زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره سوم، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۲۰۴- ۱۹۱

مقاله پژوهشی

اثر افزودن آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز به جیره‌های دارای کنجاله کنجد بر قابلیت هضم مواد مغذی، ویژگی‌های استخوان، ایمنی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی

حسام‌الدین فرخی، روح‌اله عبداله‌پور*، وحید رضایی‌پور

گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، قائم‌شهر، ایران

*مسئول مکاتبات: abdullahpour.r@qaemiau.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2023.1965847.1418

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۸

چکیده

در این پژوهش تاثیر آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز در جیره‌های حاوی ۱۵ درصد کنجاله کنجد بر قابلیت هضم پروتئین، فسفر و کلسیم، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی استخوان، ایمنی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی بررسی شد. آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار خوراکی با شش تکرار انجام شد که در آن ۳۰۰ جوجه گوشتی نر یک‌روزه راس ۳۰۸ به مدت شش هفته پرورش یافتند. تیمارهای خوراکی شامل ۱- جیره پایه ذرت و کنجاله سویا (شاهد منفی)، ۲- جیره دارای ۱۵ درصد کنجاله کنجد (شاهد مثبت)، ۳- جیره دوم به اضافه آنزیم فیتاز، ٤- جیره دوم به اضافه آنزیم پروتئاز و ۵- جیره دوم به اضافه آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز بود. نتایج نشان داد قابلیت هضم ایلئومی پروتئین در تیمارهای حاوی آنزیم بالاتر بود (p < ۰/۰۵). قابلیت هضم کلسیم و فسفر نیز در تیمار حاوی هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز بالاتر بود (p < ۰/۰۵). تیمارهای آزمایشی فاقد تاثیر معنی‌دار بر ویسکوزیته نمونه ایلئومی دستگاه گوارش بودند (p > ۰/۰۵). تیمار دارای هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز مقاومت استخوان در برابر شکستگی را افزایش داد، همچنین تیمارهای حاوی آنزیم فیتاز (با یا بدون پروتئاز) غلظت فسفر و کلسیم استخوان را افزایش دادند (p < ۰/۰۵). وزن نسبی اندام‌های بورس و طحال تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (p > ۰/۰۵). غلظت کلسترول خون جوجه‌های گروه دریافت‌کننده هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز پایین‌تر از سایر گروه‌ها بود (p <۰/۰۵)، غلظت تری‌گلیسرید در گروه‌های دریافت‌کننده آنزیم فیتاز (با یا بدون پروتئاز) پایین‌تر از سایر گروه‌ها بود (p <۰/۰۵). کمترین غلظت پروتئین تام در تیمار دارای آنزیم پروتئاز مشاهده شد (p <۰/۰۵). غلظت کلسیم خون در تیمارهای خوراکی دارای آنزیم بالاتر بود (p <۰/۰۵). افزودن آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز به جیره جوجه‌های گوشتی که حاوی ۱۵ درصد کنجاله کنجد بود، اثرات مفیدی بر قابلیت هضم پروتئین، فسفر و کلسیم، مقاومت استخوان، و برخی فراسنجه‌های خونی داشت.

کلمات کلیدی: کنجاله کنجد، آنزیم، فیتاز، پروتئاز، جوجه گوشتی، قابلیت هضم.

مقدمه

جیره‌های خوراکی طیور در کشور ما بر پایه دانه ذرت و کنجاله سویا تنظیم می‌شوند. به دلیل وارداتی بودن عمده دانه‌های ذرت و سویا مصرفی و افزایش قیمت این اقلام، متخصصان تغذیه باید بتوانند جیره‌های خوراکی را بر أساس سایر منابع در دسترس تنظیم کنند، ولی در اغلب موارد به‌خاطر عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در آنها، گنجاندن آنها در جیره‌های خوراکی طیور، با محدودیت مواجه است. کنجاله کنجد، منبعی

غنی از اسیدهای آمینه ضروری و دارای متیونین بالایی است، با این حال، میزان بالای اسید فیتیک آن، می‌تواند سبب کاهش ارزش تغذیه‌ای کنجد در جوجه‌های گوشتی شود. استفاده از آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز، دسترسی زیستی به مواد مغذی خوراک (نشاسته، پروتئین، اسیدهای آمینه و مواد معدنی و غیره) را افزایش می‌دهد. یکی از موضوعات اصلی صنعت طیور، بهبود استفاده از فسفر توسط پرندگان و کاهش مقدار آن در فضولات است. مکمل فیتاز در خوراک بهترین راه‌حل برای غلبه بر این مشکلات است (۱۲). مطالعات نشان داده‌اند که گنجاندن فیتاز در جیره مرغ گوشتی، پیوند فسفر در فیتات را آزاد می‌کند و استفاده از مواد مغذی مانند انرژی، پروتئین و اسیدهای آمینه را بهبود می‌بخشد (36). مکمل‌سازی خوراک با آنزیم پروتئاز می‌تواند کمک کند تا پرنده به‌طور موثرتری از پروتئین خام جیره استفاده کند (12). پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات افزودن آنزیم فیتاز و پروتئاز به جیره‌های دارای ۱۵ درصد کنجاله کنجد بر قابلیت هضم پروتئین خام، کلسیم و فسفر، مقاومت استخوان، ایمنی و فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه راس ۳۰۸، در یک سالن تحقیقاتی واقع در شمال کشور (قائم‌شهر، ایران) به مدت ٤۲ روز پرورش داده شدند. جوجه‌ها به‌طور تصادفی به پنج تیمار خوراکی با شش تکرار تقسیم‌بندی شدند. تیمارهای خوراکی شامل ۱) جیره بر پایه ذرت و کنجاله سویا (شاهد منفی)، ۲) جیره پایه به علاوه کنجاله کنجد به میزان ۱۵ درصد جیره (شاهد مثبت)، ۳) جیره تیمار دوم مکمل‌شده با آنزیم فیتاز، ٤) جیره تیمار دوم مکمل‌شده با آنزیم پروتئاز، و ۵) جیره تیمار دوم مکمل‌شده با آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز بود. جیره‌های مورد مطالعه جهت براوردن نیازهای غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی تنظیم شد (جدول ۱) و به همراه آب در طول دوره آزمایش به صورت دسترسی آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. شرایط محیطی برای همه گروه‌های آزمایشی یکسان بود. برای اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد مغذی، به هر یک از جیره‌های آزمایشی، ۰/۳ درصد اکسید کروم اضافه شد. در روز ۲۸ پرورش، پنج قطعه جوجه از هر واحد آزمایشی انتخاب و در قفس با کف سیمی و دارای سینی‌های جمع‌آوری فضولات، قرار داده شد. هر قفس مجهز به دان‌خوری و آب‌خوری بود. این جوجه‌ها برای نمونه‌گیری از مواد گوارشی انتهای ایلئوم، در سن ٤۲ روزگی کشتار شدند. برای اندازه‌گیری ماده خشک، نمونه‌ها به مدت ٤۸ ساعت، در آون ۵۵ درجه قرار داده شدند. پروتئین خام نمونه‌ها توسط دستگاه کلدال و با روش AOAC (Association Ossicial Analyze Chemical) اندازه‌گیری شد (3)، و غلظت اکسید کروم نمونه‌های فضولات تعیین شد (4). برای اندازه‌گیری ویسکوزیته محتویات ایلئوم، نمونه‌ها پس از جمع‌آوری، در ۳۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت حاصل در ویال‌های دو سی‌سی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس با استفاده از ویسکومتر دیجیتال، ویسکوزیته نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (22).

برای اندازه‌گیری مقاومت استخوان، انرژی مورد نیاز برای شکستن استخوان توسط دستگاهی به دست می‌اید و بر سطح مقطع نمونه تقسیم می‌شود و میزان مقاومت استخوان در برابر ضربه بر حسب ژول بر سانتی‌متر مربع به‌دست می‌آید. پس از خشک و آسیاب کردن استخوان، مقدار خاکستر آن تندازه‌گیری شد، سپس با استفاده از دستگاه جذب اتمی و

اسپکتروفتومتری غلظت کلسیم و فسفر استخوان اندازه‌گیری شد (3).

برای بررسی متغیرهای ایمنی، در روز ۴۲ پرورش، ۲ پرنده از هر پن به صورت تصادفی انتخاب، و پس از توزین، ذبح و کالبدگشایی، وزن طحال و بورس فابریسیوس اندازه‌گیری شد. برای تعیین عیار آنتی‌بادی‌ها، از هر واحد آزمایشی یک پرنده خون‌گیری شد، و پس از استخراج سرم، عیار پادتن تولید شده علیه واکسن‌های نیوکاسل و گامبورو و پادتن علیه گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) با روش هماگلوتیناسیون اندازه‌گیری شد. همچنین از نمونه خون یک جوجه از هر واحد، غلظت فراسنجه‌های خونی شامل کلسترول، تری‌گلیسرید، فسفر و کلسیم با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون، با روش رنگ‌سنجی توسط اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. پس از اندازه‌گیری متغیرها، داده‌های به‌دست آمده با مدل طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم‌افزار R (38) تجزیه و تحلیل آماری شدند. مقایسه میانگین تیمارها از روش آزمون توکی با سطح‌معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت.

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی (درصد) و اجزای شیمیایی جیره‌های حاوی کنجاله کنجد در سه دوره پرورش

مواد خوراکی (٪)	آغازین (۱۰-۱ روزگی)	رشد (۲۴-۱۱ روزگی)	پایانی (۴۲-۲۵ روزگی)
دانه ذرت	۵۵/۶۰۵	۶۰/۰۷۹	۶۳/۶۲۶
کنجاله سویا	۲۳/۱۰۱	۱۸/۷۵۹	۱۴/۲۶۶
کنجاله کنجد	۱۵	۱۵	۱۵
روغن سویا	۱/۷۶	۲/۱۲	۳/۵۱۸
دی کلسیم فسفات	۱/۷۱۱	۱/۴۷۵	۱/۳۵۴
پودر صدف	۰/۵۳۳	۰/۴۵۸	۰/۳۷۲
نمک معمولی	۰/۳	۰/۲	۰/۲
مکمل های ویتامین *	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل های معدنی *	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ال-لیزین	۰/۶۵۲	۰/۵۷۴	۰/۵۵۸
DL-متیونین	۰/۱۶۳	۰/۱۲۹	۰/۱۰۸
ال- ترئونین	۰/۰۷۸	۰/۰۵۵	۰/۰۳۷
بیکربنات سدیم	۰/۳۲۲	۰/۳۹۵	۰/۳۶۱
کولین	۰/۲۷۵	۰/۲۵۶	۰/۱
انرژی متابولیزه (kcal /kg)	۲۹۵۰	۳۰۲۰	۳۱۵۰
پروتئین خام (٪)	۲۲/۶	۲۱	۱۹/۲
کلسیم (٪)	۰/۹۴	۰/۸۵	۰/۷۸
فسفیر قابل دسترس (٪)	۰/۴۷	۰/۴۲	۰/۳۹
لیزین (٪)	۱/۴۲	۱/۲۶	۱/۱۴
متیونین (٪)	۰/۵۵	۰/۵	۰/۴۶
ترئونین (٪)	۰/۹۵	۰/۸۶	۰/۷۷
سدیم (٪)	۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۲

* ویتامین‌ها و مواد معدنی در هر کیلوگرم جیره دارای: ویتامین A (ترانس رتینیل استات)، ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین D_3 (کوله‌کلسیفرول)، ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E (دی‌ال‌آلفاتوکوفرول استات)، ۱۰ میلی‌گرم؛ ویتامین K (منادیون بی سولفات)، ۱ میلی‌گرم؛ B_1 (تیامین هیدروکلراید)، ۱میلی‌گرم؛ ویتامین B_2 (ریبوفلاوین)، ۵ میلی‌گرم؛ B_6 (پیریدوکسین هیدروکلراید)، ۱/۵ میلی‌گرم؛ B_{12}، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۰/۸ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۳۰ میلی‌گرم؛ پنتوتونیک اسید؛ ۱۰ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۰۵ میلی‌گرم؛ منگنز، ۶۰ میلی‌گرم؛ روی، ۵۰ میلی‌گرم؛ آهن، ۳۰ میلی‌گرم؛ مس، ۴ میلی‌گرم؛ ید، ۳ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۱ میلی‌گرم؛ کبالت ۰/۱ میلی‌گرم

نتایج

جدول ۲ اثر تیمارهای آزمایشی را بر قابلیت هضم ظاهری ایلئومی کلسیم، فسفر و پروتئین خام و همچنین ویسکوزیته نشان می‌دهد. قابلیت هضم ایلئومی کلسیم و فسفر در تیمار حاوی تک‌آنزیم فیتاز تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت (p > ۰/۰۵)، اما در تیمار آزمایشی حاوی آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز قابلیت هضم ظاهری کلسیم و فسفر بیشتر از تیمارهای بدون آنزیم فیتاز بود (p < ۰/۰۵). قابلیت هضم ایلئومی پروتئین خام در تمام تیمارها متفاوت بود. قابلیت هضم پروتئین خام در تیمارهای حاوی آنزیم بیشتر از تیمارهای بدون آنزیم بود، به طوری که بیشترین مقدار آن در تیمار حاوی هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز مشاهده شد و کمترین قابلیت هضم پروتئین به تیمار پایه مربوط بود (p < ۰/۰۵). ویسکوزیته محتویات ایلئومی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی نبود (p > ۰/۰۵).

نتایج مربوط به متغیرهای اندازه‌گیری شده از استخوان ساق در جدول ۳ آمده است. وزن و طول استخوان تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی بود (p < ۰/۰۵). تفاوت وزن استخوان در تیمارهای حاوی هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز بیشتر از تیمار پایه بود (p < ۰/۰۵). تفاوت وزن استخوان در تیمارهای بدون آنزیم و تک‌آنزیم اختلاف معنی‌داری از یکدیگر نداشتند (p > ۰/۰۵).

طول استخوان در تیمارهای حاول آنزیم فیتاز (با یا بدون پروتئاز) بیشتر از سایر تیمارهای دارای کنجاله کنجد بود (p < ۰/۰۵)، هرچند اختلاف معنی‌داری با تیمار جیره پایه نداشت (p > ۰/۰۵).

قطر دیافیز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی نبود (۰/۰۵ > p). درصد خاکستر استخوان در تیمارهای آزمایشی حاوی آنزیم فیتاز (با یا بدون پروتئاز) بیش‌تر از تیمارهای فاقد آنزیم بود (p <۰/۰۵).

درصد فسفر و کلسیم در استخوان در تیمارهای دریافت‌کننده جیره‌های حاوی آنزیم، بالاتر از تیمارهای بدون آنزیم بود (p < ۰/۰۵)، تیمارهای دارای آنزیم فیتاز (با یا بدون پروتئاز) بالاترین درصد فسفر و کلسیم استخوان را داشتند (p <۰/۰۵).

از نظر مقاومت استخوان، در هر دو متغیر تنش افقی و عمودی، تیمارهای آزمایشی حاوی هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز، مقدار بالاتری در مقایسه با تیمارهای بدون آنزیم داشتند (p <۰/۰۵).

جدول ٤ تاثیر تیمارهای آزمایشی را بر متغیرهای ایمنی نشان می‌دهد. نتایج گویای آن است که تیمارهای آزمایشی در متغیرهای مقدار ایمنوگلوبولین M، عیار آنتی‌بادی ضد تزریق گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) در دو نوبت، تیتر واکسن‌ها علیه ویروس بیماری گامبورو و برونشیت اختلاف معنی‌داری داشتند (p <۰/۰۵)، در حالی‌که برای مقدار ایمنوگلوبولین G، تیتر واکسن‌ها علیه ویروس بیماری نیوکاسل و آنفلوانزا و وزن نسبی اندام‌های ایمنی بورس و طحال اختلافی نداشتند (p > ۰/۰۵).

مقدار ایمنوگلوبولین M در تیمار حاوی هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز بیشتر از تیمار پایه بود (p < ۰/۰۵). عیار آنتی‌بادی ضد SRBC در نوبت اول در تیمار حاوی هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز بیشتر از تیمارهای بدون آنزیم بود (p < ۰/۰۵). تیتر واکسن علیه گامبورو و برونشیت در تیمار دارای تک‌آنزیم پروتئاز پایین‌تر از تیمار پایه بود (p <۰/۰۵).

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی و آنزیم‌های کبدی در جدول ۵ آمده است. تیمارهای آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های خونی داشتند. غلظت کلسترول خون جوجه‌های گروه هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز پایین‌تر از سایر گروه‌ها بود (p < ۰/۰۵). غلظت تری‌گلیسرید در گروه‌های

دریافت‌کننده آنزیم فیتاز و یا هر دو آنزیم فیتاز و پروتئاز پایین‌تر از سایر گروه‌ها بود ($p < ۰/۰۵$). تیمار دارای یک نوع آنزیم پروتئاز کمترین میانگین غلظت پروتئین تام را داشت ($p < ۰/۰۵$)، پروتئین تام در تیمارهای دریافت‌کننده آنزیم، کمتر از تیمارهای بدون آنزیم بود ($p < ۰/۰۵$). پایین‌ترین غلظت کلسیم سرم خون در تیمار حاوی فقط آنزیم فیتاز مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$)، جوجه‌های مربوط به سه تیمار دریافت‌کننده آنزیم غلظت کلسیم کمتری را در مقایسه با گروه‌های بدون آنزیم داشتند ($p < ۰/۰۵$). غلظت آنزیم‌های کبدی آلانین ترانس‌آمیناز (ALT) و آسپارتات ترانس‌آمیناز (AST) در جوجه‌های مورد آزمایش تحت ناثیر تیمارهای آزمایشی نبود ($p < ۰/۰۵$)، غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در سرم خون جوجه‌هایی که جیره حاوی تک‌آنزیم پروتئاز را دریافت کردند، بالاتر از سایر گروه‌ها بود ($p < ۰/۰۵$).

جدول ۲- تاثیر تیمارهای خوراکی آزمایشی بر قابلیت هضم ظاهری کلسیم، فسفر و پروتئین خام و ویسکوزیته نمونه ایلئومی در جوجه گوشتی

	تیمارها					خطای معیار میانگین	معنی‌داری
	پایه	پایه + کنجد	فیتاز	پروتئاز	فیتاز+ پروتئاز		
قابلیت هضم کلسیم (٪)	۵/۵۰^{b}	۵۰/۷^{b}	۵۱/۸^{ab}	۵۰/۷^{b}	۵۲/۶^{a}	۰/۴۲	۰/۰۰۸
قابلیت هضم فسفر (٪)	۴۰/۹^{b}	۴۰/۳^{b}	۴۲/۲^{ab}	۴۱/۰^{b}	۴۴/۷۰^{a}	۰/۶۳	۰/۰۰۴
قابلیت هضم پروتئین خام (٪)	۶۴/۳^{e}	۶۵/۴^{d}	۶۶/۳^{c}	۶۸/۵^{b}	۶۹/۵^{a}	۰/۰۶	۰/۰۰۱
ویسکوزیته نمونه ایلئومی (سانتی‌پوآز)	۲/۲۲	۲/۲۵	۲/۲۵	۲/۲۳	۲/۲۳	۰/۰۹	۰/۹۹۸

تیمارها شامل، ۱) پایه: بر مبنای ذرت و کنجاله سویا، ۲) پایه + کنجد: تیمار پایه با ۱۵ درصد کنجاله کنجد، ۳) فیتاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم فیتاز، ۴) پروتئاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم پروتئاز، ۵) فیتاز + پروتئاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز. میانگین‌های با حروف الفبایی نامشابه دارای تفاوت معنی‌دار بودند.

جدول ۳- تاثیر تیمارهای خوراکی آزمایشی بر برخی ویژگی‌های استخوان ساق پا در جوجه گوشتی

	تیمارها					خطای معیار میانگین	معنی‌داری
	پایه	پایه + کنجد	فیتاز	پروتئاز	فیتاز+پروتئاز		
وزن خشک (گرم)	۶/۷۵^{b}	۶/۸۰^{ab}	۷/۴۲^{ab}	۶/۹۲^{ab}	۷/۴۸^{a}	۰/۱۷	۰/۰۱۱
طول استخوان (میلی‌متر)	۱۱۱^{ab}	۱۰۹^{b}	۱۱۷^{ab}	۱۰۹^{b}	۱۱۹^{a}	۲/۱	۰/۰۰۵
قطر دیافیز (میلی‌متر)	۲۳	۲۲/۷	۲۴	۲۳/۷	۲۴	۰/۰۷	۰/۵۹
خاکستر (٪)	۴۰/۳^{b}	۴۰/۳^{b}	۴۵/۰^{a}	۴۱/۳^{ab}	۴۵/۴^{a}	۱/۰۲	۰/۰۰۱
غلظت فسفر (٪)	۱۸/۰۹^{a}	۱۸/۲۳^{c}	۱۹/۷۵^{a}	۱۸/۸۲^{b}	۱۹/۸۱^{a}	۰/۳۲۹	۰/۰۰۰۱
غلظت کلسیم (٪)	۲۹/۲۰^{c}	۲۹/۴۳^{c}	۳۰/۷۷^{a}	۲۹/۷۳^{b}	۳۱/۴۳^{a}	۰/۶۵۱	۰/۰۰۱۴
تنش افقی (ژول/سانتی‌متر مربع)	۱۷۵/۸^{b}	۱۸۳/۶^{b}	۲۰۰/۹^{ab}	۱۹۲/۳^{ab}	۲۱۳/۸^{a}	۶/۷۲	۰/۰۰۵
تنش عمودی (ژول/سانتی‌متر مربع)	۴۶۳/۸^{d}	۵۳۵/۸^{c}	۶۵۳/۹^{b}	۵۵۱/۲^{c}	۶۷۱/۰^{a}	۴/۰۹	۰/۰۰۱

تیمارها شامل، ۱) پایه: بر مبنای ذرت و کنجاله سویا، ۲) پایه + کنجد: تیمار پایه با ۱۵ درصد کنجاله کنجد، ۳) فیتاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم فیتاز، ۴) پروتئاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم پروتئاز، ۵) فیتاز + پروتئاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز. میانگین‌های با حروف الفبایی نامشابه دارای تفاوت معنی‌دار بودند.

جدول ٤- تاثیر تیمارهای خوراکی بر برخی متغیرهای پاسخ ایمنی در جوجه گوشتی

	تیمارها					خطای معیار	معنی‌داری
	پایه	پایه + کنجد	فیتاز	پروتئاز	فیتاز+پروتئاز	میانگین	
ایمنوگلوبولین G (mg/dl)	٤/٢٩	٤/٣٦	٤/٤٦	٤/٢٣	٤/٤٦	٠/٠٧	٠/١١٥
ایمنوگلوبولین M (mg/dl)	$٣/١٢^{a}$	$٣/١٥^{ab}$	$٣/٣٧^{ab}$	$٣/٣٢^{ab}$	$٣/٤٠^{a}$	٠/١٦	٠/٠١
SRBC1	$١/٧٩^{bc}$	$١/٧٨^{c}$	$١/٩٨^{abc}$	$٢/٠٨^{ab}$	$٢/٢١^{a}$	٠/٠٧٢	٠/٠٠٧
SRBC2	$٣/٧٤^{c}$	$٣/٨٥^{abc}$	$٤/٠٦^{a}$	$٣/٧٦^{bc}$	$٤/٠٢^{ab}$	٠/٠٦٦	٠/٠٠٤
تیتر نیوکاسل	٤/١٩	٤/٢٢	٤/٥٢	٤/٤	٤/٤٨	٠/١١٨	٠/٢٩٥
تیتر گامبورو	١٤٦٢٠^{a}	١٤٠٥٠^{ab}	١٥٠٧٢^{a}	١٣٣٦٢^{b}	١٤٩٣٥^{a}	٢٣٦/٤	٠/٠٠٧
تیتر برونشیت	٣٦٨٧^{a}	٣١٩١^{ab}	٣٢٧٥^{ab}	٢٨٥٠^{b}	٣٥٤٦^{a}	١٥١/٥	٠/٠١٧
تیتر آنفلوانزا	٢/٧٣	٢/٧٥	٢/٩٩	٢/٩١	٢/٧	٠/١٦	٠/٧٦٦
وزن نسبی بورس (٪)	٠/٢٢	٠/١٨	٠/١٨	٠/١٩	٠/١٧	٠/٠١٣	٠/٠٨١
وزن نسبی طحال (٪)	٠/٢٧	٠/٢٤	٠/٢٦	٠/٢٥	٠/٢٣	٠/٠١٤	٠/٣٦٩

تیمارها شامل، ۱) پایه: بر مبنای ذرت و کنجاله سویا، ۲) پایه + کنجد: تیمار پایه با ۱۵ درصد کنجاله کنجد، ۳) فیتاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم فیتاز، ٤) پروتئاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم پروتئاز، ۵) فیتاز + پروتئاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز. میانگین‌های با حروف الفبایی نامشابه دارای تفاوت معنی‌دار بودند.

جدول ۵- تاثیر تیمارهای خوراکی آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی و آنزیم‌های کبدی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در جوجه گوشتی

	تیمارها					خطای معیار	معنی‌داری
	پایه	پایه + کنجد	فیتاز	پروتئاز	فیتاز+ پروتئاز	میانگین	
کلسترول	$١٣٣/٣^{c}$	$١٢٧/٨^{bc}$	$١٣٠/٠^{bc}$	$١٢٥/٠^{b}$	$١١٦/٨^{a}$	١/٥٢	٠/٠٠١
تری گلیسیرید	$٧٠/٨^{a}$	$٧٧/٢^{a}$	$٧٥/٠^{a}$	$٦١/٢^{b}$	$٥٩/٥^{b}$	١/٦٦	٠/٠٠٢
پروتئین تام	$٣/٦٥^{a}$	$٣/٧٥^{a}$	$٣/٣٠^{b}$	$٢/٨٣^{c}$	$٣/١٨^{b}$	٠/٠٥٢	٠/٠٠١
کلسیم	$١٠/٦^{a}$	$١٠/٧^{a}$	$٨/٠^{c}$	$٩/٣٣^{b}$	$٩/٦^{b}$	٠/١٧٧	٠/٠٠٨
فسفر	$٧/٧^{b}$	$٨/٤^{a}$	$٧/٣^{c}$	$٧/٦^{bc}$	$٧/٩^{b}$	٠/١٠١	٠/٠١٣
آلانین ترانس‌آمیناز	٧/٦٧	٧/٥	٨/١٧	٨/٨٣	٧/٦٧	٠/٣٨	٠/١١٩
آسپارتات ترانس‌امیناز	٢٥٨/٣	٢٨٣/٣	٢٦٧	٢٧٣/٧	٢٦٤/٣	٦/٩	٠/١٣٨
آلکالین فسفاتاز	٨٢٥٣^{b}	٨٤٥٥^{b}	٨٢٧٥^{b}	٩٠٦٣^{a}	٨٤٠١^{b}	١٢٣	٠/٠٠٤

تیمارها شامل، ۱) پایه: بر مبنای ذرت و کنجاله سویا، ۲) پایه + کنجد: تیمار پایه با ۱۵ درصد کنجاله کنجد، ۳) فیتاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم فیتاز، ٤) پروتئاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم پروتئاز، ۵) فیتاز + پروتئاز: جیره پایه + کنجد به همراه آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز. میانگین‌های با حروف الفبایی نامشابه دارای تفاوت معنی‌دار بودند.

بحث

پروتئین‌های جیره به‌طور کامل به‌وسیله جوجه‌های گوشتی استفاده نمی‌شوند. برای بهبود استفاده از اسیدهای آمینه موجود در پروتئین مواد خوراکی، بکار بردن آنزیم‌های پروتئولیتیک با فعالیت مناسب و پایدار در جیره غذایی طیور مفید است (27).

همسو با نتایج تحقیق حاضر، در پژوهشی بر روی جوجه‌های گوشتی مشخص شد که قابلیت هضم پروتئین در جیره‌های کم پروتئین با افزودن آنزیم پروتئاز بهبود می‌یابد (2). در توجیه تأثیر مثبت آنزیم پروتئاز بر قابلیت هضم پروتئین گفته شده که این

آنزیم ممکن است عوامل ضدتغذیه‌ای مانند مهارکننده‌های پروتئاز را خنثی کند (7).

افزودن توام آنزیم‌های پروتئاز و فیتاز به جیره ضریب هضم روده‌ای پروتئین خام، کلسیم و فسفر را در جوجه‌های گوشتی افزایش داد. این نتایج با یافته‌های Olukosi و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد که نشان دادند پروتئاز جیره، به صورت جداگانه یا در ترکیب با مکمل فیتاز، قابلیت هضم مواد مغذی را در جوجه‌های گوشتی افزایش داد که جیره‌های غذایی مبتنی بر کنجاله ذرت و سویا دریافت کرده بودند (30). در مطالعات دیگر نیز ضریب قابلیت هضم پروتئین بالاتر در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی پروتئاز اگزوژن یا آنزیم‌های فیتاز مشاهده شد (7).

مفید بودن فیتاز برای بهبود قابلیت هضم فسفر و کلسیم در تغذیه طیور پذیرفته شده است و تعداد قابل‌توجهی از گزارش‌های علمی شواهد روشنی برای این اثرات ارائه می‌دهند (۱۸)، تأثیر مثبت فیتاز بر زیست‌فراهمی پروتئین، کلسیم و فسفر در جوجه‌های گوشتی نیز تائید شده است (32).

گزارش شده است در ترکیب شیمیایی کنجاله کنجد ۱/۳۲ درصد اسید فیتیک وجود دارد که باعث کاهش زیست‌فراهمی مواد معدنی و پروتئین در جوجه‌های گوشتی می‌شود (18).

Walters و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که افزودن فیتاز تأثیر بسیاری بر استفاده از مواد مغذی پرنده دارد و با افزایش غلظت فیتاز، بهبود بیشتری در قابلیت هضم فسفر مشاهده می‌شود که نشان می‌دهد قابلیت هضم فسفر ممکن است به آزادسازی و افزایش فسفر متصل به فیتات مرتبط باشد (۳۹).

نتایج یک مطالعه نشان داد که افزودن فیتاز به رژیم غذایی حاوی کنجاله کنجد در خوکچه، بر قابلیت هضم ظاهری روده‌ای پروتئین خام تأثیری نداشت، لیکن به طور قابل توجهی قابلیت هضم ظاهری کلسیم و فسفر را بهبود بخشید (15).

Tavares-Samay و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند در طی دوره رشد، آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز، قابلیت هضم ظاهری فسفر و کلسیم را در جوجه‌های گوشتی افزایش می‌دهند و در نتیجه موجب دفع کمتر این گروه از مواد مغذی در محیط می‌شوند (37). بطورکلی عملکرد آنزیم‌های فیتاز برای هیدرولیز فیتات و در نتیجه آزادسازی فسفر و سایر مواد مغذی در بسیاری از مطالعات به وضوح اثبات شده است (1). تا آنجا که به‌طور گسترده‌ای پذیرفته شده است که تجزیه اسید فیتیک، در دسترس بودن بسیاری از کاتیون‌ها و به دنبال آن ارزش غذایی را افزایش می‌دهد (17).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد تیمارهای خوراکی تاثیر معنی‌داری بر طول و وزن خشک استخوان داشتند، حال آنکه اثر معنی‌داری بر قطر دیافیز استخوان مشاهده نشد. همچنین مقاومت استخوان در جوجه‌های دریافت‌کننده آنزیم نسبت به گروه‌های شاهد بیشتر بود. این نتایج با نتایج بدست آمده از برخی تحقیقات (41) مطابقت دارد.

Ellen و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که جیره‌های حاوی فیتاز تاثیر بسزایی بر کانی‌سازی و استحکام درشت‌نی داشتند و موجب افزایش مقاومت استخوان‌های جوجه گوشتی برابر تخریب شدند (0). افزودن آنزیم فیتاز باکتریایی به جیره جوجه‌های گوشتی، با آزادسازی گروه فسفر از مولکول اسید فیتیک در دستگاه گوارش موجب افزایش زیست‌فراهمی فسفر و در نتیجه هضم، جذب و رسوب بیشتر فسفر در استخوان می‌شود (11). همچنین میزان فسفر استخوان در فرایند معدنی‌شدن و مقاومت استخوان اثر مهمی دارد (41). برخی محققان گزارش دادند استفاده از آنزیم فیتاز و افزایش

دسترسی فسفر، موجب افزایش مقاومت استخوان شد (10). همچنین گزارش شد که افزایش فسفر خون می‌تواند موجب افزایش مقاومت استخوان باشد (14). در تحقیق حاضر آنزیم فیتاز با یا بدون پروتئاز سبب افزایش معنی‌دار خاکستر استخوان شد.

Brenes و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند آنزیم فیتاز، موجب افزایش خاکستر درشت‌نی شد، که ممکن است با افزایش ابقای کلسیم، فسفر و روی مرتبط باشد (8). در گزارشی دیگر (۴۰)، اختلاف میانگین خاکستر استخوان بین گروه‌های دریافت‌کننده آنزیم فیتاز و تیمار شاهد معنی‌دار بود. تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارهای مختلف برای درصد خاکستر استخوان ممکن است با افزایش سطوح کلسیم و فسفر در دسترس خوراک و تجزیه مواد معدنی از کمپلکس فیتات و بالارفتن زیست فراهمی آنها و میزان هضم و جذب و ذخیره آنها در استخوان مرتبط باشد. Paiva و همکاران (۲۰۱۴) گزارش دادند جیره حاوی فیتاز در جوجه‌ها منجر به افزایش قابل‌توجه خاکستر درشت‌نی شد. در گزارش‌هایی (24) افزودن فیتاز به جیره باعث افزایش خاکستر، درصد کلسیم و شاخص‌های بیومتری درشت‌نی شد.

نتایج به‌دست‌امده نشان داد آنزیم‌های فیتاز، پروتئاز و فیتاز همراه با پروتئاز موجب افزایش غلظت کلسیم و فسفر استخوان شد. درواقع جیره‌های غذایی دارای فسفر کم موجب افزایش آزادسازی هورمون پاراتیروئید و تشدید یونیزه شدن کلسیم در پلاسما می‌شود. به دنبال اثر بازدارنده هورمون پاراتیروئید بر لوله‌های کلیوی، بازجذب فسفات کاهش یافته و متعاقب آن، جذب کلسیم از لوله‌های گوارشی افزایش می‌یابد. غلظت کلسیم و فسفر پلاسما از طریق جذب آنها از دستگاه گوارش، ذخیره یا پس‌گرفتن از استخوان، دفع از طریق مدفوع و ادرار یا بازجذب از کلیه‌ها تنظیم می‌شود، ایجاد تعادل کلسیم و فسفر با دخالت ویتامین D3 و اثرگذاری هورمون‌هایی مانند پاراتورمون و کلسی‌تونین بر روده کوچک، کلیه‌ها و استخوان انجام می‌شود (19).

وزن بورس و طحال (اندام‌های سیستم ایمنی پرنده) به عنوان شاخصی جهت ارزیابی سیستم ایمنی پرنده مورد استفاده قرار می‌گیرد. افزایش وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی به عنوان نشانه‌ای از تقویت سیستم ایمنی است (21). فیتاز، با افزایش وزن تیموس و افزایش آنتی‌بادی علیه واکسن و همچنین افزایش لنفوسیت‌ها منجر به بهبود پاسخ ایمنی جوجه‌ها می‌شود (۲۸). کمبود مواد غذایی در جیره یا عدم جذب مناسب آنها در سطح روده می‌تواند باعث کاهش سیستم ایمنی شود، بنابراین بهبود شرایط هضم و جذب از جمله تامین و افزایش انرژی قابل متابولیسم خوراک‌ها از طریق مصرف آنزیم‌ها می‌تواند به سبب قابلیت دسترسی بهتر به مواد مورد نیاز سیستم ایمنی، سبب ایجاد ایمنی مطلوب گردد (6). در یک مطالعه آنزیم فیتاز وزن نسبی بورس فابرسیوس جوجه‌های گوشتی را افزایش داد (25). هیدرولیز پروتئین‌های موجود در جیره توسط آنزیم و آزادسازی پپتیدها، منجر به افزایش وزن اندام‌های لنفاوی و بهبود ایمنی جوجه‌ها می‌شود، چرا که پپتیدها دارای نقش آنتی‌اکسیدانی قوی و تحریک‌کننده سیستم ایمنی بدن جوجه‌های گوشتی هستند (16). در یک مطالعه نشان داده شد که استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره سبب بهبود عملکرد ایمنی جوجه‌ها شد (27). همچنین Liu و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند که افزودن فیتاز میکروبی منجر به افزایش پادتن ترشح شده بر علیه SRBC و همچنین افزایش چشمگیر آنتی‌بادی علیه واکسن شد، همچنین در مطالعه آنها استفاده از فیتاز میکروبی منجر به افزایش لنفوسیت‌ها و آنتی‌بادی‌های سرمی و افزایش سلامت گوارش و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی شد (23).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مکمل‌های آنزیمی موجب کاهش غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید در مقایسه با تیمارهای شاهد منفی و مثبت شد. در پژوهشی گزارش شد که آنزیم فیتاز موجب افزایش غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون شد (29). در مطالعه‌ای مصرف کنجاله کنجد باعث کاهش کلسترول خون شد و افزودن آنزیم فیتاز به جیره‌های مصرفی اثر معنی‌داری بر فراسنجه‌های خونی نداشت (5). فیتات با تشکیل کمپلکس با نشاسته باعث غیرقابل استفاده شدن بخشی از نشاسته می‌شود و آنزیم فیتاز با شکستن این کمپلکس آن را آزاد کرده در نتیجه نشاسته حاصله می‌تواند به تری‌گلیسرید تبدیل شده و باعث افزایش تری‌گلیسرید خون شود که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی نداشت. که دلیل آن می‌تواند به‌خاطر کاهش قابلیت هضم فسفر در جیره‌های کم فسفر و کاهش زیست‌فراهمی فسفر برای تامین انرژی لازم جهت تشکیل تری‌گلیسرید باشد، در شرایطی که انرژی حاصل از گلوکز نتوانست این کمبود را جبران کند (35).

برواکی و همکاران (۲۰۱۹) با افزودن فیتاز به جیره، تفاوت معنی‌داری در میزان تری‌گلیسرید و کلسیم خون مشاهده نکردند، آنها علت نتایج متفاوت خود را به تفاوت منبع آنزیم فیتاز، مقدار آنزیم مصرفی و روش‌های اندازه‌گیری مرتبط دانستند (9).

در تحقیق حاضر استفاده از آنزیم‌ها در جیره جوجه‌های گوشتی موجب کاهش پروتئین تام شد. در تحقیقی مشخص شد افزودن آنزیم فیتاز به جیره، پروتئین تام در سرم خون تحت تاثیر قرار گرفت (26). کاهش غلظت پروتئین کل سرم می‌تواند به علت کاهش سنتز پروتئین به دلیل اختلالات کبدی، جذب نامطلوب در روده کوچک یا افزایش هدرروی پروتئین به علت مشکلات کلیوی و یا سوء تغذیه باشد (۲۹). در برخی گزارش‌ها، افزودن فیتاز به جیره تأثیر معنی‌داری بر میانگین غلظت پروتئین کل نداشت (11).

در این مطالعه، میزان غلظت کلسیم و فسفر در سرم خون تحت تاثیر آنزیم‌ها کاهش یافت. برخی پژوهش‌گران (9) طی تحقیقات خود با افزودن فیتاز به جیره، تفاوت معنی‌داری در میزان کلسیم و فسفر خون مشاهده نکردند. فیتات با تشکیل نمک‌های نامحلول، کلسیم، فسفر و پروتئین را غیرقابل دسترس می‌سازد. در شرایط اسیدی، گروه‌های فسفات اسید فیتیک با عوامل آمین انتهای پروتئین‌ها، پیوند الکترواستاتیکی برقرار می‌کنند، به این ترتیب یک ترکیب سه‌تایی پروتئین- کاتیون- فیتات تشکیل می‌شود که اثر منفی بر قابلیت هضم پروتئین و مواد معدنی دارد (۳۵). اسید فیتیک ممکن است بر پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه جیره غذایی اثر منفی داشته باشد و آنزیم‌های پروتئولیتیکی مانند پپسین و تریپسین را در شرایط محیطی روده مهار کند. در شرایط اسیدی گروه‌های فسفات فیتات می‌تواند با عوامل آمین اسیدهای آمینه لیزین، هیستیدین و آرژنین کمپلکس بسازند. در شرایط خنثی، عوامل کربوکسیل برخی اسیدهای آمینه، ممکن است به کمک فلزات دو یا سه‌ظرفیتی به فیتات وصل شوند و تشکیل مجموعه‌های فیتات-فلز-پروتئین باعث کاهش قابلیت هضم پروتئین شود، از طرفی آنزیم فیتاز از طریق کاهش تشکیل کمپلکس‌های دوگانه و سه‌گانه پروتئین با فیتات و مواد معدنی و همچنین کاهش اثر ممانعت‌کنندگی فیتات بر آنزیم‌های هضمی، قابلیت هضم پروتئین را افزایش داده در نتیجه غلظت پروتئین در سرم خون افزایش می‌یابد (35).

رضایی‌پور و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند، افزودن فیتاز موجب افزایش غلظت سرمی کلسیم و فسفر در بلدرچین ژاپنی شد (33). در گزارش‌هایی وجود فیتاز

در جیره جوجه‌های گوشتی میزان فسفر خون را افزایش داد (۱۱، ۲٤).

در پژوهش حاضر، مقادیر ALT و AST در گروه‌های آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار بودند. در حالی که ALP در تیمار حاوی پروتئاز با اختلاف معنی‌داری بیشترین از سایر گروه‌ها بود. نتایج یک پژوهش نشان داد که مکمل کردن جیره جوجه گوشتی با فیتاز میکروبی موجب کاهش آنزیم‌های ALP و ALT و افزایش آنزیم AST شد (29). از طرفی، در مطالعه Brenes و همکاران (۲۰۰۳) کاهش سطح فسفر جیره‌ها، فعالیت آنزیم ALP را افزایش داد (8). در مطالعه‌ای فعالیت ALP در خون جوجه‌های گوشتی تحت تاثیر افزودن آنزیم فیتاز قرار نگرفت (۳٤، ۳۹). احتمالا تفاوت روش‌های اندازه‌گیری فعالیت ایزوآنزیم‌های تشکیل‌دهنده ALP سرم باعث بدست آمدن این نتایج متفاوت شده است. کاهش سطح فسفر قابل دسترس خون به هر دلیل، آنزیم ALP را افزایش می‌دهد. بر همین منوال محققانی گزارش کردند که کاهش سطح فسفر قابل دسترس جیره، موجب افزایش آنزیم ALP شد (8).

دارامولا (۲۰۱۷) گزارش داد که افزایش قابلیت دسترسی فسفر طی استفاده از فیتاز ممکن است نیاز پرنده به استفاده از فسفاتازهای آندوژن را کاهش دهد، لذا با استفاده از فیتاز میزان آلکالین فسفاتاز خون کاهش می‌یابد (13). در گزارش نورمحمدی و همکاران (۱۳۹۲) افزودن آنزیم فیتاز به جیره طیور سبب کاهش غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز کبد شد (29).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بدست‌آمده، افزودن آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز به جیره‌های دارای کنجاله کنجد اثرات مفیدی بر قابلیت هضم پروتئین، فسفر و کلسیم، و همچنین استحکام استخوان و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی داشت. تفاوت نتایج مطالعات فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و شاخص‌های پاسخ ایمنی احتمالا متاثر از تفاوت منبع آنزیم، مقدار آنزیم مصرفی، چگونگی افزودن آنزیم به جیره و روش‌های اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون است. صنعت مرغداری ایران به واردات کنجاله سویا وابستگی زیادی دارد، و برای ارتقای امنیت غذایی در کشور لازم است از سایر منابع پروتئینی مانند کنجاله کنجد در کنار کنجاله سویا برای تغذیه طیور بهره گرفت. افزودن آنزیم‌های فیتاز و پروتئاز به خوراک طیور، استفاده از کنجاله کلزا در جیره جوجه گوشتی، تسهیل کرد.

منابع

1. Adeola O. 2010. Phosphorus equivalency value of an Escherichia coli phytase in the diets of White Pekin ducks. P*oultry Science*, 89(6):1199-206.

2. Angel C.R., Saylor W., Viera S.L., Ward N. 2011. Effects of a mono component protease on performance and protein utilization in seven-to twentytwo-day-old broiler chickens. P*oultry Science*, 90(10): 2281-2286

3. AOAC International. 2005. Official Methods of Analysis of AoAC International. 18th ed (Gaithersburg, MD, AOAC Int).

4. Ayaz M., Shivazad M., Shahir M., Hosseini S., Haji-Babaei A. 2014. Determination of Apparent and True Metabolizable Energy of Alfalfa meal for Ostrich via Chromic Oxide Marker and Total Collection Methods. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6(2):115-122. (In Persian)

5. Barsalani A., Rezaeipour V. 2017. Effects of different dietary protein and sesame meal levels supplemented with phytase on performance, carcass traits and

chickens. Animal Production Science, 57(2): 252–261.

13.Daramola O.T. 2017. Haematological parameters, serum metabolites and enzyme activities of broiler chicken fed with or without phytase. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*, 2(4): 1-7.

14. David L.S., Abdollahi M.R., Bedford M.R., Ravindran V. 2021. True ileal calcium digestibility in soybean meal and canola meal, and true ileal phosphorous digestibility in maize-soybean meal and maizecanola meal diets, without and with microbial phytase, for broiler growers and finishers. *British* p*oultry Science*, 62: 293-303.

15. De Souza TR, Escobar K, Aguilera G, Ramırez B, Mariscal-Land ın R. 2017. Sesame meal as the first protein source inpiglet starter diets and advantages of a phytase: a digestive study. *South African Journal of Animal Science*, 47:606-615.

16. Guo Y., Zhang G., Yuan J., Nie W. 2010. Effects of source and level of magnesium and vitamin E on prevention of hepatic peroxidation and oxidative deterioration of broiler meat. Animal Feed Science and Technology, 107:143-150.

17. Gupta RK, Gangoliya SS, Singh NK. 2015. Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *Journal of Food Science and Technology*, 52:676-684.

18. Hajimohammadi, A., Mottaghitalab, M., Hashemi, M. 2020. Influence of microbial fermentation processing of sesame meal and enzyme supplementation on broiler performances, *Italian Journal of Animal Science*, 19(1): 712-722.

19. Hassanabadi A., Nasirimoghadam H., Kermanshahi H., Danesh-Mesgaran M., 2009. The effect of microbial phytase on apparent digestibility of crude protein, amino acids, minerals and performance of female broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 1(2):9-17. (In Persian)

blood parameters of Japanese quail. *Animal Sciences Journal*, 30(114):157-168. (In Persian)

6. Boling S.D., Webel D.M., Mavromichalis I., Parsons C.M., Baker D.H. 2000. The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. *Journal of Animal Science*, 78:682-689.

7. Borda-Molina D, Zuber T, Siegert W, Camarinha-Silva A, Feuerstein D, Rodehutscord M. 2019. Effects of protease and phytase supplements on small intestinal microbiota and amino acid digestibility in broiler chickens. *Poultry Science,* 98:2906-2918.

8. Brenes A., Viveros A., Arija I., Centeno C., Pizarro M., Braro C. 2003. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology,* 110:201-219.

9. Brodacki A., Batkowska, J., Drabic, K., 2019. The impact of Phytase feed supplementation on serum parameters, carcass characteristics and tissue mineral composition in female turkey. P*oultry Science*, 83: 1.

10.Burton E.J., Scholey D.V., Belton D.J., Bedford M.R., Perry C.C. 2020. Efficacy and stability of a novel silica supplement for improving bone development in broilers, *British* P*oultry Science*, 61(6): 719-724.

11.Ciurescu G., Vasilachi A., Grosu H. 2020. Efficacy of microbial phytase on growth performance, carcass traits, bone mineralization, and blood biochemistry parameters in broiler turkeys fed raw chickpea (Cicer arietinum L., cv. Burnas) diets. *Journal of A*ppl*ied* P*oultry Research*, 29: 171-184.

12.Cowieson A., Lu H., Ajuwon K., Knap I., Adeola O. 2017. Interactive effects of dietary protein source and exogenous protease on growth performance, immune competence and jejunal health of broiler

parameters in broiler chickens. *Animal* P*roduction Research*, 7(1):67-80. (In Persian)

28. Nari N., Ghasemi, H.A., Hajkhodadadi I., Khaltabadi Farahani A.H. 2020. Intestinal microbial ecology, immune response, stress indicators, and gut morphology of male broiler chickens fed low-phosphorus diets supplemented with phytase, butyric acid, or Saccharomyces boulardii, *Livestock Science*, 234(1039750):1871-1413.

29. Nourmohammadi R., Hosseini S.M., Vakili M. 2013. Effect of citric acid and microbial phytase on ileal digestibility and serum enzyme activity in blood of broiler chickens. *Journal of Animal Science Research*, 23(1): 57-71. (In Persian)

30. Olukosi O.L., Walker R.L., Jos G.M., Houdijk J.G.M. .2019. Evaluation of the nutritive value of legume alternatives to soybean meal for broiler chickens. P*oultry Science*, 98(11):5778-578.

31. Paiva D., Walk C., McElroy A. 2014, Dietary calcium, phosphorus, and phytase effects on bird performance, intestinal morphology, mineral digestibility, and bone ash during a natural necrotic enteritis episode. P*oultry Science*, 93(11):2752-2762.

32. Ravindran Y., Hendriks W.H. 2003. Effects of microbial phytase produced by solid- state fermentation on the performance and nutrient utilisation of broilers fed maize-and wheat- based diets. *British* P*oultry Science*, 44: 710-718

33. Rezaeipour V., Barsalani A., Abdullahpour R. 2016. Effects of phytase supplementation on growth performance, jejunum morphology, liver health, and serum metabolites of Japanese quails fed sesame (*Sesamum indicum*) meal-based diets containing graded levels of protein; *Tropical Animal Health and* P*roduction*, 48(6):1141-1146.

34. Roberson K.D., Edwards H.M. 1994. Effects of ascorbic acid and 1, 25-

20. Imran M., Nazar M., Saif m., Ahsan Khan M., Sanaullah M., Vardan M., Javed O. 2016. Role of Enzymes in Animal Nutrition: A Review, P*SM Veterinary Research*, 1(2): 38-45.

21. Katanbaf M.N., Dunnington E.A., Siegel P.B. 1989. Restricted feeding in early and late feathering chickens. Growth and physiological responses. P*oultry Science*, 68: 344-351.

22. Lazaro R., Garcia M., Aranibar M.J., Mateos G.G. 2003. Effect of enzyme addition to wheat, barley and rye-based on nutrient digestibility and performance of laying hens. Br. P*oultry Science*, 44:256-265.

23. Liu T., She R., Wang K., Bao H., Zang Y., Luo D., Hu Y., Ding Y., Wang D., Peng K. 2008. Effect of rabbit sacculus rotundus antimicrobial peptides on the intestinal mucosal immunity in chicken. P*oultry Science*, 87: 250-254.

24. Manobhavan M., Elangovani A.V., Sridhar M., Shet D., Ajith S., Pal D.T., Gowda N.K.S. 2015. Effect of superdosing of phytase on growth performance, ileal digestability and bone characteristics in broiler fed corn-soya-based diets. *Journal of Animal* P*hysiology and Animal Nutrition*, 10:1-8.

25. Mohammadbagheri N., Najafi R. 2016, Study the Immune System and Carcass Characteristics of Broiler Chickens fed with Organic Acids and Phytase Enzyme Supplementation. *Research On Animal* P*roduction*. 6(12):61-69. (In Persian)

26. Mondal M.K., Panda S., Biswas P. 2007. Effect of microbial phytase in soybean meal based broiler diets containing low phosphorus. *International Journal of* P*oultry Science*, 6: 201-206.

27. Nabipour Afrouzi, H., Torbatinejad, N., Shams Shargh, M., Rezaei, M., 2018. Effect of corn gluten meal without processing and processed with protease enzyme at different times on performance, carcass characteristics and some blood

38. Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

39. Walters H.G., Coelho M., Coufal C. D., Lee J.T. 2019. Effects of Increasing Phytase Inclusion Levels on Broiler Performance, Nutrient Digestibility, and Bone Mineralization in Low-Phosphorus Diets, *Appl*ied P*oultry Research*, 28:1210-1225

40. Zaghari M., Bour Bour S., Rezaei M., Teymoori Yansari A., Riahi M., 2010. Effect of using nutrient equivalency of phytase on broiler chicks' performance. *Iranian Journal of animal Science*, 41(1):11-20. (In Persian)

41. Zanu H.K., Kheravii S.K., Morgan N. K., Bedford M.R., Swick R.A. 2020. Interactive effect of dietary calcium and phytase on broilerschallenged with subclinical necrotic enteritis: part 2. Gut permeability, phytate ester concentrations, jejunal gene expression, and intestinal morphology, P*oultry Science*, 99:4914-4928.

42. Zeller E., Schollenberger M., Witzig M., Shastak Y., K¨uhn I., Hoelzle L.E., Rodehutscord M. 2015. Interactions between supplemented mineral phosphorus dihydroxycholecalciferol on alkaline phosphatase and tibial dyschondroplasia in broiler chickens. *British* P*oultry Science*, 35: 763-773.

35. Saeedi Aval Noughabi K., Hassnabadi A., Nasiri Moghaddam H., Pournia K.A., 2015. Comparison Between the First Iranian Commercial Phytase and an Imported Phytas on the Performance, Blood Parameters and Nutrient Digestibility of Male Broiler Chicken Fed Different Dietary Phosphorous Levels. *Research On Animal* P*roduction*, 6(11): 60-70. (In Persian)

36. Selle P.H., Ravindran V. 2007. Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 135: 1-41.

37. Tavares-Samay A.M.A., Wilson Moreira D.J., Olímpio Palhares L., da Costa Lopes C., Bôa-Viagem Rabello C., Henrique da Silva Cavalcanti Coelho A. 2019. Determination of nutrient and energy values of cottonseed meal supplemented or not with phytase and protease for broiler chicks. *Brazilian Journal of Animal Science*,

and phytase on phytate hydrolysis and inositol phosphates in the small intestine of broilers; P*oultry Science*، 94:1018–1029.

The Effects of Phytase and Protease Supplementation in Diets Containing Seasame Meal on Nutrient Digestability, Bone Properties, Immunity and Blood Parameters in Broiler Chicken

Hesamoddin Farrokhi, Rohullah Abdullahpour*, Vahid Rezaeipour

Department of Animal Science, Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Qaemshahr, Iran

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of supplemented phytase and protease enzymes in diets containing 15% of sesame meal on digestibility, bone physicochemical properties, immunity and blood parameters in broiler chicken. An experiment was performed in a completely randomized design using five dietary treatments with six replicates in which 300 one-day-old Ross 308 commercial broiler chicks were reared for 6 weeks. Dietary treatments were 1) corn-soybean meal based diet (negative control) 2) a corn-soybean meal diet including 15% sesame meal (positive control), 3) positive control diet supplemented with phytase, 4) positive control diet supplemented with protease and 5) positive control diet supplemented with both phytase and protease enzymes. The results indicated that ileal digestibility for crude protein was increased in chicks treated with enzymes ($p < 0.05$). The ileal digestibility for calcium and phosphorus were higher in chicks fed both phytase and protease ($p < 0.05$). Experimental treatments had no significant effects on the viscosity of gastrointestinal ileal digesta ($p > 0.05$). Tibial bone breaking strength in chicks treated with both enzymes increased ($p < 0.05$), also treatments containing phytase (with or without protease) led to more bone calcium and phosphorus ($p < 0.05$). Experimental treatments had no significant effect on bursa and spleen weights ($p < 0.05$). Blood cholestrol concentration in chicks treated with both enzymes were decreased ($p < 0.05$). Phytase (with or without protease) in diet, decreased blood triglyceride concentration ($p < 0.05$). Lower total protein was in chicks fed protease ($p < 0.05$). Blood calcium concentration in chicks fed enzymes were higher ($p < 0.05$). Supplementing broiler chicken diets with phytase and protease containing 15% sesame meal, had beneficial effects on protein, calcium and phosphorus digestibility, bone resistance, and some blood parameters.

Keywords: Sesame Meal, Enzyme, Phytase, Protease, Broiler Chicken, Digestibility.