی هضم و جذب مواد مغذی مرتبط باشد (Bankova, 2005; Bankova et al., 2020). با وجود آنکه افزایش خوراک مصرفی در دوره‌های آغازین و رشد منجر به بهبود معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی نشد، اما در کل دوره، تیمارهای حاوی مکمل، عملکرد بهتری نسبت به گروه شاهد نشان دادند. بالاترین افزایش وزن روزانه در کل دوره مربوط به تیمار ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم برهموم بود که به‌صورت معنی‌داری بیشتر از شاهد بود ($P=0.001$). در دوره پایانی، تیمار ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم برهموم و پروبیوتیک افزایش وزن بالاتری نسبت به شاهد نشان دادند ($P=0.038$)، درحالی‌که در دوره‌های آغازین و رشد، در صفت افزایش وزن روزانه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

براساس نتایج این پژوهش، بهبود افزایش وزن روزانه در تیمارهای مکمل می‌تواند به افزایش لاکتوباسیلوس، کاهش شرشیاکلی، ارتقای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کاهش مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز

Table 2- Effect of experimental treatments on broiler performance

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p<0.05$).

میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشتق دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p < 0.05$)

Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

1 Daily Weight Gain

2. Feed Intake

33 Feed Conversion Ratio، غذاء، ضريب تحويل

نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان داد که تیمارهای حاوی عصاره بره‌موم ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و تیمار پروبیوتیک موجب تغییرات معنی دار جمعیت میکروبی سکوم شدند. این تغییرات شامل افزایش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس و کاهش جمعیت /شریشیالکی در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه شاهد بود. همچنین افزایش لاکتوباسیلوس در پاسخ به مصرف بره‌موم و پروبیوتیک با نتایج مطالعات پیشین همسو است؛ مطالعاتی که نشان داده‌اند افزودنی‌های طبیعی می‌توانند رشد باکتری‌های مفید روده را تقویت کنند (Seven et al., 2008; Mountzouris et al., 2007; Patterson & Burkholder, 2003). لاکتوباسیلوس‌ها به عنوان پروبیوتیک‌های شناخته شده، با تولید اسیدهای آلی، رقابت با باکتری های بیماری‌زا و تحریک سیستم ایمنی میزبان، نقش مهمی در حفظ سلامت روده دارند (Gaggia et al., 2010). بره‌موم، ماده‌ای رزینی تولید شده توسط زنبورها، شامل پلی فنول‌ها و فلاونوئیدهایی است که خواص ضدباکتریایی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا داشته و رشد باکتری‌های مفید را تقویت می‌کند (Sforzin, 2016). کاهش جمعیت /شریشیالکی در تیمارهای مکمل شده می‌تواند با چند سازوکار توضیح داده شود. اولاً، لاکتوباسیلوس‌ها می‌توانند با /شریشیالکی برای منابع غذایی و جایگاه‌های اتصال در مخاط روده رقابت کنند و رشد آن‌ها را محدود سازند (Fuller, 1989). ثانیاً، بره‌موم و باکتری‌های پروبیوتیک قادر به تولید متابولیت‌های ضدباکتری مانند باکتریوسین‌ها و اسیدهای آلی (مانند اسیدلاکتیک) هستند که باعث کاهش pH روده شده و محیط نامناسبی برای باکتری‌های بیماری‌زا مانند /شریشیالکی ایجاد می‌کنند (Kleerebezem & Vaughan, 2009).

علاوه بر این، گزارش شده است که بره‌موم می‌تواند سیستم ایمنی میزبان را تقویت کرده و در نتیجه توانایی مقابله با عفونت‌ها را افزایش دهد (Ghisalberti, 2018). در بین سطوح مختلف بره‌موم، بیشترین کاهش جمعیت *E. coli* در سطح ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد که نشان‌دهنده یک الگوی پاسخ غیردوزی است. به نظر می‌رسد که سطح متوسط بره‌موم به دلیل وجود غلظت بهینه ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، بیشترین اثر ضدباکتریایی را دارد؛ درحالی‌که دوزهای پایین‌تر ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم احتمالاً غلظت کافی از ترکیبات فعال را فراهم نمی‌کنند و دوزهای بالاتر ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ممکن است به دلیل اشباع جذب یا ایجاد تنش خفیف در محیط روده، اثر کمتری نسبت به دوز متوسط از خود نشان دهند. این الگوی غیردوزی پیش‌تر نیز در پاسخ‌های میکروبی و فیزیولوژیک به پلی فنول‌ها گزارش شده است (Seven et al., 2008; Freires et al., 2016).

یافته‌های حاضر، نقش مکمل‌های طبیعی را به عنوان جایگزین‌های مؤثر برای آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه طیور تأیید می‌کند. این افزودنی‌ها با بهبود تعادل میکروبی روده، می‌توانند جذب مواد مغذی، عملکرد سیستم ایمنی و در نهایت عملکرد کلی طیور را بهبود بخشند (Patterson & Burkholder, 2003). در مجموع، مکمل‌های بره‌موم و پروبیوتیک باعث افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس‌های مفید و کاهش باکتری‌های مضر /شریشیالکی در سکوم جوجه‌های گوشتی شدند که این امر پتانسیل استفاده از آن‌ها را در بهبود سلامت روده و کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تولیدات طیور نشان می‌دهد.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی سکوم در جوجه‌های گوشتی (log CFU/g)

Table 3- Effects of experimental treatments on cecal microbial population in broiler chickens (log CFU/g)

تیمار Treatment	تعداد باکتری <i>E. coli</i> Total <i>E. coli</i> Bacteria	تعداد باکتری <i>Lactobacillus</i> Total <i>Lactobacillus</i> Bacteria
CON	5.387b	9.232b
PRO300	6.007a	10.230a
PRO600	4.917c	9.400b
PRO900	6.037a	9.357b
PB	4.807c	10.235a
ارزش P P-value	0.004	0.013
خطای استاندارد میانگین SEM	0.145	0.194

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($p < 0.05$).

CON: شاهد، PRO300: افزودن ۳۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره‌موم به‌ازای هر کیلوگرم جیره، PRO600: افزودن ۶۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره‌موم به‌ازای هر کیلوگرم جیره، PRO900: افزودن ۹۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره‌موم به‌ازای هر کیلوگرم جیره، PB: افزودن پروبیوتیک

Control+300: Control, PRO300: Means within the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$) CON

Control+ probiotic: Control+900 mg/kg propolis, PB: Control+600 mg/kg propolis, PRO900: mg/kg propolis, PRO600

جدول ۴: تأثیر تیمارهای مختلف شامل افزودن برهموم در سه دُز (۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و پروبیوتیک بر شاخص‌های وضعیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی را نشان می‌دهد. پارامترهای مورد بررسی شامل میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان نشانگر تنش اکسیداتیو و آسیب‌های ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها، فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی در بدن بوده است. نتایج نشان داد که در گروه‌های دریافت‌کننده برهموم، سطح مالون‌دی‌آلدئید به‌صورت وابسته به دوز کاهش یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین کاهش در دوز ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و کمترین کاهش در دوز ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. این الگوی پاسخ خطی به دوز (linear dose-response) حاکی از آن است که افزایش غلظت ترکیبات فنولی برهموم می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب اکسیداتیو را تقویت کند ($P < 0.05$). در مقابل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در این گروه‌ها به‌طور معناداری افزایش یافته است ($p < 0.05$) که بیانگر تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن می‌باشد. این تغییرات نشان می‌دهد که برهموم با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قادر است تنش اکسیداتیو را کاهش دهد. گروه پروبیوتیک (تیمار ۵) نیز به‌طور نسبی کاهش مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز را نشان داد، اما در مورد سوپراکسید دیسموتاز افزایش معنادار مشاهده نشد و این ممکن است نشان‌دهنده تفاوت اثرگذاری این دو نوع مکمل در مسیرهای آنتی‌

اکسیدانی باشد. سازوکار اثر برهموم در کاهش تنش اکسیداتیو عمدتاً ناشی از وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن است که خاصیت رادیکال‌زدایی قوی دارند و می‌توانند رادیکال‌های آزاد را خنثی کنند (Sforcin, 2016). الگوی تغییرات مالون‌دی‌آلدئید در پاسخ به سطوح مختلف برهموم یک پاسخ غیردوژی را نشان داد. به‌طوری‌که در سطح ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری مشاهده شد، در سطح ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم این کاهش بیشتر شد، اما در سطح ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم برخلاف انتظار، کاهش مالون‌دی‌آلدئید نسبت به PRO600 بیشتر نبود و روند به‌صورت plateau باقی ماند. این الگو نشان می‌دهد که اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی برهموم پس از رسیدن به سطح بهینه، دچار اشباع می‌شوند. الگوهای مشابهی برای ترکیبات پلی‌فنولی در مطالعات پیشین نیز گزارش شده است (Seven et al., 2008; Freires et al., 2016).

همچنین برهموم موجب تحریک بیان و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آندوژن مانند گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌شود که نقش کلیدی در محافظت سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو دارند (Gutiérrez-Grijalva et al., 2016). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان اولین خط دفاع در مقابل رادیکال‌های ابر اکسیژن اهمیت دارد و آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز نقش حیاتی در تبدیل پراکسیدهای هیدروژن به آب ایفا می‌کند. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها به‌معنای ارتقای توان مقابله بدن با تنش‌های اکسیداتیو است (Halliwell & Gutteridge, 2015).

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی در جوجه‌های گوشتی

Table 4- Effect of experimental treatments on antioxidant status in broiler chickens

تیمار Treatment	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر میلی لیتر) SOD (U/mL) ¹	گلوکاتایون پراکسیداز (واحد بر میلی لیتر) GPx (U/mL) ²	مالون‌دی‌آلدئید (نانو مول بر میلی لیتر) MDA (nmol/mL) ³
CON	308.75a	154.00a	9.450a
PRO300	282.25b	164.25b	8.475b
PRO600	318.75a	166.75b	8.450b
PRO900	324.00a	175.75b	8.225b
PB	290.01b	155.00a	9.120a
ارزش P P-value	0.002	0.04	0.02
خطای استاندارد میانگین SEM	6.403	5.701	0.491

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p < 0.05$).

CON: شاهد، PRO300: افزودن ۳۰۰ میلی گرم عصاره الکلی برهموم به‌ازای هر کیلوگرم جیره، PRO600: افزودن ۶۰۰ میلی گرم عصاره الکلی برهموم به‌ازای هر کیلوگرم جیره، PRO900: افزودن ۹۰۰ میلی گرم عصاره الکلی برهموم به‌ازای هر کیلوگرم جیره، PB: افزودن پروبیوتیک

Means within the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$). CON: Control, PRO300: Control+300 mg/kg propolis, PRO600: Control+600 mg/kg propolis, PRO900: Control+900 mg/kg propolis, PB: Control+ probiotic

¹ Superoxide dismutase

² Glutathione peroxidase

³ malondialdehyde

فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در تیمارهای دریافت‌کننده بره‌موم ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت ($P = 0.04$)، که نشان‌دهنده تقویت سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی داخلی و بهبود ظرفیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌باشد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بره‌موم، ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بره‌موم و پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بره‌موم بود ($P = 0.002$)، با این حال، بین سطوح مختلف بره‌موم ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بیانگر بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی در جوجه‌ها است. این نتایج همسو با مطالعات پیشین است که نشان داده‌اند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در بره‌موم با تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز باعث کاهش تنش اکسیداتیو و آسیب سلولی می‌شوند (Bankova et al., 2020; Khodakaramian et al., 2019). عصاره بره‌موم حاوی ترکیبات زیستی متعددی مانند فلاونوئیدها، فنول‌ها و اسیدهای چرب است که قادرند با سازوکارهای مولکولی متنوعی بر سلامت و عملکرد جوجه‌های گوشتی تأثیرگذار باشند (Silva et al., 2021). این ترکیبات به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی عمل کرده و با مهار رادیکال‌های آزاد و کاهش تنش اکسیداتیو موجب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شوند. در مطالعه حاضر، کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز در گروه‌های تیمار شده با عصاره بره‌موم، همسو با یافته‌های مطالعات پیشین است که نشان می‌دهد عصاره بره‌موم می‌تواند از طریق افزایش بیان ژن‌های کدکننده این آنزیم‌ها، قابلیت مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو را ارتقا دهد (Koc et al., 2020; Barbosa et al., 2022).

جدول ۵: تأثیر تیمارهای مختلف شامل افزودن بره‌موم در سه دُز (۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و پروبیوتیک را بر پاسخ ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی نشان می‌دهد. شاخص‌های مورد بررسی شامل سطوح ایمونوگلوبولین (IgG) و ایمونوگلوبولین کل (Total Ig) بودند. نتایج نشان می‌دهند که در تمامی گروه‌های تیمار شده با بره‌موم و پروبیوتیک، سطوح IgG و Total Ig نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری نداشتند ($p > 0.05$). این یافته‌ها با برخی مطالعات قبلی که اثرات مثبت پروبیوتیک‌ها (از جمله پروبیوتیک‌های چندسویه حاوی *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* و *Pediococcus*) (Mountzouris et al., 2007) یا پروبیوتیک‌های مبتنی بر *Lactobacillus bulgaricus* بر پاسخ ایمنی همورال گزارش کرده‌اند، همخوانی ندارد. مطالعات اخیر

نشان داده‌اند که بره‌موم می‌تواند با تحریک سیستم ایمنی، تولید آنتی‌بادی‌ها را افزایش دهد. به‌عنوان نمونه، گزارش شده است که افزودن سه گرم بره‌موم به‌ازای هر کیلوگرم جیره در مرغ‌های تخم‌گذار موجب افزایش معنی‌دار IgM و IgG سرم می‌شود. باید توجه داشت که تفاوت در گونه پرنده (مرغ تخم‌گذار در مقابل جوجه گوشتی) و فاز فیزیولوژیک (دوره تولید تخم‌مرغ در مقابل رشد سریع) می‌تواند بر پاسخ ایمنی اثر بگذارد، به‌طوری‌که مرغ‌های تخم‌گذار معمولاً دارای سیستم ایمنی بالغ‌تر و الگوی پاسخ‌دهی متفاوتی نسبت به جوجه‌های گوشتی هستند. بنابراین، عدم مشاهده اثر مشابه در مطالعه حاضر می‌تواند ناشی از همین تفاوت‌های فیزیولوژیک و متابولیک باشد (Çetin et al., 2010). همچنین، در تحقیقی دیگر، جوجه‌های گوشتی تغذیه شده در سن ۲۲ تا ۴۲ روزگی یک گرم بر کیلوگرم بره‌موم باعث افزایش سطوح IgG و تقویت پاسخ ایمنی آنتی‌ژنی خاص شد (Al-Kahtani et al., 2022; Shaddel-Tili et al., 2017). در مورد پروبیوتیک‌ها، برخی مطالعات نشان داده‌اند که افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره می‌تواند پاسخ ایمنی همورال را تقویت کند. به‌عنوان مثال، در تحقیقی، جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با پروبیوتیک‌ها، افزایش سطوح IgG را نشان دادند که نشان‌دهنده تقویت پاسخ ایمنی سیستمیک به برخی آنتی‌ژن‌ها بود. نتایج مطالعه حاضر ممکن است به‌دلیل تفاوت‌های در طراحی آزمایش، دُزهای استفاده‌شده، مدت زمان تیمار، یا شرایط محیطی متفاوت نسبت به مطالعات قبلی باشد. همچنین گزارش شده است که اثرات بره‌موم و پروبیوتیک‌ها بر پاسخ ایمنی همورال ممکن است در شرایطی مانند وجود تنش‌های محیطی (مانند گرما)، چالش میکروبی، یا استفاده از دُزهای بالاتر مشهودتر باشد. در مطالعه حاضر، افزودن بره‌موم و پروبیوتیک‌ها به جیره جوجه‌های گوشتی، تحت شرایط پرورشی بدون تنش و در دُزهای مورد آزمون، تأثیر معناداری بر سطوح ایمونوگلوبولین‌های سرم نداشت.

عدم مشاهده تغییر معنی‌دار در تیتراژ آنتی‌بادی‌ها نشان می‌دهد که مصرف عصاره بره‌موم در سطوح مورد بررسی نتوانسته است که پاسخ ایمنی همورال جوجه‌ها را به‌طور قابل توجهی افزایش دهد. این نتایج با برخی مطالعات مشابه مطابقت دارد که اثرات بره‌موم بر سیستم ایمنی پرندگان را محدود یا وابسته به دوز و زمان مصرف می‌دانند (Santos et al., 2020; El-Sayed et al., 2013). علی‌رغم فقدان تأثیر معنی‌دار بر شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده، ترکیبات فعال موجود در بره‌موم مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی ممکن است اثرات مفیدی بر سایر بخش‌های سیستم ایمنی یا تحت شرایط تنش‌زا داشته باشند که نیازمند بررسی‌های بیشتر است.

(Khodakaramian et al., 2019). این نتایج نیازمند بررسی‌های بیشتر با طراحی‌های آزمایشی متفاوت و در شرایط متنوع برای درک بهتر اثرات این افزودنی‌ها بر سیستم ایمنی طیور می‌باشد.

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی

Table 5- Effect of experimental treatments on humoral immune response in broiler chickens

تیمار Treatment	ایمنوگلوبولین کل Total Ig (log2)		ایمنوگلوبولین G IgG (log2)	
	Day 26	Day 33	Day 26	Day 33
CON	7.250	9.250	4.500	7.750
PRO300	5.750	7.750	3.750	6.000
PRO600	5.500	8.500	3.750	7.250
PRO900	6.250	8.250	4.500	6.000
PB	6.200	8.750	4.500	6.500
ارزش P P-value	0.46	0.39	0.742	0.237
خطای استاندارد میانگین SEM	0.806	0.599	0.669	0.699

CON: شاهد، PRO300: افزودن ۳۰۰ میلی گرم عصاره الکلی برهموم به‌ازای هر کیلوگرم جیره، PRO600: افزودن ۶۰۰ میلی گرم عصاره الکلی برهموم به‌ازای هر کیلوگرم جیره، PRO900: افزودن ۹۰۰ میلی گرم عصاره الکلی برهموم به‌ازای هر کیلوگرم جیره، PB: افزودن پروبیوتیک

CON: Control, PRO300: Control+300 mg/kg propolis, PRO600: Control+600 mg/kg propolis, PRO900: Control+900 mg/kg propolis, PB: Control+ probiotic

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از برهموم در دُرهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و همچنین پروبیوتیک موجب بهبود معنی‌دار عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی شد. در کل دوره پرورش، تمام تیمارهای مکمل، افزایش وزن روزانه بیشتری نسبت به شاهد نشان دادند و بالاترین مقدار در دُر ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم برهموم مشاهده شد. کارایی مصرف خوراک نیز در تمامی تیمارهای مکمل نسبت به شاهد بهبود یافت. تیمارهای آزمایشی سبب افزایش جمعیت باکتری‌های مفید سکوم (لاکتوباسیلوس) و کاهش/شریشی کلی شدند که بیانگر تقویت سلامت میکروبی روده است. علاوه‌بر این،

مصرف برهموم باعث کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گردید و وضعیت آنتی‌اکسیدانی پرندگان را بهبود داد. باین‌حال، مکمل‌های برهموم و پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های ایمنی هومورال (IgG و Total Ig) نداشتند. به‌طورکلی، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که برهموم و پروبیوتیک‌ها می‌توانند به‌عنوان افزودنی‌های طبیعی مؤثر در بهبود سلامت روده و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی طیور به‌کار روند و گزینه‌ای مناسب برای جایگزینی بخشی از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه طیور باشند.

References

- Abdel-Kareem, A. A. A. (2017). Impact of supplementing diets with propolis on productive performance, blood constituents and haematological parameters of laying hens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101(3):441-448. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26614568> <https://doi.org/10.1111/jpn.12407>
- Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Al-Kahtani, H. A., Al-Mufarrej, S. I., & Al-Daraji, H. J. (2022). Effect of dietary propolis supplementation on immune response and performance of broiler chickens. *Poultry Science*, 101(1), 1-7.
- Alkhalf, A., Alhaj, M., & Al-homidan, I. (2010). Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17(3), 219-225. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.04.005>
- Attia, Y. A., Al-Hanoun, A., & Bovera, F. (2014). Effect of different levels of bee pollen on performance and blood profile of New Zealand White rabbits. *Italian Journal of Animal Science*, 13(2), 333-339. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2009.00967.x>
- Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 114-117. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.004>
- Bankova, V., Popova, M., & Trusheva, B. (2020). Propolis volatile compounds: Chemical diversity and biological activity: A review. *Chemistry Central Journal*, 14(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-28>
- Barbosa, F., de Oliveira, R., & da Silva, R. (2022). Molecular mechanisms underlying the antioxidant effects of propolis in poultry. *Poultry Science*, 101(3), 101587.

- Çetin, O., Yalçın, S., & Erol, H. (2010). Effects of dietary propolis supplementation on serum immunoglobulin levels in laying hens. *Journal of Animal Science and Technology*, 52(3), 205-209.
- Denli, M., Cankaya, S., Silici, S., Okan, F., & Uluocak, A. N. (2005). Effect of dietary addition of Turkish propolis on the growth performance, carcass characteristics and serum variables of quail (*Coturnix coturnix Japonica*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(6), 848-854. <https://doi.org/10.5713/ajas.2005.848>.
- Dosoky, W., AbdelRahman, M. H., & Al-Rumaydh, Z. I. (2022). Effect of propolis as natural supplement on productive and physiological performance of broilers. *Journal of the Advances in Agricultural Researches*, 27(4), 674-686.
- El-Sayed, N. M., El-Banna, S. G., & Saad, A. M. (2013). Effects of dietary supplementation of propolis on the immune response of broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 12(2), 111-115.
- Freires, I. A., de Alencar, S. M., & Rosalen, P. L. (2016). A pharmacological perspective on the use of Brazilian red propolis and its isolated compounds against human diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 110, 267-279. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.01.033>.
- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66(5), 365-378. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x>.
- Gaggia, F., Mattarelli, P., & Biavati, B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*, 141(S1), S15-S28. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031>
- Ghisalberti, E. L. (2018). Propolis: A review. *Bee World*, 77(2), 59-84. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1979.11097738>
- Giacomelli, S., Smith, J., & Brown, P. (2022). Immunomodulatory effects of propolis in animal models: A molecular perspective. *Frontiers in Immunology*, 13, 817453.
- Gutiérrez-Grijalva, E. P., Sáyo-Ayerdi, S. G., Heredia, J. B., Leyva-López, N., & Robles-Zepeda, R. E. (2016). Antioxidant activity of propolis from various regions and its biological and chemical characterization. *Food Chemistry*, 207, 15-26.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th Ed.). Oxford University Press. 896 p.
- Jusril, N. A., Suryati Mohd, Kh., Abd Mutalib, N., & Awanis Mohd Badiyazan, A. (2024). Chemical composition and pharmacological aspects of Malaysian stingless bee propolis: An up-to-date systematic review, *Biomedical Reports*, 5;22(1):9. <https://doi.org/10.3892/br.2024.1887>.
- Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., & Jalaludin, S. (1997). Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with Lactobacillus cultures. *Poultry Science*, 76(9), 1253-1262. <https://doi.org/10.1093/ps/79.6.886>
- Khalifa, H. H., Mohamed, F. A., & Abdel-Rahman, H. M. (2022). Dose-dependent effects of plant extracts on growth performance and gut health of broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 290, 115350.
- Khodakaramian, G., Amani, S., & Goodarzi Boroojeni, F. (2019). Effects of propolis supplementation on growth performance, immune response, and antioxidant status of broiler chickens. *Poultry Science*, 98(3), 1327-1335.
- Kleerebezem, M., & Vaughan, E. E. (2009). Probiotic and gut lactobacilli and bifidobacteria: Molecular approaches to study diversity and activity. *Annual Review of Microbiology*, 63, 269-290. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073341>
- Koc, A., Yilmaz, I., & Gursoy, N. (2020). Effects of propolis on oxidative stress and antioxidant enzymes in broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(4), 1070-1077.
- Kocot, J., Kielczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., & Musik, I. (2018). Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 7074209. <https://doi.org/10.1155/2018/7074209>
- Márquez-Aguirre, A. L., Cruz-Hernández, C., & Morales-González, J. A. (2023). Propolis modulates gut microbiota and intestinal health through signaling pathways: A review. *Nutrients*, 15(2), 348.
- Mountzouris, K. C., Tsitsrikos, P., Palamidi, I., Arvaniti, A., Mohnl, M., Schatzmayr, G., & Fegeros, K. (2010). Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. *Poultry Science*, 89(1), 58-67. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00308>
- Nazari-Bonab, H., Nikbaf-Shandiz, M., Tutunchi, H., & Ebrahimi-Mameghani, M. (2024). Effects of propolis supplementation on prooxidant-antioxidant balance, oxidative stress biomarkers, and body composition in obese patients with non-alcoholic fatty liver disease: A double-blind randomized controlled clinical trial. *Journal of Human Performance in the Health Professions*, 11(2), 37-48. <https://doi.org/10.34172/hpp.42549>
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3).
- Patterson, J. A., & Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, 82(4), 627-631. <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.627>.
- Sadarman, S., Erwan, E., Irawan, A., Sholikin, M. M., Solfaine, R., Harahap, R. P., Irawan, A. C., Sofyan, A., Nahrowi, N., & Jayanegara, A. (2021). Propolis supplementation affects performance, intestinal morphology, and

bacterial population of broiler chickens: A meta-analysis. *South African Journal of Animal Science*, 51(4), 425-433. <https://doi.org/10.4314/sajas.v51i4.8>.

Saeed, M., Arain, M. A., & Sattar, A. (2021). Impact of propolis on growth performance, antioxidant enzymes, and immunity in broilers: A meta-analysis. *Poultry Science*, 100(6), 101034.

Santos, G. A. S., Oliveira, P. H. M., & Silva, M. F. (2020). Effects of propolis supplementation on immune parameters and performance of broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 22(3), eRBCA-2019-1019.

Seven, I., Tatli Seven, P., Yilmaz, M., & Simsek, U. G. (2008). The effects of Turkish propolis on growth and carcass characteristics in broilers under heat stress. *Animal Feed Science and Technology*, 146(1-2), 137-148. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.11.003>

Sforcin, J. M. (2016). Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy Research*, 30(6), 894-905. <https://doi.org/10.1002/ptr.5605>.

Shaddel-Tili, A., Eslami, M., Shaddel-Tili, A., & Ghasemi, S. (2017). Dietary propolis supplementation and immune response of broiler chickens to Newcastle disease virus. *Poultry Science Journal*, 5(1), 29-35.

Tekeli, A., Çelik, L., Kutlu, H. R., & Gorgulu, M. (2011). Effect of dietary supplemental plant extracts on performance, carcass characteristics, digestive system development, intestinal microflora and some blood parameters of broilers. *Livestock Science*, 129(1-3), 132-139.

Silva, F. A. A., de Almeida, J. R. G. S., & de Oliveira, C. A. (2019). The effects of propolis on animal production and health: A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(6), 876-885.

Silva, T. C., Costa, R. M., & Martins, M. D. (2021). Bioactive compounds in propolis and their molecular impact on animal health: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 273, 114794.

Wegmann, T. G., & Smithies, O. (1966). A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies. *Transplantation*, 3(2), 526-528. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.1966.tb04696.x>

Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., & Kroismayr, A. (2008). Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86(14\suppl), E140-E148. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0459>