



FACULTY
OF BIOLOGY, ANIMAL SCIENCES
AND BIOECONOMY

Ali Ridha Mustafa Al-Yasiry

**The effect of *Boswellia serrata* resin dietary
supplementation on the rearing efficiency
and health status of broiler chickens**

Summary of doctoral dissertation accomplishments

Lublin, 2018

UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES IN LUBLIN
FACULTY OF BIOLOGY, ANIMAL SCIENCES AND BIOECONOMY

Ali Ridha Mustafa Al-Yasiry M.sc.

**The effect of *Boswellia serrata* resin dietary
supplementation on the rearing efficiency
and health status of broiler chickens**

Summary of doctoral dissertation accomplishments

Work was done in
Institute of Animal Nutrition and Bromatology
University of Life Sciences in Lublin
Promoter: Dr hab. inż. Bożena Kiczorowska
Auxiliary promoter: Dr inż. Wioletta Samolińska

Reviewers:
Dr hab. inż. Tomasz Niemiec
Warsaw University of Life Sciences-SGGW in Warsaw
Prof. dr hab. Sylwester Świątkiewicz
National Research Institute of Animal Production in
Krakow

Lublin, 2018

CONTENTS / SPIS TREŚCI

I. SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION ACCOMPLISHMENTS (IN ENGLISH)

LIST OF PUBLICATIONS INCLUDED IN THE DOCTORAL THESIS	4
INTRODUCTION	6
AIM OF THE STUDY	7
RESEARCH HYPOTHESES	7
MATERIALS AND METHODS	7
PRESENTATION OF THE RESULTS OF THE SERIES OF PUBLICATIONS	14
SUMMATION AND CONCLUSION	16

II. AUTOREFERAT PRACY DOKTORSKIEJ (W JĘZYKU POLSKIM)

WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD PRACY DOKTORSKIEJ.....	20
WSTĘP.....	22
CEL PRACY.....	23
HIPOTEZY BADAWCZE.....	23
MATERIAŁ I METODY.....	23
OMÓWIENIE WYNIKÓW Z CYKLU PUBLIKACJI.....	30
PODSUMOWANIE I WNIOSKI.....	33

List of publications included in the doctoral thesis:

The series of publications comprises six original research papers presenting investigations of the use of *Boswellia serrata* resin for supplementation of broiler chicken diet and its effect on the basic production parameters and dry matter, organic matter, and energy digestibility as well as the structure and microbiological status of the alimentary tract, histomorphometric parameters of intestines, birds' health status, and the chemical composition of breast and drumstick muscles. The doctoral student is the first author in four papers, the second author in one paper, and the third author in one publication. As indicated in the co-author declarations, the doctoral student's contribution to these publications is 61,67%. The total impact factor IF (impact factor of the journal in the year of publication) of the submitted series of publications is 8,505, and the MNiSW (Ministry of Science and Higher Education) score in the year of publication is 140.

1. Kiczorowska B., **Al-Yasiry A.R.M.**, Samolińska W., Pyzik E., Marek A., 2016. The effect of dietary supplementation of the broiler chicken diet with *Boswellia serrata* resin on growth performance, digestibility, and gastrointestinal characteristics, morphology, and microbiota. *Livestock Science*, 191, 117-124. DOI: 10.1016/j.livsci.2016.07.019.

Scores in the year of publication: IF= 1,377; MNiSW = 30 pts.

Individual contribution to the publication (40%): conducting the investigations, analysis of the results, preparation of the Introduction, description of the results, discussion, and formulation of the conclusions

2. **Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., Kowalczyk-Vasilev E., Kowalczyk-Pecka D., 2017. The effect of *Boswellia serrata* resin diet supplementation on production, hematological, biochemical and immunological parameters in broiler chickens. *Animal*, 11, 1890-1898. DOI: 10.1017/S1751731117000817.

Scores in the year of publication: IF= 1,921; MNiSW = 35 pts.

Individual contribution to the publication (60%), conducting the investigations, analysis of the results, preparation of the Introduction, description of the results, discussion, and formulation of the conclusions

3. **Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., 2017. The nutritional value and content of mineral elements in meat of broiler chicken feed diets supplemented with *Boswellia serrata*. *Journal of Elementology*, 22(3), 1027-1037, DOI: 10.5601/jelem.2017.22.1.1294.

Scores in the year of publication: IF= 0,700; MNiSW = 15 pts.

Individual contribution to the publication (80%), conducting the investigations, analysis of the results, preparation of the Introduction, description of the results, discussion, and formulation of the conclusions

4. Kiczorowska B., Samolińska W., **Al-Yasiry A.R.M.**, Kowalczyk-Pecka D., 2016. Effect of supplementation of mixtures for broiler chickens with *Boswellia serrata* on the condition of the gastrointestinal tract and rearing efficiency. *Annals of Animal Science*, 16, 3, 835-849. DOI: 10.1515/aoas-2016-0007

Scores in the year of publication: IF= 0,731; MNiSW = 15 pts.

Individual contribution to the publication (40%), conducting the investigations, analysis of the results, preparation of the Introduction, description of the results, and formulation of the conclusions

5. **Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., Kowalczyk-Vasilev E. 2017. Growth performance, digestibility, hematology, biochemistry, and some humoral immunity blood parameters of broiler chickens fed different levels of olibanum (*Boswellia serrata*) – *Animal Production Science*, DOI: org/10.1071/AN16767

Scores in the year of publication: IF= 1,377; MNiSW = 30 pts.

Individual contribution to the publication (70%), conducting the investigations, analysis of the results, preparation of the Introduction, description of the results, discussion, and formulation of the conclusions, revision of the reviewed version of the manuscript

6. **Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., 2017. The *Boswellia serrata* resin in broiler chicken diets and mineral elements content and meat nutritional value. *Biological Trace Element Research*, 179, 294–303, DOI: 10.1007/s12011-017-0966-6.

Scores in the year of publication: IF= 2,399; MNiSW = 15 pts.

Individual contribution to the publication (80%), conducting the investigations, analysis of the results, preparation of the Introduction, description of the results, discussion, and formulation of the conclusions, revision of the reviewed version of the manuscript

Total: IF = 8,505, MNiSW scores = 140

Contribution to the publications = 61,67%

INTRODUCTION

Phytogetic feed additives such as herbs or spices are being increasingly used in poultry production. Due to the content of biologically active compounds, the additives have multifaceted activity contributing to improvement in birds' health status and higher rearing efficiency.

The group of feed additives comprises *Boswellia serrata* resin, which was approved for use in poultry production after registration in the European Union Register of Feed Additives. The *Boswellia serrata* tree is native to the Arabian Peninsula, where it is obtained from plants representing the family *Burseraceae*. In the traditional medicine of Eastern cultures, the resin is regarded as an anti-inflammatory, antiseptic, and even anti-cancer or anxiolytic agent. These therapeutic properties are associated with the presence of many biologically active compounds. Oil is the main component of frankincense resin. It contains mono- (13%) and diterpenes (40%) as well as ethyl acetate (21,4%), octyl acetate (13,4%), and methyl anisole (7,6%). Among terpenes, boswellic acids are characterized by the highest bioactivity. The therapeutic properties of *Boswellia serrata* have been confirmed in many scientific studies and well documented in the literature; however, these reports present investigations conducted mainly in human or laboratory animal models.

The therapeutic properties of *Boswellia serrata* resin can also be used in animal production, especially in poultry breeding. It requires high sanitary-veterinary-zootechnical criteria that take into account the special breeding, care, and maintenance needs of birds. Supplementation of diets with *Boswellia serrata* resin can improve production efficiency by stabilization of birds' health status. Stimulation through supplementation and control of chickens' health status, including the condition of the immune system, by monitoring blood parameters can reflect the positive increase in nutrient digestibility. Considering the broad spectrum of its possible impact on the organism, *Boswellia serrata* resin may be a valuable feed additive in poultry breeding.

However, its potential application in poultry production is still relatively little known, although there are single studies of the problem and their preliminary results confirm the positive impact of dietary supplementation with *Boswellia serrata* resin on the efficiency of broiler chicken breeding. There is still no information about the suitability of the resin in poultry production in terms of its effect on birds' health status, physical condition, and microbiological status of their alimentary tract as well as the nutritional and dietary quality of meat.

AIM OF THE STUDY

The aim of the study was to determine the effect of different levels of *Boswellia serrata* resin supplementation of broiler chicken diets on the production results, birds' health status, and nutritional value of produced meat.

RESEARCH HYPOTHESES

1. *Boswellia serrata* resin exerts a beneficial effect on feed intake, nutrient digestibility, and weight gain in broiler chickens.
2. Supplementation of feed mixtures for broiler chickens with *Boswellia serrata* resin can stimulate normal development of the alimentary tract and stabilize its microbiome.
3. Addition of *Boswellia serrata* resin to the feed can improve hematological and biochemical parameters in broiler chicken blood.
4. The use of *Boswellia serrata* resin in broiler chicken nutrition can improve results of carcass slaughter performance and the nutritional and dietary value of poultry meat.

MATERIALS AND METHODS

EXPERIMENTAL DESIGN

Two experiments were carried out; each was conducted on 200 Ross 308 chickens divided into 4 groups (each comprising 50 birds with equal body weight) in 5 replicates with 10 chick (5 females and 5 males) in each (**Kiczorowska et al., 2016a; Kiczorowska et al., 2016b; Al-Yasiry et al., 2017a,b,c,d**). Both experiments lasted for 6 weeks. The chickens were reared in 1-m² cages with constant access to feed and water placed in a room with controlled temperature and humidity. Three days before the chicks were located in the cages, the floor, litter, and air were heated to 29 °C, 30 °C, and 32 °C, respectively, and the relative humidity was maintained at 63%. Such thermal conditions were maintained up to 4 days after the chickens were allocated to the cages and, next, the air temperature was gradually reduced to 20 °C. The light regime in the hen house regulated the length of the day in accordance with the guidelines for Ross broiler rearing:

1-3 rearing days – 22h of light

4-7 rearing days – 20h of light

8-14 rearing days – 19h of light

15-28 rearing days – 18h of light

29-36 rearing days – 17h of light

37-42 rearing days – 22h of light

Experiment I (No. 27/2014) and II (No. 34/2015) were carried out in accordance with the approval from the II Local Commission at the University of Life Sciences (**Kiczorowska et al., 2016a; Kiczorowska et al., 2016b; Al-Yasiry et al., 2017a,b,c,d**).

From the first day of rearing, the broilers were fed in accordance with the methodological design, with varied doses of *Boswellia serrata* resin as the experimental factor. The basal feed diets were made from cereal (wheat and corn) middlings and post-extraction soybean meal as recommended. Three types of diets: starter from rearing day 0 to 21, grower from rearing day 22 to 35, and finisher from rearing day 36 to 42 were used in the chicken nutrition. The starter mixture was administered in a crumbled form, whereas the grower and finisher mixtures were given in a granulated form. All the mixtures were iso-energetic and iso-proteinic (**Kiczorowska et al., 2016a; Kiczorowska et al., 2016b; Al-Yasiry et al., 2017a,b,c,d**).

In experiment I, the control group (BSR) was fed the standard diet without resin addition. Groups BSR3 BSR4, and BSR5 were supplemented with resin at a level of 3%, 4%, and 5% of complete diet, respectively (**Kiczorowska et al., 2016b; Al-Yasiry et al., 2017a,d**).

After analysis of the results obtained in this experiment, the levels of *Boswellia serrata* resin supplementation was reduced to 1,5% in complete-diet group BSR1.5, 2%, in group BSR2, and 2,5% in group BSR2.5 (**Kiczorowska et al., 2016a; Al-Yasiry et al., 2017b,c**).

The body weight and feed intake were monitored on day 1, 10, 21, 35, and 42. Body weight gains and the FCR index were calculated for each rearing period. The birds' mortality rates were recorded daily; the weight of dead broiler chickens was used to adjust average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI), and FCR.

Twenty birds (10 females and 10 males) characterized by body weight close to the average body weight in the group were selected from every group for slaughter by decapitation. The dissection analysis involved selection of 1 male and 1 female from each cage, separation of the gastrointestinal tract, and determination of the weight of the proventriculus and gizzard. Additionally, the length of the duodenum and jejunum as well as the total length of the intestines were measured.

The tissue samples of breast muscle, drumstick muscle, and liver were harvested immediately after slaughter, frozen at a temperature of -18°C, and stored until chemical analyses. The muscles used in the analyses were devoid of skin with the subcutaneous fat tissue. Three replicates of each sample were analyzed and the mean value was used in the data

analyses.

RESEARCH METHODOLOGY

CHEMICAL ANALYSIS

BASIC NUTRIENTS IN MIXTURES, *BOSWELLIA SERRATA* RESIN, AND MEAT

The content of basic nutrients was determined using the AOAC method. Crude fiber, NDF, and ADF in the diets and droppings were determined using the ANKOM's proprietary 200 Filter Bag Technique in an Ankom 220 Fiber Analyzer (Ankom Technology, Fairport, NY, US). The content of nutrients in the meat samples was expressed in gram per 100 gram wet tissue. The energy value was estimated using net Atwater equivalents (considering protein and fat).

AMINO ACIDS

The amino acids were determined using an automatic amino acid analyzer (AAA400; Ingos, Prague, Czech Republic) after previous acid hydrolysis with 6M HCl (method 994.12). Cysteine and methionine were determined after oxidative hydrolysis.

MINERALS IN DIETS AND MEAT

Samples of the feed were dried at 100 °C for 24 h and ashed for 10 h at 550 °C. The ashed samples were dissolved in a nitric acid-perchloric acid diet (1:1) and diluted with deionized water for mineral analysis. Contents of Na and Ca were measured using flame atomic absorption spectrophotometry (Unicam 939/959 AA-6300; Shimadzu Corp., Tokyo, Japan) according to the Polish Standard, and total P content was determined colorimetrically with a spectrophotometer (Helios Alpha UV–vis; Spectronic Unicam, Leeds, United Kingdom).

In the tissues, the contents of Ca, Mg, Fe, Zn, and Cu were measured (three replicates of each sample) using flame atomic absorption spectrophotometry (FAAS) (Unicam 939/959AA-6300, Shimadzu Corp., Tokyo, Japan) according to the Polish Norm PN-EN ISO 6869. Tissue samples dried at 65°C for consecutive 24 h and then at 105°C for 24 h underwent combined mineralization in a muffle furnace at a temperature of 450°C for 12 h, using hydrogen peroxide as an oxidant. The resulting ash was dissolved in 1 M HNO₃. Calcium was determined at $\lambda=422.7$ nm, magnesium at $\lambda=285.2$ nm, iron at $\lambda=248.3$ nm, zinc at $\lambda=213.9$ nm, and copper at $\lambda=324.8$ nm. The method accuracy was evaluated using minerals determined in the Standard Reference Material chicken meat NCS ZC73016. Total P content was determined colorimetrically PN-76/R-64781. The content of macro- and microminerals in the samples was expressed in milligram per 100 gram wet tissue.

ACETYL-11-KETO- β -BOSWELLIC ACID (AKBA) IN *BOSWELLIA SERRATA* RESIN

Milled resin samples (1.0 g) were sonicated twice with 15 mL of pure MeOH for 30 min. The supernatant solution was combined, filtered, and evaporated to dryness under vacuum. The residue was separated into 4 subfractions according to retention time (RT) on preparative HPLC. HPLC separation was carried out on an Agilent (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) XDB-C18 column (2.1 mm \times 150 mm, 5 μ m) (0.2 mL min⁻¹) using a mobile phase of acetonitrile and water, each containing 0.01% acetic acid. The injection volume of each sample was 10 μ L. Each sample was prepared in triplicate.

DIGESTIBILITY ASSAYS

Nutrient digestibility was assessed with a direct balance method in 80 birds, i.e. 16 from each experimental group (4 replications with 4 birds) at the final fattening stage with the finisher mixture. The content of dry matter and organic matter was determined in collected droppings. The dry matter and organic matter digestibility ratios and the content of nitrogen-corrected metabolizable energy (ME_n) were calculated for each mixture according to formulas given in the European Table of Energy Values for Poultry Feedstuffs. The content of basic nutrients (dry matter, crude ash, crude protein, crude fat, and crude fiber) in the feed mixtures and in the *Boswellia serrata* resin used in the experiments was determined in accordance with standard AOAC procedures.

HISTOMORPHOMETRIC MEASUREMENTS OF INTESTINES

The intestinal samples collected during the dissection were weighed, diluted with PBS, and homogenized (Stomacher BagMixer 400, Interscience, Holland). Next, supernatant samples were fixed for 16 h at 4° C in paraformaldehyde (Sigma). The suspension was homogenized again with glass beads (3 mm) for 5 min (Merck, Niemcy). The samples were centrifuged to obtain a supernatant (5000 x g/5 min) (MPW-350R Centrifuge, MPW Med Instruments, Poland), which was next placed on white polycarbonate membrane filters (pore size 0.2 μ m) (Milipore, Ireland). Samples for further analyses were stored at a temperature of -20°C.

Immediately after separation, intestinal samples were fixed in Bouin's solution (Gabe 1976). 10- μ m thick tissue samples were stained with hematoxylin and eosin (HE). Images from randomly selected duodenum and jejunum sections from each bird (ten from each section) were recorded with an Olympus DP-12 Digital camera equipped with a 20x magnification objective (Olympus Optical Co., Japan). The measurements of the intestinal structures were carried out using the Zeiss Axiovision LE ver.4.1 image-analysis program (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Berlin, Germany). The mean length and thickness of intestinal villi were calculated.

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS

The 3 samples of the small intestine collected during the dissection were weighed, diluted with phosphate buffered saline (PBS), and homogenized (Stomacher BagMixer 400; Interscience, Breda, the Netherlands). Next, the supernatant samples were fixed for 16 h at 4°C in paraformaldehyde (Sigma-Aldrich, Warsaw, Poland). The resultant suspension was homogenized again with glass balls (3 mm) for 5 min. (Merck, Darmstadt, Germany). Using centrifugation (5,000 x g for 5 min. at 4°C), eukaryotic cells and undigested food were removed (MPW-350R; MPW Medical Instruments, Warsaw, Poland). The resultant supernatant was placed on white polycarbonate membrane filters (pore size = 0.2 µm) (Milipore, Cork, Ireland) by means of sterile filter units (Nalgene, Lima, OH, US). Samples for further analyses were stored at a temperature of -20°C.

Using the fluorescence in situ hybridization method, microorganisms were determined with the following assays (Thermo Fisher Scientific, Ulm, Germany): for the Bacteria domain Eub338 5' -GCTGCCTCCCGTAGGAGT-3', for *Lactobacillus-Enterococcus*, Lab151 5' GGTATTAGCA / TCTGTTTCCA, for *Bifidobacterium* sp., Bif164 5' – CATCCGGCATTACCACCC, for *Salmonella* spp., Sal 5_-TGCGGTTATTAACCACAACA-3_; for Clostridiaceae, and Non- Eub338 5' -CGACGGAGGGCATCCTCA-3' for the negative control.

The total count of *Lactobacillus*, *Enterococcus*, and *Bifidobacterium* was identified using lysozyme diluted in TE-His buffer (100 mM Tris-HCl [pH 8,0], 50 mM EDTA) placed on a membrane filter. After incubation for 10 min. at room temperature, the filters were dried and dehydrated in ethanol. 10 µL of hybridization buffer with indocarbocyanine (Cy3) at a concentration of 50 ng/µL were placed on the filters. Depending on the type of bacteria identified, hybridization was carried out for 90 min. at a temperature of 46°C or for 24 h at 35°C. The remains were flushed with the buffer (900 mM NaCl, 20 mM Tris / HCl, 5 mM EDTA, distilled water, 0,01% SDS) in a water bath at a temperature of 48°C or 37°C for Gram-positive bacteria. The samples were flushed with distilled water, dried at room temperature, stained with a DAPI solution (4'-6'-diamidino-2-phenylinole) at a concentration of 1 µg/mL (Porter and Feig, 1980), and covered with Citifluor and Vectashield immersion oils (4: 1). The samples were covered with slips and stored at -20°C for further microscopic analyses. The stained preparations were analyzed using an epifluorescent microscope (Olympus BX51; Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan) with the use of filters (BP 360 to 370 nm filter, excitation DM 400 nm, BA 420 nm) and Olympus Cell F software.

The count of *Escherichia coli*, *Clostridium* spp., and *Salmonella* sp. in the intestines was determined by culturing colonies. The 3 samples of the small intestine, including fragments of the intestine from the bile duct outlet to Meckel's diverticulum and from Meckel's diverticulum to the outlets of the ceca, weighed 10 grams each. The samples were placed in sterile stomacher bags (400 mL), suspended in 90 mL of 0.1% sterile buffered peptone water (CM0509; OXOID, Thermo Scientific, Lenexa, KS, US), and homogenized (Stomacher BagMixer 400; Interscience, Breda, the Netherlands).

Escherichia coli was determined on EMB Agar, Levine medium (E022; Biomaxima S.A. Centre for Microbiology Emapol, Gdańsk, Poland). The dishes were incubated at a temperature of 37°C for 24 h in an aerobic environment. To confirm the species, the selected colonies from each diluted sample were subjected to API 20E biochemical testing (BioMérieux Poland Sp. z o.o., Warsaw, Poland).

The count of *Clostridium* spp. was determined using the Fung double tube (FDT) method developed by Fung and Lee (1980). One vial of the SFP supplement (Biomaxima S.A. Centre for Microbiology Emapol) with kanamycin sulfate and polymyxin B sulfate and 25 mL of Egg Yolk Emulsion (EM 045; Biomaxima S.A. Centre for Microbiology Emapol) were added to 500 mL of SFP agar base (Biomaxima S.A. Centre for Microbiology Emapol) sterilized in an autoclave. The prepared base was placed into sterile tubes with a diameter of 1.5 cm, 25 mL each, and the test culture was maintained in a water bath at a temperature of 45°C. Next, the tested material was transferred into tubes with the SFP base. The tubes were incubated at a temperature of 37°C for 24 to 48 h in an anaerobic environment.

To confirm the species, the colony from each dilution was selected and examined with biochemical tests (RapID ANA II System; Thermo Scientific) and the results were read by means of the database (ERIC Web; Thermo Scientific). In the intestine samples, isolation was performed to determine the presence of *Salmonella* sp. on a poorly selective MacConkey medium (OXOID; Thermo Scientific) and a strongly selective SS medium (OXOID; Thermo Scientific). The dishes were incubated at a temperature of 37°C for 24 h.

BLOOD PARAMETERS

Ten hours prior to the above-mentioned activities, at the age of 42 days, chicks (2 broiler chickens/cage) selected randomly for blood sampling and slaughter were not given any feed but were provided with continuous access to water. Blood was sampled in the morning before the slaughter from the ulnar vein (*vena cutanea ulnaris*). Blood samples for the analyses were collected in tubes with an anticoagulant. Whole blood was analyzed within three hours after sampling. After placement of the samples on the hematological mixer, the red blood cell (RBC)

and leucocyte counts, lymphocyte count, monocyte count, and granulocyte count were determined by routine methods. The packed cell volume (PCV) and the hemoglobin content (HGB) were determined using a hematological analyzer ABACUS Junior Vet (Automatic cell counter, Diatron, Vienna, Austria). The analyses performed also consisted in determination of other parameters of the red blood cell system. The mean cell volume (MCV), mean cell hemoglobin (MCH), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) were calculated.

Plasma for analysis of the biochemical parameters was obtained by centrifugation of whole blood at 3000 rpm (603 x g) for 15 min in a laboratory centrifuge (MPW-350R, MPW Medical Instruments, Warsaw, Poland) at a temperature of 4 °C. Plasma without signs of hemolysis was analyzed within four hours after sampling and the contents the glucose, total protein, albumin, globulins, creatinine, uric acid, and blood urea nitrogen were determined along with the activity of the following enzymes: alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), and gamma glutamyl-transferase (GGT). Elements were determined in blood plasma with colorimetric methods using reagent kits in accordance with the manufacturer's protocol (BioMaxima, Lublin, Poland; Hydrex Diagnostics, Warsaw, Poland) and a random access biochemical analyzer Metrolab 2300 GL (Metrolab SA, Buenos Aires, Argentina). The analysis procedures were verified with the use of multiparametric control plasma (BioCal) as well as control plasma with a normal level (BioNorm) and a high level (BioPath) of parameters (BioMaxima, Lublin, Poland; Hydrex Diagnostics, Warsaw, Poland). The concentrations of immunoglobulins G, A, and M class in the plasma of the birds were quantified using an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) procedure on a BioTek ELx808™ Absorbance Microplate Reader (BioTek, Winooski, VT, US). The protocol was adapted from a commercially developed assay (Bethyl Laboratories Inc., Montgomery, TX, US). Lysozyme concentrations in plasma were measured. Briefly, the plasma samples were measured for their lysozyme activity in the lysis of *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma Aldrich, Poland). For this purpose, a series of lysozyme (Sigma Aldrich, Poland) concentrations dissolved in phosphate buffer (pH 6.2) was used to make the standard curve. The standard dilution series of crystalline lysozyme and serum samples were measured for their lysozyme activity in the lysis of *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma Aldrich, Poland).

STATISTICAL ANALYSIS

Each cage was used as a statistical unit. The data obtained were elaborated with the ANOVA method using one-way analysis of variance ($\alpha = 95$; $P < 0.05$) and calculating the mean values

for the treatments (\bar{x}) and the standard error of the mean with Statistica software (version 10; StatSoft, Tulsa, OK, US).

Linear and quadratic polynomial contrasts were used to evaluate the effects of the different dietary levels of *Boswellia serrata* resin. The direction and intensity of the relationships between the level of *Boswellia serrata* resin addition and the productivity, histomorphometric, and microbiological measurements were performed using Spearman's rank correlation coefficients. Pearson's correlation coefficients were used in the analysis of the productivity, hematological, biochemical, and immunological parameters in blood measurement and the basic nutrients and mineral elements, and to determine the relationships between each basic nutrient and mineral content in the broiler chicken meat and the level of *Boswellia serrata*.

PRESENTATION OF THE RESULTS OF THE SERIES OF PUBLICATIONS

Given the content of many bioactive compounds, phytobiotics have a positive impact on the rearing performance and health status of poultry as well as the dietary properties and even palatability of meat; therefore, they have gained increasing popularity in poultry production. *Boswellia serrata* resin represents such phytobiotics.

The major constituent of *Boswellia serrata* resin is oil (60%), with the highest levels of mono- and diterpenes. Terpenes with the highest bioactivity are represented by acetyl-11-keto- β -boswellic acid, acetyl-11-keto- β -boswellic acid, and acetyl- α -boswellic acid. As reported in the literature, *Boswellia serrata* resin has antibacterial, anti-inflammatory, analgesic, and even sedative properties. Special therapeutic activity has been observed in the case of *Boswellia serrata* and *Boswellia carteri* extracts. They actively stabilize the gastrointestinal environment and reduce inflammation processes in such gastric diseases as colonic ulcers or irritable bowel syndrome. Given these specific properties, *Boswellia serrata* resin can be used as a supplement of broiler chicken diets to improve the intestinal microbiome, chickens' health status, rearing efficiency, and the nutritional value of meat.

In the first stage of the research, a beneficial effect on the selected production parameters was observed at the 3, 4, or 5% levels of dietary supplementation with *Boswellia serrata* resin (BSR) (Kiczorowska et al., 2016b, Al-Yasiry et al., 2017a,d). The addition of BSR at a level of 3 and 4% to the mixtures resulted in an increase in ($P < 0,05$) body weight gain, feed conversion ratio, ether extract, ADF, organic matter, and energy digestibility in the diets. The best carcass quality with a high proportion of muscles ($P < 0,05$) and low abdominal

fat content ($P < 0,05$) was noted in broiler chickens from the BSR3 treatment (Al-Yasiry et al., 2017d).

Supplementation of the diets with the *Boswellia serrata* resin had a positive impact on the structure of the gastrointestinal tract and stabilized its microbiological status. The best carcass quality with a high proportion of muscles ($P < 0,05$) and low abdominal fat content ($P < 0,05$) was noted in broiler chickens from the BSR3 treatment. The proportion of the proventriculus in the metabolic weight was lower (quadratic, $P < 0,05$) and the jejunum was shorter ($P < 0,05$) in broiler chickens fed the diets containing BSR, compared to those fed the control diet. A decrease in the count of *Escherichia coli* and *Clostridium* spp. strains along with an increase in the count of *Lactobacillus* and *Enterococcus* was recorded in broiler chickens fed a diet with the addition of frankincense ($P < 0,05$) (Kiczorowska et al., 2016b).

Hematology, biochemistry, and some humoral immunity blood parameters were influenced by BSR, too. The content of uric acid as well as the AST ($P < 0,01$) and ALP ($P < 0,05$) activity in blood plasma decreased with BSR inclusion. Globulin increased in blood plasma ($P < 0,01$) along the increasing level of BSR addition. The blood IgA concentration was only affected by the BSR treatments ($P < 0,05$) (Al-Yasiry et al., 2017d).

The BSR dietary supplementation did not influence the proportion of breast and drumstick muscles in the carcass or their dry mass, total protein, and crude ash content. There was a positive effect of *Boswellia serrata* resin on the meat dietary value. The supplementation of broiler chicken diets with 3% (BSR3) and 4% (BSR4) decreased quadratically ($P < 0,05$) the content of crude fat and the calorific value of the breast and drumstick muscles. Among the minerals, an increased level of Ca (control vs. BSR diets, linear, $P < 0,05$) in the breast muscles and P (control vs. BSR diets, quadratic, $P < 0,05$) in the drumstick muscles was noted in the BSR3 and BSR4 chicken groups. The BSR supplementation reduced Cu (in the breast and drumstick muscles) ($P < 0,05$) and Fe retention (in the drumstick muscles) (C vs. BSR, linear, $P < 0,05$) (Al-Yasiry et al., 2017a).

Reduced BSR supplementation levels were used in experiment II (Kiczorowska et al., 2016a, Al-Yasiry et al., 2017b,c). In the entire experiment, the BSR treatments improved ($P < 0,05$) the feed intake and FCR at breeding days 22-35 (Al-Yasiry et al., 2017d). In the BSR2 and BSR2.5 treatments were observed differentiate in the digestibility of dry matter and organic matter in feed in grower and finisher diets. In these groups, the values of FCR and EEI were positively affected ($P < 0,05$). Those levels of broiler chickens diets BSR supplemented

effected in the best-quality carcass with a high proportion of muscles and low fat content (control vs. BSR2 and BSR2.5 diets, linear, $P<0,05$) (Al-Yasiry et al., 2017c).

The dietary supplementation with 2 and 2,5% of *Boswellia serrata* resin contributed to a significant increase in the length of duodenum and total intestine, and improvement in the structure of the jejunal wall was recorded as well ($P<0,05$). There was an increase in the count of *Lactobacillus* and *Enterococcus* in the intestinal contents in broilers fed with the *Boswellia serrata* resin supplemented diets (Kiczorowska et al., 2016a).

The supplementation levels reduced to 1.5, 2, and 2,5% BSR had an effect on the blood profile. The lymphocyte count increased linearly in blood ($P<0,05$) along the increasing amounts of BSR. The content of uric acid and aspartate aminotransferase activity in blood plasma decreased upon the BSR supplementation (control vs. BSR diets, linear, $P<0,05$; and control vs. BSR diets, linear, $P<0,01$, respectively). Among the analyzed immunoglobulin classes, only the content of IgA in the BSR groups differed significantly, compared to the control. The increasing share of BSR in the diet was negatively correlated with the IgA content ($r=-0,713$, $P=0,009$) (Al-Yasiry et al., 2017c).

The BRS supplementation of broiler chicken diets exerted an effect on the nutritional value and mineral contents in meat. The BSR2.5 treatments decreased linearly the ether extract in breast and drumstick muscles and the calorific value in drumstick muscles ($P<0,05$). An increased level of Ca in the breast and drumstick muscles (control vs. BSR diets, linear, $P<0,05$) and in liver (control vs. BSR diets, quadratic, $P<0,05$) as well as Mg in the drumstick muscles and liver (control vs. BSR diets, linear, $P<0,05$) was noted in the BSR2 and BSR2.5 treatments. Regardless the BSR supplementation level, reduction of Cu in the breast and drumstick muscles and liver ($P<0,05$) and Zn retention in the drumstick muscles (C vs. BSR, linear, $P<0,05$) were observed (Al-Yasiry et al., 2017b).

SUMMATION AND CONCLUSION

The biologically active compounds contained in phytobiotics have multi-faceted activity, which exerts a positive effect not only on the production parameters and birds' health status but also on the morphological structure and microbiome of birds' gastrointestinal tract. In animal husbandry, increasing attention is focused on meat quality in addition to enhancement of production performance. Meat quality is in 70% dependent on environmental factors, including nutrition. The quality, chemical composition, and nutritional value of feed and the type of additives used in broiler chicken nutrition have great importance for birds' health status and,

consequently, their production performance and the nutritional and dietary value of poultry meat. Based on the results of the investigations of the effect of the different levels of *Boswellia serrata* resin supplementation in broiler chicken nutrition, the following conclusions and recommendations have been formulated:

1. The addition of 2,5-3% of *Boswellia serrata* resin contributed to a significant increase in the duodenum and jejunum length, which resulted in increased digestibility of feed dry and organic matter.
2. *Boswellia serrata* supplementation in the first and second feeding stages positively influenced production parameters, e.g. body weight gain and FCR indices.
3. In all broiler chickens fed *Boswellia serrata* resin, the bacterial composition of the small intestine was stabilized by reduction of the populations of *Escherichia coli* and *Clostridium spp.* strains and increasing the abundance of *Lactobacillus* and *Enterococcus*.
4. Diet supplementation of *Boswellia serrata* resin at the level of 2,5 and 3% decreased the ether extract in the breast and drumstick muscles as well as their calorific value. BSR contributed to the increase in the Ca content in the analyzed tissues but decreased muscular Cu retention.
5. *Boswellia serrata* resin can be regarded as a safe and effective dietary additive in diets for broiler chickens. Optimal production performance, birds' health status indices, and the nutritional and dietary quality of meat were found as a result of *Boswellia serrata* resin supplementation at the levels of 2,5 and 3% of the feed mixture.

REFERENCES

- Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W 2017b. The *Boswellia serrata* resin in broiler chicken diets and mineral elements content and meat nutritional value. Biol. Trace Elem. Res. 179: 294–303,
- Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., 2017a. The nutritional value and content of mineral elements in meat of broiler chicken feed diets supplemented with *Boswellia serrata*. J. Elem. 22(3): 1027-1037
- Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., Kowalczyk-Vasilev E. 2017c. Growth performance, digestibility, hematology, biochemistry, and some humoral immunity

blood parameters of broiler chickens fed different levels of olibanum (*Boswellia serrata*) – Anim. Prod. Sci. DOI: [org/10.1071/AN16767](https://doi.org/10.1071/AN16767)

Al-Yasiry A.R.M., Kiczorowska B., Samolińska W., Kowalczyk-Vasilev E., Kowalczyk-Pecka D., 2017d. The effect of *Boswellia serrata* resin diets supplementation on production, hematological, biochemical and immunological parameters in broiler chickens. Animal, 11, 1890-1898. DOI: [10.1017/S1751731117000817](https://doi.org/10.1017/S1751731117000817).

Kiczorowska B., **Al-Yasiry A.R.M.**, Samolińska W., Pyzik E., Marek A., 2016b. The effect of dietary supplementation of the broiler chicken diet with *Boswellia serrata* resin on growth performance, digestibility, and gastrointestinal characteristics, morphology, and microbiota. Livest. Sci, 191, 117-124.

Kiczorowska B., Samolińska W., **Al-Yasiry A.R.M.**, Kowalczyk-Pecka D., 2016a. Effect of supplementation of mixtures for broiler chickens with *Boswellia serrata* on the condition of the gastrointestinal tract and rearing efficiency. Ann. Anim. Sci. 16 (3), 835-849.

Ali Ridha Mustafa Al-Yasiry

**Wpływ suplementacji żywicą *Boswellia serrata*
mieszanek dla kurcząt broilerów
na efektywność ich odchowu i status zdrowotny**

Autoreferat pracy doktorskiej

Praca wykonana w
Instytucie Żywienia Zwierząt i Bromatologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Promotor: Dr hab. inż. Bożena Kiczorowska
Promotor pomocniczy: Dr inż. Wioletta Samolińska

Recenzenci:
Dr hab. inż. Tomasz Niemiec
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Prof. dr hab. Sylwester Świątkiewicz
Instytut Zootechniki – PIB w Krakowie

Lublin, 2018

Wykaz publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej:

Cykl publikacji składa się z sześciu oryginalnych prac dotyczących wykorzystania żywicy *Boswellia serrata* w żywieniu kurcząt brojlerów oraz jej wpływu na podstawowe parametry produkcyjne, strawność suchej masy, masy organicznej oraz energii, budowę przewodu pokarmowego i jego kondycję mikrobiologiczną, parametry histomorfometryczne jelit, status zdrowotny ptaków oraz skład chemiczny mięśni piersiowych i udowych. W czterech pracach doktorant jest pierwszym autorem, w jednej jest drugim i w jednej jest trzecim autorem. Zgodnie z załączonymi deklaracjami współautorów udział doktoranta w publikacjach wynosi 61,67%. Łączna wartość oddziaływania współczynnika IF (impact factor czasopisma w roku wydania publikacji) prezentowanego cyklu prac wynosi 8,505, punktacja wg. MNiSW z roku opublikowania prac wynosi 140.

1. Kiczorowska B., **Al-Yasiry A.R.M.**, Samolińska W., Pyzik E., Marek A., 2016. The effect of dietary supplementation of the broiler chicken diet with *Boswellia serrata* resin on growth performance, digestibility, and gastrointestinal characteristics, morphology, and microbiota. *Livestock Science*, 191, 117-124. DOI: 10.1016/j.livsci.2016.07.019.

Liczba punktów w roku wydania publikacji: IF= 1,377; MNiSW = 30 pkt.

Indywidualny wkład w w/w publikacji (40%), realizacja badań, analiza wyników, opracowanie wstępu, opisanie wyników, dyskusji i sformułowanie wniosków.

2. **Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., Kowalczyk-Vasilev E., Kowalczyk-Pecka D., 2017. The effect of *Boswellia serrata* resin diets supplementation on production, hematological, biochemical and immunological parameters in broiler chickens. *Animal*, 11, 1890-1898. DOI: 10.1017/S1751731117000817.

Liczba punktów w roku wydania publikacji: IF= 1,921; MNiSW = 35 pkt.

Indywidualny wkład w w/w publikacji (60%), realizacja badań, analiza wyników, opracowanie wstępu, opisanie wyników, dyskusji i sformułowanie wniosków

3. **Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., 2017. The nutritional value and content of mineral elements in meat of broiler chicken feed diets supplemented with *Boswellia serrata*. *Journal of Elementology*, 22(3), 1027-1037, DOI: 10.5601/jelem.2017.22.1.1294.

Liczba punktów w roku wydania publikacji: IF= 0,700; MNiSW = 15 pkt.

Indywidualny wkład w w/w publikacji (80%), realizacja badań, analiza wyników, opracowanie wstępu, opisanie wyników, dyskusji i sformułowanie wniosków

4. Kiczorowska B., Samolińska W., **Al-Yasiry A.R.M.**, Kowalczyk-Pecka D., 2016. Effect of supplementation of mixtures for broiler chickens with *Boswellia serrata* on the condition of the gastrointestinal tract and rearing efficiency. *Annals of Animal Science*, 16, 3, 835-849. DOI: 10.1515/aoas-2016-0007

Liczba punktów w roku wydania publikacji: IF = 0,731; MNiSW = 15 pkt.

Indywidualny wkład w w/w publikacji (40%), realizacja badań, analiza wyników, opracowanie wstępu, opisanie wyników i sformułowanie wniosków.

5. **Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., Kowalczyk-Vasilev E. 2017. Growth performance, digestibility, hematology, biochemistry, and some humoral immunity blood parameters of broiler chickens fed different levels of olibanum (*Boswellia serrata*) – *Animal Production Science*, DOI: org/10.1071/AN16767

Liczba punktów w roku wydania publikacji: IF = 1,377; MNiSW = 30 pkt.

Indywidualny wkład w w/w publikacji (70%), realizacja badań, analiza wyników, opracowanie wstępu, opisanie wyników, dyskusji i sformułowanie wniosków, korekta artykułu po recenzjach.

6. **Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., 2017. The *Boswellia serrata* resin in broiler chicken diets and mineral elements content and meat nutritional value. *Biological Trace Element Research*, 179, 294–303, DOI: 10.1007/s12011-017-0966-6.

Liczba punktów w roku wydania publikacji: IF = 2,399; MNiSW = 15 pkt.

Indywidualny wkład w w/w publikacji (80%), realizacja badań, analiza wyników, opracowanie wstępu, opisanie wyników, dyskusji i sformułowanie wniosków, korekta artykułu po recenzjach.

Łącznie: IF = 8,505, punktacja MNiSW = 140

Udział w publikacjach = 61.67%

WSTĘP

Fitogeniczne dodatki paszowe, takie jak: zioła, czy przyprawy są coraz powszechniej wykorzystywane w produkcji drobiarskiej. Ze względu na zawarte w nich substancje biologicznie czynne działają wieloaspektowo prowadząc do poprawy kondycji zdrowotnej ptaków oraz zwiększenia efektywności ich odchowu.

Do tej grupy dodatków paszowych należy żywica *Boswellia serrata* dopuszczona do stosowania w produkcji drobiarskiej poprzez wpisanie do Europejskiego Rejestru Dodatków Paszowych. Kadzidłowiec *Boswellia serrata* pochodzi z Półwyspu Arabskiego, gdzie pozyskiwany jest z drzew z rodziny *Burseraceae*. W tradycyjnej medycynie kultur wschodnich uważany jest za środek przeciwzapalny, antyseptyczny, a nawet przeciwnowotworowy czy przeciwłękowy. Te właściwości terapeutyczne związane są z obecnością wielu substancji biologicznie czynnych. Głównym składnikiem żywicy jest olej. Zawiera on mono- (13%) i diterpeny (40%), a także octan etylu (21,4%), octan oktylu, (13,4%) oraz metylo anizol (7,6%). Wśród terpenów największą aktywnością biologiczną charakteryzują się kwasy boswelinowe. Lecznicze właściwości kadzidłowca zostały potwierdzone w licznych badaniach naukowych i dobrze udokumentowane w literaturze, jednak doniesienia te dotyczą głównie ludzi lub zwierząt laboratoryjnych.

Właściwości terapeutyczne żywicy *Boswellia serrata* można również wykorzystać w produkcji zwierzęcej, zwłaszcza drobiarskiej. Jest ona bardzo wymagająca pod względem kryteriów sanitarno-weterynaryjno-zootechnicznych uwzględniających szczególne potrzeby ptaków w zakresie hodowli, opieki i ich utrzymania. Zastosowanie żywicy *Boswellia serrata* jako dodatku paszowego do mieszanek może prowadzić do polepszenia efektywności produkcji poprzez stabilizowanie kondycji zdrowotnej ptaków. Stymulowanie suplementacją i kontrola statusu zdrowotnego kurcząt, w tym układu odpornościowego, przez monitorowanie wskaźników krwi może korzystnie odzwierciedlić zwiększenie strawności składników pokarmowych. Biorąc pod uwagę szerokie spektrum ewentualnego wpływu na organizm ptaków żywica *Boswellia serrata* może być cennym dodatkiem paszowym w hodowli drobiu.

Jednak możliwości jej wykorzystania w produkcji drobiarskiej są jeszcze stosunkowo mało poznane, chociaż pojedyncze badania nad tym problemem zostały już podjęte, a uzyskane wstępne wyniki potwierdzają korzystny wpływ suplementacji mieszanek żywicą *Boswellia serrata* na efektywność odchowu kurcząt brojlerów. Nadal jednak brakuje informacji o przydatności jej stosowania w produkcji drobiarskiej w aspekcie wpływu na status zdrowotny

ptaków, kondycję fizyczną i mikrobiologiczną ich przewodu pokarmowego oraz jakość odżywczą i dietetyczną mięsa.

CEL PRACY

Celem pracy było określenie wpływu różnych poziomów żywicy *Boswellia serrata* jako dodatku paszowego dla kurcząt brojlerów na efekty produkcyjne, status zdrowotny ptaków oraz wartość odżywczą uzyskanego mięsa.

HIPOTEZY BADAWCZE

5. Żywica *Boswellia serrata* może korzystnie wpływać na pobranie paszy, strawność składników pokarmowych oraz przyrosty kurcząt brojlerów.
6. Suplementacja mieszanek dla kurcząt broilerów *Boswellia serrata* może stymulować prawidłowy rozwój przewodu pokarmowego oraz stabilizować jego mikrobiom.
7. Dodatek kadzidłowca do paszy może poprawiać parametry hematologiczne i biochemiczne krwi kurcząt brojlerów.
8. Wykorzystanie żywicy *Boswellia serrata* w żywieniu kurcząt brojlerów może poprawić wskaźniki analizy rzeźnej tuszek oraz wartość odżywczą i dietetyczną mięsa drobiowego.

MATERIAŁ I METODY

UKŁAD BADAŃ

Przeprowadzono dwa doświadczenia, każde na 200 kurczętach Ross 308 podzielonych na 4 grupy (po 50 szt. o wyrównanej masie ciała), na które składały się 5 powtórzeń po 10 kurcząt (5 kurek i 5 kogutków) (Kiczorowska et al., 2016a; Kiczorowska et al., 2016b; Al-Yasiry et al., 2017a,b,c,d). Każde z nich trwało po 6 tygodni. Odchów prowadzony był w klatkach o powierzchni 1 m² przy stałym dostępie do paszy i wody oraz w pomieszczeniu o regulowanej temperaturze i wilgotności. Na 3 dni przed wstawieniem kurcząt podgrzano posadzkę do temperatury 29 °C, ściółkę do 30 °C, a powietrze do 32 °C, przy wilgotności względnej 63%. Takie warunki termiczne utrzymywano do 4 dni po wstawieniu kurcząt, a następnie stopniowo obniżono temperaturę powietrza do 20 °C. W kurniku prowadzono program świetlny, w którym regulowano długość dnia świetlnego zgodnie wytycznymi dotyczącymi hodowli brojlerów Ross 308:

1-3 dzień odchowu – 22h światła

4-7 dzień odchowu – 20h światła
8-14 dzień odchowu – 19h światła
15-28 dzień odchowu – 18h światła
29-36 dzień odchowu – 17h światła
37-42 dzień odchowu – 22h światła

Doświadczenia I (Nr. 27/2014) i II (Nr. 34/2015) prowadzono zgodnie ze zgodą II Komisji Lokalnej przy UP (**Kiczorowska et al., 2016a; Kiczorowska et al., 2016b; Al-Yasiry et al., 2017a,b,c,d**).

Od pierwszego dnia odchowu brojlery żywiono zgodnie z założeniami układu metodycznego, w którym czynnikiem doświadczalnym był zróżnicowany dodatek żywicy *Boswellia serrata*. Podstawowe mieszanki paszowe sporządzono ze śruty zbożowej (pszenna i kukurydziana) oraz poekstrakcyjnej śruty sojowej zgodnie z zaleceniami. W żywieniu kurcząt stosowano trzy rodzaje mieszanek: starter – od 1. do 21. dnia odchowu, grower – od 22. do 35. dnia oraz mieszankę finiszera od 36. do 42. dnia odchowu. Mieszankę starter podawano w formie kruszonki, natomiast mieszanki grower i finisher w postaci granulatu. Wszystkie mieszanki były izoenergetyczne i izobiałkowe (**Kiczorowska et al., 2016a; Kiczorowska et al., 2016b; Al-Yasiry et al., 2017a,b,c,d**).

W doświadczeniu I grupa kontrolna (BSR) żywiona była standardową mieszanką bez udziału żywicy. W grupie BSR3 włączono dodatek żywicy na poziomie 3% mieszanki pełnoporcjowej, w grupie BSR4 – 4,0%, a w grupie BSR5 – 5% (**Kiczorowska et al., 2016b; Al-Yasiry et al., 2017a,d**).

Po analizie uzyskanych wyników zdecydowano się w doświadczeniu II obniżyć poziomy suplementowanej żywicy *Boswellia serrata* do 1,5% mieszanki pełnoporcjowej w grupie BSR1.5, 2%, w grupie BSR2 i 2,5% w grupie BSR2.5 (**Kiczorowska et al., 2016a; Al-Yasiry et al., 2017b,c**).

Masę ciała i pobranie paszy monitorowano w 1., 10., 21., 35. i 42 dniu życia. Dla każdego okresu odchowu obliczono przyrosty masy ciała i wskaźnik wykorzystania paszy (FCR). Codziennie odnotowywano upadki ptaków, a masę ciała martwych kurcząt wykorzystano do skorygowania średnich przyrostów dziennych (ADG), średniego dziennego pobrania paszy (ADFI) i wartości wskaźnika FCR.

Do uboju, przez dekapitację, wybrano z każdej grupy po 20 ptaków (10 kurek i 10 kogutków) o masie ciała zbliżonej do średniej w grupie. Przeprowadzono analizę dysekcyjną, podczas której wybrano 1 kogutka i 1 kurkę z każdej klatki, od których wypreparowano przewód pokarmowy oraz określono masę żołądka gruczołowego i mięśniowego. Zmierzono

również długość dwunastnicy, jelita czczego oraz całkowitą długość jelit.

Próbki tkanek mięśni piersiowych, mięśni podudzia i wątroby zebrano natychmiast po uboju, zamrożono w temperaturze $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ i przechowywano do czasu wykonania analiz chemicznych. Analizom chemicznym poddano mięśnie pozbawione skóry i podskórnej tkanki tłuszczowej. Oznaczenia przeprowadzono w trzech powtórzeniach, których średnią wartość wykorzystano w analizie danych.

METODY BADAŃ

ANALIZY CHEMICZNE

SKŁAD PODSTAWOWY MIESZANEK, ŻYWICY *BOSWELLIA SERRATA* I MIĘSA

Zawartość podstawowych składników pokarmowych oznaczono zgodnie z metodami standardowymi. Włókno surowe i frakcje: NDF, and ADF w mieszankach i dodatku oznaczono z wykorzystaniem aparatu ANKOM's 200 Filter Bag Technique in Ankom 220 Fiber Analyzer (Ankom Technology, Fairport, USA). Zawartość składników pokarmowych i elementów mineralnych w próbkach mięśnia piersiowego i podudzia wyrażono w gramach na 100 gramów świeżej tkanki. Wartość energetyczna została oszacowana przy użyciu równoważników netto Atwater (biorąc pod uwagę białko i tłuszcz).

ANALIZA SKŁADU AMINOKWASOWEGO

Aminokwasy określono za pomocą automatycznego analizatora aminokwasów (AAA400, Ingos, Praga, Czechy) po uprzedniej hydrolizie kwasowej za pomocą 6M HCl (metoda 994.12). Cysteinę i metioninę oznaczono po hydrolizie poprzedzonej utlenianiem.

ANALIZA SKŁADU MINERALNEGO W MIESZANKACH I MIĘSIE

Próbki suszono w $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 24 h, a następnie spopieliano przez 10 h w $550\text{ }^{\circ}\text{C}$. Następnie próbki rozpuszczono w mieszaninie kwasu azotowego i nadchlorowego (1: 1) oraz rozcieńczono wodą dejonizowaną. Zawartość Na i Ca mierzono za pomocą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej atomowej (Unicam 939/959 AA-6300, Shimadzu Corp., Tokio, Japonia), zgodnie z Polską Normą (2002), i określono całkowitą zawartość P kolorymetrycznie (Polska Norma, 1976) spektrofotometrem (Helios Alpha UV-vis; Spectronic Unicam, Leeds, Wielka Brytania).

W tkankach mięśni piersiowych i podudzia oznaczono zawartość Ca, Mg, Fe, Zn i Cu (trzy powtórzenia dla każdej próbki) przy użyciu płomieniowej spektrofotometrii absorpcyjnej (FAAS) (Unicam 939 / 959AA-6300, Shimadzu Corp., Tokio, Japonia), zgodnie z polską normą PN-EN ISO 6869 (2002). Próbki suszono w temperaturze $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 24 godziny, a

następnie w temperaturze 105 ° C przez 24 godziny. Po wysuszeniu tkanki poddano mineralizacji w piecu mufowym w temperaturze 450 ° C przez 12 godzin, stosując nadtlenuk wodoru jako utleniacz. Otrzymany popiół rozpuszczono w 1 M HNO₃. Wapń oznaczono przy $\lambda = 422,7$ nm, magnez w $\lambda = 285,2$ nm, żelazo przy $\lambda = 248,3$ nm, cynk przy $\lambda = 213,9$ nm, a miedź w $\lambda = 324,8$ nm. Dokładność metody została oceniona poprzez porównanie otrzymanych wyników zawartości elementów mineralnych określonych w standardowym materiale referencyjnym - mięso drobiowe NCS ZC73016. Całkowitą zawartość P określono kolorymetrycznie jako PN-76 / R-64781 (1976). Zawartość makro- i mikroelementów w próbkach wyrażono w miligramach na 100 gram świeżych tkanek.

ZAWARTOŚĆ KWASU ACETYLO-11-KETO- β -BOSWELIOWEGO (AKBA) W ŻYWICY *BOSWELLIA SERRATA*

Próbki zmielonej żywicy (1,0 g) przepłukiwano dwukrotnie 15 ml czystym MeOH przez 30 min. Roztwór supernatantu, przesączono i odparowano do sucha w próżni. Pozostałość rozdzielono na 4 podfrakcje według czasu retencji na HPLC. Rozdział HPLC przeprowadzono na kolumnie Agilent (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) XDB-C18 (2,1 mm x 150 mm, 5 m) (0,2 ml min⁻¹), stosując ruchomą fazę acetonitrylu i wody, zawierającą 0,01% kwasu octowego. Każdą próbkę przygotowano i oznaczano w trzech powtórzeniach.

BADANIA STRAWNOŚCIOWE

Strawność składników pokarmowych oceniono metodą bilansową bezpośrednią na 80 ptakach – po 16szt. z każdej grupy doświadczalnej (4 powtórzenia po 4 ptaki) w końcowej fazie tuczu dla mieszanki finisz. W zebranych kałomoczach oznaczono zawartość suchej masy, masy organicznej oraz zawartość azotu. Dla każdej mieszanki paszowej określono stosunek strawności suchej masy i substancji organicznej oraz zawartość energii metabolicznej skorygowanej o azot (MEn) zgodnie ze wzorami podanymi w Europejskich Tabelach Wartości Energetycznych Pasz dla Drobiu. W mieszankach paszowych oraz żywicy *Boswellia serrata* stosowanych w doświadczeniach oznaczono zawartość podstawowych składników pokarmowych (sucha masa, popiół surowy, białko surowe, tłuszcz surowy, włókno surowe) według standardowych procedur AOAC.

POMIARY HISTOMORFOMETRYCZNE JELIT

Pobrane podczas dysekcji próbki jelit zważono, rozcieńczono PBS i zhomogenizowano (Stomacher BagMixer 400, Interscience, Holandia). Następnie próbki supernatantu utrwalano przez 16 godzin w 40C w paraformaldehydzie (Sigma). Uzyskaną zawiesinę poddano ponownej homogenizacji z kulkami szklanymi (3 mm) przez 5 min. (Merck, Niemcy). Próbki wirowano w

celu uzyskania supernatantu (5000 x g/5 min) (Wirówka MPW-350R, MPW Med Instruments, Polska.). Umieszczono go następnie na białych membranowych poliwęglanowych filtrach (o wielkości porów - 0,2 µm) (Milipore, Irlandia). Do dalszych analiz próby przechowano w temperaturze -20 °C.

Próbki jelit natychmiast po wypreparowaniu utrwalono w roztworze Bouin'a. Próbki tkanki o grubości 10µm barwiono hematoksyliną i eozyną. Obrazy z losowo wybranych odcinków dwunastnicy oraz jelita czczego dla każdego ptaka (dziesięć z każdej sekcji) zostały rejestrowane przy użyciu aparatu Olympus DP-12 Digital z obiektywem powiększającym 20x (Olympus Optical Co., Japonia). Pomiary struktur jelitowych przeprowadzono za pomocą programu analizy obrazu Zeiss Axiovision LE ver.4.1. (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Berlin, Niemcy). Wyliczono średnią długość i grubość kosmków jelitowych.

ANALIZY MIKROBIOLOGICZNE

Trzy próbki jelita cienkiego pobrane podczas dyssekcji zostały zważone, zalane solą fizjologiczną buforowaną fosforanem (PBS) i zhomogenizowane (Stomacher BagMixer 400, Interscience, Breda, Holandia). Następnie próbki supernatantu utrwalano przez 16 h w 4 ° C w paraformaldehydzie (Sigma-Aldrich, Warszawa, Polska). Uzyskaną zawiesinę ponownie homogenizowano wraz ze szklanymi kulkami (3 mm) przez 5 minut. (Merck, Darmstadt, Niemcy). Po odwirowaniu (5000 x g przez 5 minut w temperaturze 4 ° C) usunięto komórki eukariotyczne i niestrawiony pokarm (MPW-350R, MPW Medical Instruments, Warszawa, Polska). Powstały supernatant umieszczono na białych poliwęglanowych filtrach membranowych (wielkość porów = 0,2 µm) (Milipore, Cork, Irlandia) za pomocą sterylnych jednostek filtracyjnych (Nalgene, Lima, OH, USA). Tak przygotowane próbki do dalszych analiz przechowywano w temperaturze -20 ° C.

W metodzie fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ mikroorganizmy oznaczano z wykorzystaniem testów (Thermo Fisher Scientific, Ulm, Niemcy): dla grupy Bacteria, Eub338 5' -GCTGCCTCCCGTAGGAGT-3', dla Lactobacillus-Enterococcus, Lab151 5' GGTATTAGCA / TCTGTTTCCA, dla Bifidobacterium sp., Bif164 5' -CATCCGGCATTACCACCC, dla Salmonella spp., Sal 5_-TGCGGTTATTAACCACAACA-3_; dla Clostridiaceae, a dla kontroli ujemnej Non- Eub338 5' -CGACGGAGGGGCATCCTCA-3'.

Bakterie ogółem, *Lactobacillus* and *Enterococcus* oraz *Bifidobacterium* zidentyfikowano z zastosowaniem lizozymu rozcieńczonego buforem TE-His (100 mM Tris-HCl [pH 8,0], 50 mM EDTA) umieszczonego na filtrze membranowym. Po inkubacji przez 10 min w temperaturze pokojowej filtry wysuszono i odwodniono w etanolu. W zależności od

rodzaju identyfikowanych bakterii hybrydyzację prowadzono przez 90 minut w temperaturze 46 °C lub przez 24h w 35 °C. Resztki były wypłukiwane z buforem (900 mM NaCl, 20 mM Tris / HCl, 5 mM EDTA, woda destylowana, 0,01% SDS) w łaźni wodnej w temperaturze 48 °C lub 37 °C dla Gram-dodatnich bakterii. Próby płukano wodą destylowaną, suszono w temperaturze pokojowej i barwiono roztworem DAPI o stężeniu 1 µg/ml oraz pokrywano olejami immersyjnymi: Citifluor i Vectashield (4:1). Barwione preparaty analizowano z wykorzystaniem mikroskopu epifluorescencyjnego (Olympus BX51) przy użyciu filtrów (360-370 nm filtr BP, DM wzbudzenia 400 nm, 420 nm) BA i oprogramowania Olympus Cell F.

Liczba *Escherichia coli*, *Clostridium spp.* i *Salmonella sp.* w jelitach określono poprzez hodowle kolonii. Trzy próbki jelita cienkiego, w tym fragmenty jelita od ujścia przewodu żółciowego do uchyłka Meckela i uchyłka Meckela do ujścia jelita ślepego o łącznej masie 10 g. Próbkę umieszczono w sterylnych torebkach (stomacher 400 ml), zawieszono w 90 ml 0,1% jałowej buforowanej wody peptonowej (CM0509, OXOID, Thermo Scientific, Lenexa, KS, USA) i homogenizowano (Stomacher BagMixer 400, Interscience, Breda, Holandia).

Escherichia coli oznaczano na podłożu EMB Agar, pożywce Levine'a (E022; Biomaxima S.A. Center for Microbiology Emapol, Gdańsk, Polska). Szalki inkubowano w temperaturze 37 ° C przez 24 h w warunkach tlenowych. W celu potwierdzenia przynależności do gatunku, wybrane kolonie z każdej rozcieńczonej próbki poddano testom biochemicznym API 20E (BioMérieux Poland Sp. Z oo, Warszawa, Polska).

Liczba *Clostridium spp.* została określona za pomocą metody podwójnych fiolek Fung (FDT). Jedną fiolkę suplementu S.F.P. (Biomaxima SA Center for Microbiology Emapol) z siarczanem kanamycyny i polimyksyny B oraz 25 ml emulsji Egg Yolk Emulsion (EM 045, Centrum Biomaxima SA dla mikrobiologii Emapol) dodano do 500 ml podłoża agarowego SFP (Biomaxima SA Center for Microbiology Emapol) sterylizowanego w autoklawie. Przygotowane podłoże umieszczono w jałowych probówkach o średnicy 1,5 cm, po 25 ml, a kulturę testową utrzymywano w łaźni wodnej w temperaturze 45 ° C. Następnie badany materiał przeniesiono do probówek z bazą S.F.P. Probówki inkubowano w temperaturze 37 ° C przez 24 do 48 godzin w środowisku beztlenowym.

Aby potwierdzić gatunek, wybierano kolonię z każdego rozcieńczenia i badano za pomocą testów biochemicznych (system RapID ANA II, Thermo Scientific), a wyniki odczytano za pomocą bazy danych (ERIC Web, Thermo Scientific). W celu określenia obecności *Salmonella sp.* w próbkach jelita oznaczenia prowadzono na słabo selektywnej pożywce MacConkey (OXOID, Thermo Scientific) i silnie selektywnym podłożu SS (OXOID, Thermo Scientific). Płytki inkubowano w temperaturze 37 ° C przez 24 h.

PARAMETRY KRWI

Na dziesięć godzin przed ubojem, w wieku 42 dni, kurczęta brojlery (2 szt. z klatki) wybrane losowo do pobierania krwi i uboju nie otrzymywały żadnej paszy, ale miały stały dostęp do wody. Krew pobierano rano przed ubojem z żyły łokciowej (*vena cutanea ulnaris*). Próbkę krwi do analiz pobierano do probówek z antykoagulantem. Pełną krew analizowano w ciągu trzech godzin po pobraniu próbki. Liczbę czerwonych krwinek (RBC), leukocytów, limfocytów, monocytów i granulocytów określono rutynowymi metodami. Objętość komórek (PCV) i zawartość hemoglobiny (HGB) oznaczono za pomocą analizatora hematologicznego ABACUS Junior Vet (Automatic cell counter, Diatron, Wiedeń, Austria). Przeprowadzone analizy polegały również na określeniu innych parametrów układu czerwonych krwinek, jak: wskaźnik średniej objętości krwinki czerwonej (MCV), wskaźnik średniej masy hemoglobiny w krwince czerwonej (MCH) i średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach czerwonych (MCHC).

Osocze krwi do analizy parametrów biochemicznych uzyskano przez odwirowanie pełnej krwi przy 3000 obrotach na minutę (603 x g) przez 15 minut w wirówce laboratoryjnej (MPW-350R, MPW Medical Instruments, Warszawa, Polska) w temperaturze 4 ° C. Osocze bez objawów hemolizy analizowano w ciągu czterech godzin po pobraniu próbek, a zawartość glukozy, białka całkowitego, albumin, globulin, kreatyniny, kwasu moczowego i azotu mocznikowego we krwi określano wraz z aktywnością następujących enzymów: fosfatazy alkalicznej (ALP), aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST), dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i transferazy gamma-glutamylowej (GGT). Wszystkie analizowane elementy osocza krwi oznaczono metodami kolorymetrycznymi zgodnie z zaleceniami producenta przy użyciu specjalistycznych zestawów odczynników (BioMaxima, Lublin, Polska, Hydrex Diagnostics, Warszawa, Polska) oraz analizatora biochemicznego o bezpośrednim dostępie Metrolab 2300 GL (Metrolab SA, Buenos Aires, Argentine). Procedury analizy zweryfikowano za pomocą multikalibratora (BioCal) oraz osocza kontrolnego o normalnym (BioNorm) i wysokim poziomie (BioPath) parametrów (BioMaxima, Lublin, Polska, Hydrex Diagnostics, Warszawa, Polska). Stężenia immunoglobulin klasy G, A i M w osoczu krwi pobranej od kurcząt brojlerów oznaczano ilościowo za pomocą testu immunoenzymatycznego (ELISA) na czytniku BioTek ELx808™ Absorbance Microplate Reader (BioTek, Winooski, VT, USA). Protokół dostosowano wykorzystując test komercyjny (Bethyl Laboratories Inc., Montgomery, TX, USA). Stężenie lizozymu w osoczu mierzono stosując standardowe metody. Aktywność lizozymu w analizowanych próbkach osocza krwi kurcząt brojlerów mierzono wykorzystując szczep bakterii *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma Aldrich, Polska)

ANALIZA STATYSTYCZNA

Jako podstawową jednostkę statystyczną przyjęto jedną klatkę. Uzyskane dane opracowano metodą ANOVA, stosując jednoczynnikową analizę wariancji ($\alpha = 95$, $P < 0,05$) i obliczając średnie wartości dla zabiegów (\bar{x}) i błąd standardowy średniej z oprogramowaniem Statistica (wersja 10, Tulsa, OK, USA). W analizie statystycznej wykorzystano liniowe i kwadratowe kontrasty wielomianowe do oceny wpływu różnych poziomów żywieniowych żywicy *Boswellia serrata*.

Kierunek i intensywność obserwowanych zależności między poziomem suplementacji żywicą *Boswellia serrata* mieszanek paszowych a produktywnością, określonymi parametrami histomorfometrycznymi i mikrobiologicznymi określono za pomocą współczynników korelacji rang Spearmana. Do określenia relacji między poziomem żywicy *Boswellia serrata* w mieszankach paszowych a parametrami produkcyjnymi, hematologicznymi, biochemicznymi i immunologicznymi we krwi oraz podstawowymi składnikami pokarmowymi i elementami mineralnymi w tkankach mięśniowych wykorzystano współczynniki korelacji Pearsona.

OMÓWIENIE WYNIKÓW Z CYKLU PUBLIKACJI

Fitobiotyki, ze względu na zawartość licznych związków bioaktywnych korzystnie wpływają na efektywność odchowu i status zdrowotny drobiu, a także właściwości dietetyczne mięsa, a nawet jego walory smakowe przez co zyskują coraz większą pozycję w produkcji drobiarskiej. Do nich należy również żywica *Boswellia serrata*.

Głównym składnikiem żywicy kadzidłowców jest olej (60%), w którym w największych ilościach występują mono- i diterpeny. Wśród terpenów największą aktywnością biologiczną charakteryzują się: kwas 11-keto- β -acetylo-beta-bosweliowy, acetylo-11-keto- β -bosweliowy i kwas acetylo- α -bosweliowy. Literatura podaje, że żywica kadzidłowca ma działanie przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, przeciwbólowe, a nawet uspokajające. Szczególną przydatność terapeutyczną obserwuje się w przypadku wyciągów z *Boswellia serrata* i *Boswellia carteri*. Aktywnie stabilizują środowisko przewodu pokarmowego zmniejszając stany zapalne w jego chorobach, jak: owrzodzenia jelita grubego, czy zespół jelita drażliwego. Te swoiste właściwości żywicy *Boswellia serrata* predysponują ją do stosowania jako dodatku paszowego dla kurcząt brojlerów w celu poprawienia mikrobiomu jelit, statusu zdrowotnego kurcząt, efektywności odchowu, a nawet wartości odżywczej mięsa.

W pierwszym etapie badań, przy zastosowanych poziomach suplementacji mieszanek paszowych 3, 4 i 5% żywicą *Boswellia serrata* (BSR), obserwowano korzystny jej wpływ na

wybrane parametry produkcyjne (**Kiczorowska et al., 2016b, Al-Yasiry et al., 2017a,d**). Dodatek BSR do mieszanek w ilości 3 and 4%, wpłynął na wzrost ($P<0,05$) przyrostów masy ciała, wskaźnika FCR, tłuszczu surowego, frakcji włókna kwaśno-detergentowego (ADF), strawności masy organicznej i energii w dawkach pokarmowych. Najlepszą jakość tuszki z wysokim udziałem mięśni ($P<0,05$) i niską zawartością tłuszczu sadełkowego ($P<0,05$) obserwowano u kurcząt brojlerów z grupy BSR3 (**Al-Yasiry et al., 2017d**).

Suplementacja mieszanek paszowych żywicą *Boswellia serrata* pozytywnie wpływała na budowę przewodu pokarmowego oraz stabilizowała jego środowisko mikrobiologiczne. U kurcząt brojlerów żywionych mieszankami zawierającymi BSR w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono niższy udział żołądka gruczołowego w masie metabolicznej (trend kwadratowy, $P<0,05$) oraz krótsze jelita czcze ($P<0,05$). W jelitach kurcząt brojlerów żywionych paszą z suplementowaną kadzidłowcem notowano zmniejszenie liczby *Escherichia coli* i *Clostridium spp.* oraz wzrost liczby *Lactobacillus* i *Enterococcus* ($P<0,05$) (**Kiczorowska et al., 2016b**).

Fitobiotyk BSR miał również wpływ na hematologiczne i biochemiczne parametry krwi, a także odporność humoralną ptaków. Włączenie BSR do mieszanek paszowych dla kurcząt brojlerów wpłynęło na zmniejszenie zawartości kwasu moczowego, aktywności AST ($P<0,01$) i ALP ($P<0,05$) w osoczu krwi ptaków. Wraz ze zwiększaniem poziomu suplementacji kadzidłowcem w paszy obserwowano również zwiększenie poziomu globulin w osoczu krwi ($P<0,01$) oraz stężenia IgA we krwi ($P<0,05$) (**Al-Yasiry et al., 2017d**).

Suplementacja mieszanek paszowych badaną żywicą nie miała wpływu na wielkość udziału mięśni piersiowych i podudzia w tuszy, a także ilość zawartej w nich suchej masy, białka ogólnego i poziomu popiołu surowego. Jednocześnie obserwowano korzystny wpływ stosowania żywicy *Boswellia serrata* w żywieniu kurcząt brojlerów na wartość dietetyczną ich mięsa. Uzupełnienie mieszanek paszowych dla kurcząt brojlerów o 3% (BSR3) i 4% żywicy *Boswellia serrata* (BSR4) obniżyło (trend kwadratowy C vs. BSR, $P<0,05$) zawartość tłuszczu surowego oraz kaloryczność mięśni piersiowych i podudzia. Stosowanie tego dodatku paszowego w żywieniu spowodowało również zwiększenie ilości Ca (trend liniowy C vs. BSR, $P<0,05$) w mięśniach piersiowych i P (trend kwadratowy C vs. BSR, $P<0,05$) w mięśniach podudzia kurcząt z grup BSR3 i BSR4. Jednocześnie u kurcząt żywionych z dodatkiem fitobiotyku obserwowano mniejszą zawartość Cu w mięśniach piersiowych i udowych ($P<0,05$) oraz Fe w mięśniach podudzia (trend liniowy C vs. BSR, $P<0,05$) (**Al-Yasiry et al., 2017a**).

W doświadczeniu drugim zastosowano obniżone poziomy suplementacji BSR: 1,5, 2,0 i 2,5% (**Kiczorowska et al., 2016a, Al-Yasiry et al., 2017b,c**). W całym doświadczeniu dodatek

żywicy *Boswellia serrata* do mieszanek paszowych poprawił ($P < 0,05$) pobranie paszy i wartość wskaźnika FCR w drugim okresie odchowu (22-35 dni) (Al-Yasiry et al., 2017d). U kurcząt brojlerów z grup doświadczalnych BSR2 i BSR2.5 zaobserwowano zwiększenie strawności suchej masy i materii organicznej mieszanek paszowych: grower i finisz w porównaniu do kontroli. W tych grupach obserwowano również pozytywny wpływ suplementacji badanym fitobiotykiem na wartość FCR ($P < 0,05$). Ponadto wprowadzenie do mieszanek paszowych dla kurcząt brojlerów BSR pozwoliło uzyskać tuszki o najwyższej jakości charakteryzujące się dużą zawartością mięśni przy niskiej ilości tłuszczu (trend liniowy vs. BSR2 i BSR2.5, $P < 0,05$) (Al-Yasiry et al., 2017c).

Suplementacja mieszanek dla kurcząt broilerów żywicą *Boswellia serrata* w ilości 2 i 2,5% przyczyniła się do istotnego zwiększenia długości dwunastnicy i całego jelita oraz odnotowano poprawę struktury ściany jelita cienkiego ($P < 0,05$). Ponadto u brojlerów żywionych paszą z badanym fitobiotykiem zaobserwowano wzrost liczby *Lactobacillus* i *Enterococcus* w treści jelitowej (Kiczorowska et al., 2016a).

Obniżone poziomy suplementacji żywicą do 1,5, 2 and 2,5% istotnie wpływały również na parametry krwi kurcząt. Zwiększająca się ilość kadzidłowca w mieszance spowodowała liniowy wzrost liczby limfocytów we krwi ($P < 0,05$). Natomiast zawartość kwasu moczowego i aktywność aminotransferazy asparaginianowej w osoczu krwi uległa zmniejszeniu po suplementacji BSR (odpowiednio trend liniowy C vs. BSR, $P < 0,05$ i $P < 0,01$). W analizowanych klasach immunoglobulin jedynie zawartość IgA w grupach doświadczalnych, w których stosowano żywienie paszą z dodatkiem żywicy *Boswellia serrata*, różniła się istotnie w porównaniu do grupy kontrolnej. Rosnący udział BSR w doświadczalnych mieszankach paszowych był ujemnie skorelowany z zawartością IgA w krwi kurcząt ($r = -0,713$, $P = 0,009$) (Al-Yasiry et al., 2017c).

Zastosowanie w żywieniu kurcząt brojlerów kadzidłowca *Boswellia serrata* korzystnie wpłynęło na wartość odżywczą i zawartość składników mineralnych w mięśniach. Suplementacja mieszanek na poziomie 2,5% zmniejszyła zawartość tłuszczu mięśni piersiowych i podudzia oraz wartość kaloryczną mięśni podudzia ($P < 0,05$). W składzie mineralnym badanych tkanek kurcząt z grup doświadczalnych BSR2 i BSR2.5 stwierdzono zwiększony poziom Ca w mięśniach piersiowych i podudzia (trend liniowy C vs. BSR, $P < 0,05$) oraz w wątrobie (trendkwadratowy C vs. BSR, $P < 0,05$), a także Mg w mięśniach podudzia i wątrobie (trend liniowy C vs. BSR, $P < 0,05$). Niezależnie od poziomu badanego dodatku paszowego w mieszankach obserwowano zmniejszenie zawartości miedzi w mięśniach

piersiowych i podudzia oraz w wątrobie ($P < 0,05$), a także Zn w mięśniach podudzia (trend liniowy C vs. BSR, $P < 0,05$) (Al-Yasiry et al., 2017b).

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Substancje biologicznie czynne występujące w fitobiotykach działają wieloaspektowo, co korzystnie wpływa nie tylko na parametry produkcyjne, status zdrowotny ptaków, a także budowę morfologiczną i mikrobiom przewodu pokarmowego. W produkcji zwierzęcej oprócz zwiększania efektów produkcyjnych, coraz większą uwagę zwraca się na jakość mięsa. Zależy ona aż w 70% od czynników środowiskowych, do których zalicza się również żywienie. Jakość paszy, jej skład chemiczny i wartość odżywcza, a także rodzaj dodatków paszowych stosowanych w żywieniu kurcząt brojlerów ma istotne znaczenie dla kondycji zdrowotnej ptaków, a w konsekwencji efektywności ich produkcji, a także wartości odżywczej oraz dietetycznej mięsa drobiowego. Na podstawie wyników badań nad wpływem różnych poziomów żywicy *Boswellia serrata* w żywieniu kurcząt brojlerów sformułowano następujące wnioski i zalecenia:

1. Zastosowanie dodatku żywicy *Boswellia serrata* w ilości 2,5-3% wpłynęło na istotne zwiększenie długości dwunastnicy i jelita czczego, co w efekcie zwiększyło strawność suchej masy i masy organicznej paszy.
2. Suplementacja *Boswellia serrata*, w pierwszym i drugim okresie chowu, pozytywnie wpłynęła na efekty produkcyjne takie, jak: przyrosty masy ciała oraz wartość wskaźnika FCR.
3. U wszystkich kurcząt brojlerów żywionych z dodatkiem żywicy *Boswellia serrata* obserwowano stabilizację składu bakteryjnego treści jelita cienkiego poprzez zmniejszenie populacji szczepów *Escherichia coli* and *Clostridium spp.*, a zwiększenie obecności *Lactobacillus* and *Enterococcus*.
4. Suplementacja mieszanek paszowych żywicą *Boswellia serrata* na poziomie 2,5 and 3% wpłynęła na zwiększenie zawartości tłuszczu surowego w mięśniach piersiowych i podudzia, jak również i ich wartości kalorycznej. Dodatek BSR przyczynił się do wzrostu zawartości Ca w analizowanych tkankach, ale zmniejszył poziom retencji Cu w mięśniach.
5. Żywica *Boswellia serrata* może być rozpatrywana jako bezpieczny i efektywny dodatek paszowy w żywieniu kurcząt broilerów. Przy stosowaniu suplementacji mieszanek paszowych żywicą *Boswellia serrata* w ilości 2,5 i 3% uzyskano

optymalne wyniki produkcyjne, wskaźniki statusu zdrowotnego ptaków oraz jakość odżywczą i dietetyczną mięsa.

PIŚMIENNICTWO

- Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., 2016. Frankincense - therapeutic properties. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 70: 380-391.
- Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W 2017b. The *Boswellia serrata* resin in broiler chicken diets and mineral elements content and meat nutritional value. *Biol. Trace Elem. Res.* 179: 294–303,
- Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., 2017a. The nutritional value and content of mineral elements in meat of broiler chicken feed diets supplemented with *Boswellia serrata*. *J. Elem.* 22(3): 1027-1037
- Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., Kowalczyk-Vasilev E. 2017c. Growth performance, digestibility, hematology, biochemistry, and some humoral immunity blood parameters of broiler chickens fed different levels of olibanum (*Boswellia serrata*) – *Anim. Prod. Sci.* DOI: org/10.1071/AN16767
- Al-Yasiry A.R.M.**, Kiczorowska B., Samolińska W., Kowalczyk-Vasilev E., Kowalczyk-Pecka D., 2017d. The effect of *Boswellia serrata* resin diets supplementation on production, hematological, biochemical and immunological parameters in broiler chickens. *Animal*, 11, 1890-1898. DOI: 10.1017/S1751731117000817.
- Kiczorowska B., **Al-Yasiry A.R.M.**, Samolińska W., Pyzik E., Marek A., 2016b. The effect of dietary supplementation of the broiler chicken diet with *Boswellia serrata* resin on growth performance, digestibility, and gastrointestinal characteristics, morphology, and microbiota. *Livest. Sci.* 191, 117-124.
- Kiczorowska B., Samolińska W., **Al-Yasiry A.R.M.**, Kowalczyk-Pecka D., 2016a. Effect of supplementation of mixtures for broiler chickens with *Boswellia serrata* on the condition of the gastrointestinal tract and rearing efficiency. *Ann. Anim. Sci.* 16 (3), 835-849.