

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

E. Salehifar^{1*}, A. A. Nikoukar², S. Sobhanirad¹

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

2- M. Sc. Graduated, Department of Agriculture Science, Ma. C., Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Correspondence: E.salehifar@iau.ac.ir

Introduction

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

Materials and Methods

A total of 240 one-day-old Cobb 500 broiler chicks were randomly assigned to five dietary treatments with four replicates per treatment, each replicate consisting of 12 birds. The treatments were: (1) control diet without additives; (2) control + 300 mg/kg ethanolic propolis extract; (3) control + 600 mg/kg ethanolic propolis extract; (4) control + 900 mg/kg ethanolic propolis extract; and (5) control + commercial probiotic. Birds were raised for 42 days with free access to feed and water. The experimental diets were formulated to meet nutrient requirements according to the ROSS guidelines. Growth performance indicators, 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 trial, cecal contents were collected aseptically to enumerate *Lactobacillus* spp. and *Escherichia coli* populations using selective culture media. Blood samples were drawn from the wing vein to determine serum immunoglobulin G (IgG) and total immunoglobulin (Total Ig) concentrations via hemagglutination assay. Antioxidant status was assessed 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 separated when appropriate; statistical significance was declared at $P < 0.05$.

Results and Discussion

Supplementation improved overall daily weight gain relative to the control, with the greatest DWG observed at 900 mg/kg propolis ($P < 0.05$). Across 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 intake at the top dose, the overall feed conversion ratio decreased

in the supplemented groups ($P=0.002$), indicating improved efficiency at the flock level. These findings suggest that propolis and the probiotic can support growth by complementing 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 key outcomes in broiler chickens. Overall, daily weight gain increased with supplementation, with the 900 mg/kg propolis level yielding the highest growth, whereas feed conversion ratio over the entire period decreased in supplemented groups. Cecal *Lactobacillus* rose and *Escherichia coli* fell ($P<0.05$), indicating a healthier microbial balance. Antioxidant capacity improved, as evidenced by decreased MDA and elevated GPx and SOD. Humoral immune indices (IgG and total Ig) were unchanged. 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, Propolis, immune response, probiotic, intestinal microflora

تأثیر سطوح مختلف عصاره اتانولی بره موم و پروبیوتیک بر عملکرد، پاسخ ایمنی، میکروفلور روده
و وضعیت آنتی اکسیدانی جوجه های گوشتی

احسان صالحی فرا^{۱*}، علی اصغر نیکوکار^۲، سعید سبحانی راد^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۸/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۵

- ۱- استادیار، گروه مهندسی کشاورزی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
۲- دانش آموخته، گروه مهندسی کشاورزی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

Correspondence: E.salehifar@iau.ac.ir
<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.94890.1266>

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 ۴ 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 پایدانی، مصرف خوراک در تیمارهای حاوی عصاره برهموم - به ویژه در سطح ۹۰۰ میلیگرم 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 لاکتوباسیلوس و کاهش جمعیت باکتری های اشریشیا کلی در سکوم داشتند ($P<0.05$). ارزیابی وضعیت آنتی اکسیدانی نشان داد فعالیت آنزیم های گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز 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.

کلمات کلیدی: آنتی اکسیدان، برهموم، پاسخ ایمنی، پروبیوتیک، جوجه گوشتی، میکروفلور روده

مقدمه

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، محصولی طبیعی تولید شده توسط زنبور عسل، حاوی ترکیبات زیست فعال متنوعی از جمله فلاونوئیدها، فنول ها و اسیدهای آلی است که خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضدباکتریایی قابل توجهی دارند (Bankova et al., 2020). این ویژگی ها سبب شده اند 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). مطالعات نشان داده‌اند که افزودن برهموم یا عصاره الکلی آن می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPx)، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن را تقویت کند و استرس اکسیداتیو را در بافت‌هایی مانند کبد و مخاط روده کاهش دهد (Jusril, 2024; Nazari-Bonab et al., 2024). همچنین، کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان 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 به‌عنوان جایگزین‌های مؤثر آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد مورد توجه ویژه قرار دارند. پروبیوتیک‌ها شامل میکروارگانیسم‌های 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). میکروارگانیسم‌هایی مانند *Enterococcus faecium*، *Pediococcus acidilactici* و *Streptococcus thermophilus* و *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 به‌طور 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 mg/kg به بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک منجر می‌شوند، در حالی که تأثیر سطح بالاتر محدود یا بی‌اثر بوده است (Sadarman et al., 2021). در مرغ‌های تخمگذار، مصرف ۲۵۰ mg/kg بهبودهایی در تولید تخم و پارامترهای خونی دیده‌شده دارد (Abdel-Kareem, 2017). همچنین در سطح متوسط ۳۰۰ mg/kg، تأثیرات مثبت در عملکرد کلی، ایمنی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است (Dosoky et al., 2022). با توجه به این ناهمگونی نتایج، پژوهشی که در آن چندین سطح عصاره الکلی برهموم با یک پروبیوتیک تجاری مقایسه شود، ضروری به نظر می‌رسد.

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 ۵ تیمار و ۴ تکرار و در هر تکرار ۱۵ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ بود. تیمارها شامل: تیمار ۱- شاهد (بدون افزودنی)، تیمار ۲- افزودن ۳۰۰ میلی گرم عصاره الکلی برهموم به ازای هر کیلوگرم جیره، تیمار ۳- افزودن ۶۰۰ میلی گرم عصاره الکلی

بره موم به ازای هر کیلوگرم جیره و تیمار ۴- افزودن ۹۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم جیره ۵- افزودن پروبیوتیک (پروبیوتیک هایپو-تک حاوی *Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus thermophilus*, and *Lactobacillus bulgaricus* با غلظت $10^9 \times 1$ CFU/g و میزان مصرف ۱ g/kg جیره.

بره موم به صورت خام از زنبورداری محلی جمع آوری شد. عصاره الکلی با استفاده از روش ماسراسیون انجام شد. ابتدا بره موم خشک شده به صورت پودر درآمد و سپس با نسبت ۱:۱۰ (وزن به حجم) در الکل اتانول ۷۰٪ 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 سانتی گراد تغلیظ گردید تا عصاره خام به دست آید (Bankova, 2005).

جیره مورد استفاده بر اساس جداول تغذیه ای کاتالوگ پرورشی و مطابق با نیازهای جوجه های گوشتی راس ۳۰۸ فراهم شد (ROSS, 2008). ترکیبات و محتوای مواد مغذی جیره به گونه ای تنظیم گردید که انرژی متابولیک، پروتئین خام، و سایر مواد مغذی مورد نیاز جوجه ها در تمامی تیمارها برابر باشد. به منظور یکنواخت سازی افزودنی ها در جیره، عصاره الکلی بره موم و پروبیوتیک ابتدا با مقدار کمی پودر ذرت به عنوان حامل مخلوط و سپس در هم زن مکانیکی با کل خوراک ترکیب شدند (Denli et al., 2005).

جدول ۱- ترکیبات و مواد تشکیل دهنده جیره های آزمایشی (درصد، بر اساس ماده خشک)

Table 1- Ingredients and Composition of Experimental Diets (%، as fed basis)

مواد اولیه	آغازین	رشد	پایانی
Ingredient	Starter (1-10 days)	Grower (11-24 days)	Finisher (25-42 days)
ذرت	55.0	60.0	65.0
Corn			
کنجاله سویا	38.0	33.0	28.0
Soybean Meal			
روغن گیاهی	3.5	4.0	4.5
Vegetable Oil			
کربنات کلسیم	1.2	1.0	0.9
Calcium Carbonate			
دی کلسیم فسفات	1.0	0.9	0.8
Dicalcium Phosphate			
مکمل ویتامینه و معدنی	1.0	1.0	1.0
Vitamin and Mineral Premix			

نمک	0.3	0.3	0.3
Salt			
ترکیب			
Composition			
انرژی قابل متابولیسم	3000	3100	3200
Metabolizable Energy (kcal/kg)			
پروتئین خام	22.5	20.0	18.0
Crude Protein (%)			
کلسیم	1.0	0.9	0.8
Calcium (%)			
فسفر قابل دسترس	0.45	0.40	0.35
Available Phosphorus (%)			
متیونین + سیستئین	0.90	0.80	0.75
Methionine + Cysteine (%)			
لیزین	1.35	1.15	1.00
Lysine (%)			

جوجه‌ها از سن یک روزگی در سالن پرورش در سالن کنترل شده با دمای ۳۲ درجه سانتی گراد آغاز شدند که هر هفته دما به تدریج کاهش یافت تا به دمای نهایی ۲۴ درجه سانتی گراد رسید. دوره آزمایش ۴۲ روز بود و دسترسی به آب و خوراک به صورت آزاد فراهم شد. 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 ۴ جوجه در هر تکرار گرفته شد. نمونه‌ها تحت شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل شدند. تعداد کل باکتری‌های لاکتوباسیل با استفاده از محیط MRS آگار و شمارش کل فرم‌های اشرفیاکلی با محیط MacConkey آگار براساس روش رقیق سازی متوالی و شمارش کلونی انجام شد و نتایج به صورت CFU/g گزارش گردید. محیط‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند (Jin et al., 1997). فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD)، گلوکاتیون پراکسیداز (GPx) و میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخص‌های استرس اکسیداتیو در تعداد ۲ نمونه خون از ورید بال جوجه‌های هر تکرار در ۴۲ روزگی اندازه‌گیری شدند (Ohkawa, 1979, Aebi, 1984). آنالیزهای خون با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون (PARS AZMOON، ایران) و مطابق دستورالعمل‌های کارخانه انجام گرفت. برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی هومورال، به ۲ پرنده از هر تکرار تزریق گلوبول‌های قرمز شسته شده گوسفند (SRBC) انجام شد. در روز ۱۹ پرورش، به هر جوجه ۰/۵ سی‌سی از محلول

۵٪ SRBC به صورت 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 شد و تیتر آنتی‌بادی‌ها با استفاده از روش هم‌آگلوتیناسیون (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 اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نداشت ($P=0.325$)، اما در دوره‌های آغازین مصرف خوراک در تیمار حاوی ۹۰۰ میلی گرم بره موم نسبت به شاهد، در دوره رشد تیمارهای ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم بره موم و در دوره پایانی در تیمارهای پروبیوتیک و ۹۰۰ میلی گرم بره موم افزایش معنی‌دار داشتند ($P<0.05$). بیشترین مصرف خوراک مصرفی روزانه در تمام دوره‌ها مربوط به تیمار ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بره موم بود. افزایش مصرف خوراک در این تیمار ممکن است به نقش ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بره موم 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 مصرف 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 بره موم بود که به صورت معنی‌داری بی از تیمار شاهد بود ($P=0.001$). در دوره پایانی، تیمار ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بره موم و پروبیوتیک افزایش وزن بالاتری نسبت به شاهد نشان دادند ($P=0.038$)، در حالی که 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 اشرشیاکلی، ارتقای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کاهش MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های GPx و SOD مرتبط باشد. هم‌چنین مطابق گزارش‌های پیشین، این تغییرات می‌توانند با نقش ترکیبات زیست‌فعال بره موم و پروبیوتیک‌ها در بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تعدیل میکروبیوتای روده مرتبط باشند (Patterson & Burkholder, 2003; Marquez Aguirre et al., 2003; Freires et al., 2016; Ghisalberti, 2018). موجب بهبود بازده مصرف خوراک در کل دوره شدند ($P=0.002$). هرچند در دوره‌های آغازین و رشد، تیمار ۹۰۰ میلی گرم بره موم ضریب تبدیل غذایی بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشت ($P<0.05$). نوسان مشاهده شده در ضریب تبدیل غذایی احتمالاً به تفاوت در کارایی استفاده از مواد مغذی و تغییرات جمعیت میکروبی روده در سطوح مختلف بره موم مرتبط است؛ زیرا ترکیبات فنولی بره موم می‌توانند بر فعالیت آنزیمی، سلامت روده و تعادل باکتریایی اثر گذاشته و در نتیجه منجر به تغییر در FCR شوند (Tekeli et al., 2011).

جدول ۲- تأثیر تیمارها آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

Table 2- Effect of Experimental Treatments on Broiler performance

تیمار Treatment	DWG ¹ (g)				FI ² (g)				FCR			
	آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher	کل Total	آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher	کل Total	آغازین Starter	رشد Grower	پایانی Finisher	کل Total
CON	25.142	53.785	77.355b	53.55c	29.375b	94.198b	130.270b	95.367	1.168a	1.752b	1.681b	1.78a
PRO300	25.762	54.805	80.265ab	56.62ab	28.543b	90.025b	124.388b	96.250	1.107b	1.642b	1.533b	1.70b
PRO600	25.500	54.537	85.730a	55.42b	28.128b	88.900b	130.063b	97.05	1.103b	1.630b	1.510b	1.75b
PRO900	25.387	54.250	78.875ab	57.14a	29.458a	98.702a	136.625a	93.720	1.160a	1.819a	1.732a	1.64b
PB	25.620	54.547	85.705a	56.65ab	29.451b	95.23b	140.234b	91.772	1.149b	1.745b	1.601b	1.62b
P-Value	0.719	0.709	0.04	0.001	0.0001	0.001	0.005	0.325	0.0001	0.001	0.044	0.002
SEM	0.381	0.637	2.422	0.720	0.940	2.966	4.744	7.15	0.037	0.051	0.001	0.048

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

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

CON- کنترل، PRO300- افزودن ۳۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم جیره، PRO600- افزودن ۶۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم جیره، PRO900- افزودن ۹۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم، 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

¹ Daily Weight Gain, ² Feed Intake

بره موم مجموعه ای پیچیده از پلی فنول ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فرار دارد که به صورت انتخابی بر میکروارگانیسم های روده اثر می گذارند و می توانند با مهار پاتوژن ها و حمایت از باکتری های سودمند، تعادل اکوسیستم روده را بازتنظیم کنند (Bankova, 2005; Bankova et al., 2020; Freires et al., 2016). از سوی دیگر، پروبیوتیک ها با رقابت برای جایگاه های اتصال، تولید اسیدهای آلی و باکتریوسین ها و کاهش PH روده به حذف رقابتی *E.coli* کمک می کنند و هضم پذیری را بالا می برند (Fuller, 1989; Patterson & Burkholder, 2003). کاهش MDA و افزایش فعالیت آنزیم های GPx و SOD با مصرف بره موم مکرراً گزارش شده و این تغییرات می توانند بهبود کارایی متابولیک و به تبع آن افزایش رشد را توجیه می کند (Koc et al., 2020). همچنین متآنالیزها تایید می کنند که پاسخ به بره موم و افزودنی های گیاهی به دوز، منشا شیمیایی و شرایط محیطی وابسته است (Saeed et al., 2021). نتایج این پژوهش نشان می دهد که مصرف دوز بالاتر بره موم ۹۰۰ (mg/kg) بیشترین افزایش وزن را در جوجه های گوشتی ایجاد می کند؛ در حالی که دوزهای پایین تر بره موم و تیمار پروبیوتیک با ایجاد بهبود نسبی در ضریب تبدیل خوراک، تعادل مناسب تری میان رشد و کارایی مصرف خوراک فراهم کردند (Seven et al., 2008; Denli et al., 2005; Mountzouris et al., 2010). بنابراین، اگر هدف راهبرد تغذیه ای حداکثرسازی رشد باشد، تیمار ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بره موم انتخاب مناسبی است؛ اما اگر بهینه سازی ضریب تبدیل خوراک در طول دوره باشد، تیمارهای حاوی ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره بره موم و پروبیوتیک گزینه های بهتری هستند. ترکیب پروبیوتیک ها با این تیمارها نیز از نظر هم افزایی احتمالی ارزش آزمون دارد (Khalifa et al., 2022).

نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان داد که تیمارهای حاوی عصاره بره موم ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ (mg/kg) و تیمار پروبیوتیک موجب تغییرات معنی داری در جمعیت میکروبی سکوم شدند. این تغییرات شامل افزایش تعداد باکتری های لاکتوباسیلوس و کاهش جمعیت اشیریشیا کلی در گروه های تیمار شده نسبت به گروه شاهد بود. همچنین، افزایش لاکتوباسیلوس در پاسخ به مصرف بره موم و پروبیوتیک با نتایج مطالعات پیشین همسو است؛ مطالعاتی که نشان داده اند افزودنی های طبیعی می توانند رشد باکتری های مفید روده را تقویت کنند (Seven et al., 2008; Mountzouris et al., 2007; Patterson & Burkholder, 2003). لاکتوباسیلوس ها به عنوان پروبیوتیک های شناخته شده، با تولید اسیدهای آلی، رقابت با باکتری های بیماری زا و تحریک سیستم ایمنی میزبان، نقش مهمی در حفظ سلامت روده دارند (Gaggia et al., 2010). بره موم، ماده ای رزینی تولید شده توسط زنبورها، شامل پلی فنول ها و فلاونوئیدهایی است که خواص ضدباکتریایی در برابر باکتری های بیماری زا داشته و رشد باکتری های مفید را تقویت می کند (Sforcin, 2016). کاهش جمعیت اشیریشیا کلی در تیمارهای مکمل شده می تواند با چند مکانیسم توضیح داده شود. اولاً، لاکتوباسیلوس ها می توانند با اشیریشیا کلی برای منابع غذایی و جایگاه های اتصال در مخاط روده رقابت کنند و رشد آن ها را محدود سازند (Fuller, 1989). ثانیاً، بره موم و باکتری های پروبیوتیک قادر به تولید متابولیت های ضدباکتری مانند باکتریوسین ها و اسیدهای آلی (مانند اسید لاکتیک) هستند که باعث کاهش pH روده شده و محیط نامناسبی برای باکتری های بیماری زا مانند اشیریشیا کلی ایجاد می کنند (Kleerebezem & Vaughan, 2009). علاوه بر این، گزارش شده است که بره موم می تواند سیستم ایمنی میزبان را تقویت کرده و در نتیجه توانایی مقابله با عفونت ها را افزایش دهد (Ghisalberti, 2018). در بین سطوح مختلف بره موم، بیشترین کاهش جمعیت *E. coli* در سطح ۶۰۰ mg/kg مشاهده شد که نشان دهنده یک الگوی پاسخ غیردوئی است. به نظر می رسد سطح متوسط بره موم به دلیل وجود غلظت بهینه ترکیبات

فنولی و فلاونوئیدی، بیشترین اثر ضدباکتریایی را دارد؛ در حالی که دوزهای پایین تر ۳۰۰ mg/kg احتمالاً غلظت کافی از ترکیبات فعال را فراهم نمی کنند و دوزهای بالاتر ۹۰۰ mg/kg 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 پیش تر نیز در پاسخ های میکروبی و فیزیولوژیک به پلی فنول ها گزارش شده است (Seven et al., 2008; Freires et al., 2016).

یافته های حاضر نقش مکمل های طبیعی را به عنوان جایگزین های مؤثر برای آنتی بیوتیک ها در تغذیه طیور تأیید می کند. این افزودنی ها با بهبود تعادل میکروبی روده، می توانند جذب مواد مغذی، عملکرد سیستم ایمنی و در نهایت عملکرد کلی طیور را بهبود بخشند (Patterson & Burkholder, 2003). در مجموع، مکمل های بره موم و پروبیوتیک باعث افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس های مفید و کاهش باکتری های مضر اشریشیا کلی در سکوم جوجه های گوشتی شدند که این امر پتانسیل استفاده از آن ها را در بهبود سلامت روده و کاهش استفاده از آنتی بیوتیک ها در تولیدات طیور نشان می دهد.

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

تیمار Treatment	تعداد باکتری ای کولای Total E. coli Bacteria	تعداد باکتری لاکتوباسیل Total Lactobacillus 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
P-Value	0.004	0.013
SEM	0.145	0.194

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($p < 0.05$)

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

CON- کنترل، PRO300- افزودن ۳۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم جیره، PRO600- افزودن ۶۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم جیره

PRO900- افزودن ۹۰۰ میلی گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم، 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

جدول ۴ تأثیر تیمارهای مختلف شامل افزودن بره موم در سه دُز (۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و پروبیوتیک بر شاخص های وضعیت آنتی اکسیدانی جوجه های گوشتی را نشان می دهد. پارامترهای مورد بررسی شامل میزان مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان نشانگر استرس اکسیداتیو و آسیب های ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها، فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به عنوان آنتی اکسیدان های دفاعی در بدن بوده است. نتایج نشان داد که در گروه های دریافت کننده بره موم، سطح MDA به صورت وابسته به دوز کاهش یافت؛ به طوری که بیشترین کاهش در دوز ۹۰۰ mg/kg و کمترین کاهش در دوز ۳۰۰ mg/kg مشاهده شد. این الگوی پاسخ خطی به دوز (linear dose-response) حاکی از آن است که افزایش غلظت ترکیبات فنولی بره موم می تواند ظرفیت آنتی اکسیدانی و کاهش آسیب اکسیداتیو را تقویت کند ($P < 0.05$). در مقابل، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی GPx و SOD در این گروه ها به طور معناداری افزایش یافته است ($p < 0.05$) که بیانگر تقویت دفاع آنتی اکسیدانی بدن می باشد. این تغییرات نشان می دهد که بره موم با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی قادر است استرس اکسیداتیو را کاهش دهد. گروه پروبیوتیک (تیمار ۵) نیز به طور نسبی کاهش MDA و افزایش فعالیت GPx را نشان داد اما در مورد SOD افزایش معنادار مشاهده نشد و این ممکن است نشان دهنده تفاوت اثرگذاری این دو نوع مکمل در مسیرهای آنتی اکسیدانی باشد. مکانیسم اثر بره موم

در کاهش استرس 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 MDA در پاسخ به سطوح مختلف برهموم یک پاسخ غیردوزی را نشان داد. به‌طوری‌که در سطح ۳۰۰ mg/kg کاهش معنی‌داری مشاهده شد، در سطح ۶۰۰ mg/kg این کاهش بیشتر شد، اما در سطح ۹۰۰ mg/kg برخلاف انتظار، کاهش MDA 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 GPx و SOD می‌شود که نقش کلیدی در محافظت سلول‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو دارند (Gutiérrez-Grijalva et al., 2016). فعالیت آنزیم SOD به عنوان اولین خط دفاع در مقابل رادیکال‌های ابر اکسیژن اهمیت دارد و آنزیم GPx نقش حیاتی در تبدیل پراکسیدهای هیدروژن به آب ایفا می‌کند. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها به معنای ارتقای توان مقابله بدن با استرس‌های 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	سوپراکسیددسموتاز SOD	گلوتاتیون پراکسیداز GPx	مالون دی آلدئید MDA
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
P-Value	0.002	0.04	0.02
SEM	6.403	5.701	0.491

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

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

CON- کنترل، PRO300- افزودن ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی برهموم به ازای هر کیلوگرم جیره، PRO600- افزودن ۶۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی برهموم به ازای هر کیلوگرم جیره

PRO900- افزودن ۹۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی برهموم به ازای هر کیلوگرم، 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

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) در تیمارهای دریافت‌کننده برهموم ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ (mg/kg) به‌صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت ($P = 0.04$)، که نشان‌دهنده تقویت مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی داخلی و بهبود ظرفیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌باشد. فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز (SOD) در تیمارهای ۶۰۰ mg/kg برهموم، ۹۰۰ mg/kg برهموم و پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار ۳۰۰ mg/kg برهموم بود ($P = 0.002$)، با این حال، بین سطوح مختلف برهموم ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ (mg/kg) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. افزایش فعالیت SOD بیانگر بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی در جوجه‌ها است. این نتایج همسو با مطالعات پیشین است که نشان داده‌اند

ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی موجود در بره موم با تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند GPx و SOD، باعث کاهش استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی می‌شوند (Bankova et al., 2020; Khodakaramian et al., 2019). عصاره بره موم حاوی ترکیبات زیستی متعددی مانند فلاونوئیدها، فنول‌ها و اسیدهای چرب است که قادرند با مکانیسم‌های مولکولی متنوعی بر سلامت و عملکرد جوجه‌های گوشتی تأثیرگذار باشند (Silva et al., 2021). این ترکیبات به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی عمل کرده و با مهار رادیکال‌های آزاد و کاهش استرس اکسیداتیو موجب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی بدن می‌شوند. در مطالعه حاضر، کاهش سطح MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD و GPx در گروه‌های تیمار شده با عصاره بره موم، همسو با یافته‌های مطالعات پیشین است که نشان می‌دهد عصاره بره موم می‌تواند از طریق افزایش بیان ژن‌های کدکننده این آنزیم‌ها، قابلیت مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو را ارتقا می‌دهد (Koc et al., 2020).

جدول ۵ تأثیر تیمارهای مختلف شامل افزودن بره موم در سه دُز (۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و پروبیوتیک بر پاسخ ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی را نشان می‌دهد. شاخص‌های مورد بررسی شامل سطوح ایمونوگلوبولین G (IgG) و ایمونوگلوبولین کل (Total Ig) بودند. نتایج نشان می‌دهند که در تمامی گروه‌های تیمار شده با بره موم 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 بره موم می‌تواند با تحریک سیستم ایمنی، تولید آنتی‌بادی‌ها را افزایش دهد. به عنوان نمونه، گزارش شده است که افزودن ۳ گرم بره‌موم به ازای هر کیلوگرم جیره در مرغ‌های تخم‌گذار موجب افزایش معنی‌دار IgG و IgM سرم می‌شود. باید توجه داشت که تفاوت در گونه پرند (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 با مصرف بره موم به مقدار ۱ g/kg باعث افزایش سطوح IgG و تقویت پاسخ ایمنی آنتی‌ژنی خاص شد (Al-Kahtani et al., 2022). در مورد پروبیوتیک‌ها، برخی مطالعات نشان داده‌اند که افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره می‌تواند پاسخ ایمنی همورال را تقویت کند. به عنوان مثال، در تحقیقی، جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پروبیوتیک‌ها افزایش سطوح IgG را نشان دادند که نشان‌دهنده تقویت پاسخ ایمنی سیستمیک به برخی آنتی‌ژن‌ها بود. نتایج مطالعه حاضر ممکن است به دلیل تفاوت‌های در طراحی آزمایش، دُزهای استفاده شده، مدت زمان تیمار، یا شرایط محیطی متفاوت از 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.

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

Table (5): Effect of Experimental Treatments on Humoral Immune Response in Broiler Chickens

تیمار Treatment	Total Ig		IgG	
	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
P-Value	0.46	0.39	0.742	0.237
SEM	0.806	0.599	0.669	0.699

CON- کنترل، PRO300- افزودن ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم جیره، PRO600- افزودن ۶۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم جیره

PRO900- افزودن ۹۰۰ میلی‌گرم عصاره الکلی بره موم به ازای هر کیلوگرم، 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

عدم مشاهده تغییر معنی‌دار در تیتراژ آنتی‌بادی‌ها نشان می‌دهد که مصرف عصاره بره موم در سطوح مورد بررسی نتوانسته است پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌ها را به طور قابل توجهی افزایش دهد. این نتایج با برخی مطالعات مشابه مطابقت دارد که اثرات بره موم بر سیستم ایمنی پرندگان را محدود یا وابسته به دوز و زمان مصرف می‌دانند (Santos et al., 2020). علی‌رغم فقدان تأثیر معنی‌دار بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده، ترکیبات فعال موجود در بره موم مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک ممکن است اثرات مفیدی بر سایر بخش‌های سیستم ایمنی یا تحت شرایط استرس‌زا 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.

نتیجه‌گیری کلی:

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از بره‌موم در دُزهای ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی‌گرم 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 دُز ۹۰۰ میلی‌گرم 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 اشیریشیا کلی شدند که بیانگر تقویت سلامت میکروبی روده است. علاوه بر این، مصرف بره‌موم باعث کاهش سطح MDA و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPx و SOD گردید و وضعیت آنتی‌اکسیدانی پرندگان را بهبود داد. با این حال، مکمل‌های بره‌موم و پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های ایمنی هومورال (IgG و Total Ig) نداشتند. به‌طور کلی، 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*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26614568/>.
- 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.2010.04.002>.
- 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/10.4081/ijas.2014.3118>.
- 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/s13065-020-00675-0>.
- Barbosa, F., de Oliveira, R., & da Silva, R. (2022). Molecular mechanisms underlying the antioxidant effects of propolis in poultry. *Poultry Science*, 101(3), 101587. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101587>.
- 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. <https://doi.org/10.21608/jalexu.2022.167360.1089>.
- 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. <https://doi.org/10.3923/ijps.2013.111.115>.
- 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.1996.11099547>.
- Giacomelli, S., Smith, J., & Brown, P. (2022). Immunomodulatory effects of propolis in animal models: A molecular perspective. *Frontiers in Immunology*, 13, 817453. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.817453>.
- Gutiérrez-Grijalva, E. P., Sáyago-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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.105>.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
- Jusril, N. A. (2024). Chemical composition and pharmacological aspects of propolis: Effects on antioxidant enzyme levels (SOD, GPx, GST) *Biomedical Reports*, 10(3), Article 1887. <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/76.9.1253>.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115350>.
- 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. <https://doi.org/10.3382/ps/pey534>.
- 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.091208.07334>.
- 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. <https://doi.org/10.1111/jpn.13376>.
- 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. <https://doi.org/10.3390/nu15020348>.

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/10.1000/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. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101034>.

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. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2019-1019>.

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.2007.12.009>.

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. <https://doi.org/10.22069/psj.2017.12028.1184>.

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. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.11.010>.

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. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0527>.

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. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114794>.

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/10.1097/00007890-196603000-00020>.

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.2007-0447>.