علوم دامی ایران
دورهٔ ۴۷، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۵ (ص ۴۴۰-۴۲۹) DOI: 10.22059/ijas.2016.59798

تأثیر کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای جیره‌های مختلف مکمل‌شده با آنزیم بر عملکرد، فعالیت آنزیمی، ریخت‌شناسی بافت روده و بیان ژن‌های انتقال‌دهندهٔ مواد مغذی و تولید موسین در رودهٔ باریک جوجه‌های گوشتی

اکبر یعقوب‌فر[1*]، مجید کلانتر[2] و فریبرز خواجعلی[3]
۱. استاد، مؤسسهٔ تحقیقات علوم دامی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۲. استادیار، مرکز تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی استان قم، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران و دانشجوی سابق دکتری، دانشگاه شهرکرد
۳. استاد، گروه علوم دامی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۳- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۲۳)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای جیره‌های مختلف مکمل‌شده با آنزیم یا بدون آن بر عملکرد و ویژگی‌های فیزیولوژیک جوجهٔ گوشتی آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با پنج تیمار در پنج تکرار (شمار ۲۵ قطعه در هر تکرار) با شمار ۶۲۵ قطعه جوجهٔ یک‌روزهٔ مخلوط رأس ۳۰۸ در دو مقطع ۱ تا ۲۱ روزگی و ۲۲ تا ۴۲ روزگی اجرا شد. تیمارها به ترتیب شامل شاهد، گندم، گندم با آنزیم، جو و جو با آنزیم بودند. بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد تأثیر جیره‌های مختلف بر صفت خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌ها در کل دورهٔ پرورش معنی‌دار و جیره‌های مکمل‌شده با آنزیم، میانگین‌های بهتری نسبت به جیره‌های بدون آنزیم داشتند ($p< ۰/۰۱$). تغییر اندازهٔ پرزهای روده در هر سه قسمت روده وجود داشت و جیره‌های گندم و جو بدون آنزیم باعث کاهش ارتفاع پرز، افزایش ضخامت و عمق کریپت شدند ($p< ۰/۰۱$). همچنین آن‌ها باعث افزایش فعالیت آنزیمی لوزالمعده و غلظت آنزیمی سرم شدند ($p< ۰/۰۱$)، اما مکمل‌سازی جیره‌ها با آنزیم باعث جبران این آسیب‌ها شد ($p< ۰/۰۱$). تغییر بیان ژن‌های انتقال‌دهندهٔ مواد مغذی و تولید موسین برای جیره‌های آزمایشی در رودهٔ باریک معنی‌دار بود ($p< ۰/۰۱$). گندم و جو بدون آنزیم بیشترین بیان ژن انتقال مواد مغذی و تولید موسین را داشتند اما مکمل‌سازی با آنزیم باعث کاهش این مقادیر شد ($p< ۰/۰۱$). در کل استفاده از جیره‌های با کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای مختلف بدون آنزیم باعث آسیب به عملکرد و صفات فیزیولوژیک جوجه‌ها شد، ولی مکمل‌سازی با آنزیم اثرگذاری منفی ایجادشده را خنثی کرد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، جوجهٔ گوشتی، ریخت‌شناسی روده، فعالیت آنزیمی، کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای.

Effect of different dietary enzyme supplemented non-starch polysaccharides on growth performance, villus morphology, enzyme activity and gene expression of nutrient transporters and mucin producer in the small intestine of broiler chickens

Akbar Yaghobfar[1*], Majid kalantar[2] and Fariborz Khajali[3]
1. Professor, Animal Science Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Animal Science Department of Agricultural Research Center of Qom, Agricultural Research, Education, and Extension Organization. Tehran, Iran, and former PhD Student of Shahrekord University, Shahrekord, Iran
3. Professor, Animal Science Department of Shahrekord University, Shahrekord, Iran
(Received: Jan. 13, 2015 - Accepted: Jul. 13, 2016)

ABSTRACT

This experiment was conducted to evaluate the effect of different dietary enzyme supplemented non-starch polysaccharides on growth and physiological traits of broilers. 625 one day old Ross-308 broiler chickens were allocated randomly to 5 treatments with 5 replicates using a CRD statistical design through 1 to 21 and 22 to 42 days of rearing period. Treatments were included control, wheat, wheat + enzyme, barley and barley + enzyme. According to the results, effect of various diets with different source of NSP on growth traits was significant and wheat or barley diets supplemented with enzymes had higher means than those without enzymes ($p<0.01$). Effect of various diets with different source of NSP supplemented with or without enzymes on villus morphology was significant ($p<0.01$). Wheat and barley without enzymes resulted in reducing villus height, adversely increasing villus width and crypt depth in three parts of intestine, but supplementation with enzymes restored the adverse effects ($p<0.01$). Wheat and barley without enzymes resulted in higher pancreatic enzyme activity and serum enzyme levels ($p<0.01$). Also these two diets resulted in higher gene expression for nutrient transporters and mucin producer in the intestine but supplementation with enzymes restored the situation ($p<0.01$). As a final result using of different source of non-starch polysaccharides without enzymes in this experiment resulted in destruction of broiler growth and physiological traits but supplementation with enzymes restored the undesirable effects.

Keywords: broilers, enzyme activity, gene expression, non-starch carbohydrate, villus morphology.

* Corresponding Author E-mail: yaghobfar@yahoo.com Tel: +98 9122082053

www.SID.ir

مقدمه

افزایش سطح مصرف گندم و جو در جیره‌های رایج پرندگان به دلیل چالش‌های تولید ذرت در سال‌های اخیر و حتی سال‌های آینده، پرهیزناپذیر بوده و باعث افزایش سطح کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای محتوی جیره‌ها و کاهش کارایی هضم و عملکرد تولیدی پرندگان خواهد شد (Nourmohammadi & Afazali, 2013; Cowieson *et al*., 2004). این اثرگذاری‌ها به دلیل وجود ترکیب‌های ضد مغذی مانند پنتوزان در گندم و بتا-گلوکان در جو به همراه فیبر و اسید فایتیک در این رقم‌ها است (Finnie *et al*., 2006; Ravindran *et al*., 1999). افزایش ترکیب‌های بالا در جیره‌ها افزون بر تغییر ویژگی‌های فیزیولوژیک و فعالیت آنزیمی دستگاه گوارش (Garcia *et al*., 2008; Silva & Smithard, 1996)، بر ساختار پرزهای روده (Viveros *et al*., 1994, Silva & Smithard, 2002)، ظرفیت جذب و انتقال مواد مغذی (Gilbert *et al*., 2007; 2008) و بیان ژن انتقال مواد مغذی از روده تأثیر مستقیم دارد (Ferraris, Gilbert *et al*., 2008 ; 2010, 2001). در سال‌های اخیر با پیشرفت کمی و کیفی در تولید آنزیم‌های اختصاصی برای تجزیهٔ انواع کربوهیدرات‌ها، استفاده از آن‌ها در جیرهٔ پرندگان افزایش چشم‌گیری پیدا کرده است (Slominski, 2011; Ravindran *et al*., 1999). تجزیهٔ آنزیمی این ترکیب‌ها باعث آزاد شدن مواد مغذی به دام افتاده در دیوارهٔ یاختهٔ گیاهی، کاهش گرانروی (ویسکوزیته) محتویات هضمی و افزایش درجهٔ انتشار مواد و تأثیر بیشتر آنزیم‌های درونی و انتقال مواد هضم‌شده به سطح جذب روده می‌شود (Ravindran *et al*., 1999, 2001). بهبود فرآیند هضم و جذب مواد مغذی ناشی از درجهٔ هضم بیشتر مواد در روده همراه با توسعهٔ فرآیندهای جذبی (Uni ; Silva, & Smithard 2002 *et al*., 2000) و افزایش بیان ژن‌های انتقال‌دهندهٔ مواد مغذی است (Gilbert *et al*., 2008, ; 2007; 2010). تغییرهای فیزیکوشیمیایی محیط روده به همراه تغییرهای ساختاری بافت پوششی و وجود متابولیت‌های جدید در این محیط، همگی بر کمیت و کیفیت بیان ژن‌های مؤثر در انتقال مواد مغذی از جمله گلوکز (Ferraris, 2001)، اسیدهای آمینه، پپتیدها (Gilbert *et al*., 2010 & 2008) و ژن‌های مؤثر در تولید موسین به‌عنوان مادهٔ اصلی ساخت لایهٔ مخاطی (موکوس) پوششی بافت روده تأثیر مستقیم دارند (Montagne *et al*., 2004; Smirnov *et al*., 2004).

میانگین نشاستهٔ کل، مقاوم و غیر مقاوم به ترتیب ۶۵/۰۸، ۰/۶۶ و ۶۳/۱۸۷ درصد و میزان آمیلوز، آمیلوپکتین و آرابینوزایلان‌ها به ترتیب ۲۰/۵۴، ۷۹/۴۶، ۴/۸۴ درصد در مادهٔ خشک در ۱۹ رقم مختلف گندم تولیدی درون کشور گزارش شده است. همچنین میزان بتاگلوکان کل، محلول و نامحلول رقم‌های مختلف گندم به ترتیب ۰/۵۸، ۰/۰۲۴ و ۰/۵۶ درصد بود. که میزان کربوهیدرات‌های غیر نشاستهٔ کل، محلول و نامحلول در رقم‌های گندم به ترتیب ۱۸/۳۹، ۱۶/۲۱ و ۱/۰۱۱ درصد در مادهٔ خشک نشان داده شد انرژی قابل سوخت‌وساز (متابولیسم)، کربوهیدرات‌های غیر نشاسته (آرابینوزایلان، محلول و نامحلول)، میزان نشاسته (نشاستهٔ مقاوم و نشاستهٔ غیر مقاوم)، بتاگلوکان (محلول و نامحلول) و قابلیت هضم نشاسته با گرانروی فضولات ناشی از مراحل هضمی ۱۹ رقم گندم ایران اختلاف آماری داشتند (Yaghobfar *et al*., 2012).

هدف این تحقیق بررسی تأثیر کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای بر صفات رشد، ریخت‌شناسی بافت روده، بیان ژن انتقال‌دهندهٔ مواد مغذی و تولید موسین در رودهٔ باریک و مقایسهٔ این اثرگذاری‌ها در جیره‌های با منابع مختلف غله‌ای با سطوح به نسبت بالا مکمل‌شده با آنزیم‌های با منشأ خارجی در سطوح کنترل‌شدهٔ انرژی و پروتئین، کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای و با در نظر گرفتن تعادل الکترولیتی جیره در جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

برای بررسی تأثیر جیره‌های با منابع مختلف کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای مکمل‌شده با آنزیم یا بدون آن بر عملکرد و ویژگی‌های فیزیولوژیک جوجهٔ گوشتی

Archive of SID

www.SID.ir

آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با پنج تیمار در پنج تکرار (شمار ۲۵ قطعه در هر تکرار) با شمار ۶۲۵ قطعه جوجهٔ یک روزهٔ مخلوط رأس ۳۰۸ در دو مقطع ۱ تا ۲۱ روزگی و ۲۲ تا ۴۲ روزگی اجرا شد. تیمارها به ترتیب شامل شاهد، گندم، گندم با آنزیم، جو و جو با آنزیم بودند. سطح گندم و جو در جیره‌ها در دورهٔ آغازین ۱۵ درصد و در دورهٔ پایانی ۲۰ درصد بود. میزان آنزیم به‌کاررفته در هر گرم آن ۱۰۰۰ واحد فعال فیتاز و ۱۸۰ واحد فعال مولتی‌گلایکاناز وجود داشت و در سطح ۰/۱ درصد در جیره‌ها استفاده شد. ترکیب‌های شیمیایی و میزان کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای نمونه‌های گندم، جو و جیره‌های آزمایشی در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده است، که بر پایهٔ روش‌های استاندارد (A.O.A.C, 2005) و کیت‌های آزمایشگاهی Megazyme تعیین شد (Yaghobfar *et al.*, 2012). همچنین ترکیب و مشخصات جیره‌ها در مقاطع مختلف پرورش نیز در جدول ۳ ارائه شده‌اند در همهٔ جیره‌ها سطح کل کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای تا حد امکان نزدیک به هم در نظر گرفته شد. سطح پروتئین، تراکم انرژی و توازن الکترولیتی جیره‌ها نیز متوازن شدند. به روش و منبع اندازه‌گیری کربوهیدرات‌ها نیز به‌صورت خلاصه اشاره شود.

جدول ۱. میزان کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای گندم و جو مورداستفاده در آزمایش (درصد)

Table 1. Non-Starch polysaccharide contents of wheat and barley used in trail (%)

Sample	Cellulose[1]	Hemi-cellulose[2]	Total NSP	Soluble NSP	Insoluble NSP	NSP + Lignin[3]	NFC[4]
Wheat	1.8	10.4	17.22	1.01	16.21	18.8	69.2
Barley	4.4	23.62	30.72	4.45	25.72	35.17	55.08

۱- سلولز = ADF–ADL، ۲- همی سلولز = NDF–ADF، ۳= پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای + لیگنین = کل فیبرجیره‌ای، ۴- کربوهیدرات‌های غیر فیبری =[100-(%NDF + %CP + %Fat + Ash)]

1.Cellulose= ADF – ADL, 2.Hemi-cellulose= NDF – ADF, 3.Dietary Fiber= Total NSP + Lignin, 4=Non-Fiber Carbohydrates = [100-(%NDF + %CP + %Fat + Ash)]

جدول ۲. میزان کل کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای محاسبه و اندازه‌گیری‌شدهٔ جیره‌های آزمایشی (درصد)

Table 2. Total measured and calculated Non-Starch polysaccharides of experimental diets (%)

Experimental diets	Wheat diet	Barley diet
	21 days	42 days
Total measured	19.78±1.05	22.20±2.5
Total calculated	18.74	21.27
Soluble calculated	2.66	2.97
Insoluble calculated	11.80	18.86
Total difference	1.04	0.93

صفات موردبررسی شامل عملکرد (خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی)، اندازه‌گیری ابعاد پرزهای روده، بررسی فعالیت آنزیمی لوزالمعده و غلظت آنزیم‌های سرم خون و بیان ژن انتقال‌دهندهٔ مواد مغذی و تولید موسین در رودهٔ باریک جوجه‌های گوشتی بودند. وزن‌کشی جوجه‌ها و اندازه‌گیری میزان مصرف خوراک، افزایش وزن زنده و ضریب تبدیل غذایی در پایان هر هفته و هر دوره انجام شد. در پایان دوره از هر واحد آزمایشی سه قطعه جوجه به‌صورت تصادفی انتخاب و پس از وزن‌کشی انفرادی، کشتار شدند تا اندازه‌گیری صفات یادشده روی این نمونه‌ها انجام شود.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آمیلاز (EC 3.2.1.1) و لیپاز (EC 3.1.1.3) لوزالمعده به ترتیب توسط کیت‌های اختصاصی ساخت شرکت‌های پارس آزمون (TS.M.91.4.5) و زیست‌شیمی (TI.889-64604) با استفاده از روش طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتری) بنا بر دستورکار شرکت‌های سازنده انجام شد. برای این منظور ۱ گرم از بافت لوزالمعده با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول بافر استاندارد به همراه ۲ میلی‌مول محلول HEPES/KOH با pH حدود ۶/۵ به‌طورکلی همگن‌شده (هموژنیزه) و سپس به مدت ده دقیقه با ۲۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول به‌دست‌آمده از قسمت بالای لوله جدا و با نسبت مشخص با محلول‌های معرف موجود در کیت مربوطه مخلوط و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی توسط دستگاه طیف‌سنج نوری استفاده شدند. آمیلاز در طول‌موج ۵۸۰ نانومتر، لیپاز در طول‌موج ۵۷۸ نانومتر و نمونهٔ پروتئین کل در طول‌موج ۵۴۶ نانومتر خوانده شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳. ترکیب جیره‌های آزمایشی در دوره‌های مختلف پرورش

Table 3. Experimental diet compositions at different rearing periods

Ingredients (%)	1-21 days					22-42 days				
	Control	W	B	W+E	B+E	Control	W	B	W+E	B+E
Corn	56	44.55	45	44.55	45	58	40	42.41	40	42.41
Soybean meal48%	36.8	35.1	33.9	35.1	33.9	34.8	33	30.27	33	30.27
Soy oil	3	1.35	2	1.35	2	3	2.85	3.47	2.85	3.47
Wheat	-	15	-	15	-	-	20	-	20	-
Barley	-	-	15	-	15	-	-	20	-	20
Enzyme*	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
Dicalcium phosphate	1.83	1.78	1.92	1.78	1.92	1.81	1.74	1.71	1.74	1.71
Calcium carbonate	1.12	1.14	1	1.14	1	1.13	1.14	1.13	1.14	1.13
Salt	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Potassium carbonate	0.18	0.13	0.13	0.13	0.13	0.12	0.12	0.11	0.12	0.11
DL-Methionine	0.17	0.15	0.15	0.15	0.15	0.25	0.25	0.05	0.25	0.05
L-Lysine HCl	0.1	-	0.1	-	0.1	0.15	0.1	0.05	0.1	0.05
Vitamin premix**	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Mineral premix**	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
AME (Kcal/kg)	2900	2900	2900	2900	2900	2950	2950	2950	2950	2950
CP (%)	21	21	21	21	21	19	19	19	19	19
Calcium (%)	0.95	0.94	0.92	0.94	0.92	0.95	0.95	0.87	0.95	0.87
Available phosphorus (%)	0.43	0.43	0.45	0.43	0.45	0.45	0.42	0.43	0.42	0.43
Met+Cys (%)	0.86	0.84	0.82	0.84	0.82	0.85	0.85	0.84	0.85	0.84
Lys (%)	1.2	1.19	1.18	1.19	1.18	1.2	1.19	1.11	1.19	1.11
Sodium	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Chloride	0.22	0.23	0.24	0.23	0.24	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23
Potassium	0.95	0.95	0.96	0.95	0.96	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
Na+K-Cl (meq/kg)	247.85	247.9	247.81	247.9	247.81	231.23	231.56	231.54	231.56	231.54

C= جیرهٔ شاهد، W= جیرهٔ گندم، B= جیرهٔ جو، W+E= جیرهٔ گندم با آنزیم، B+E = جیرهٔ جو با آنزیم

* مکمل آنزیمی مورداستفاده در جیره‌ها در سطح ۰/۱ درصد، به ازای هر گرم آنزیم مخلوط دارای ۱۰۰۰ واحد فعال فیتاز و ۱۸۰ واحد فعال مولتی‌گلایکاناز بوده است.

** مکمل مورداستفاده در ترکیب جیره‌ها در هر کیلوگرم، مواد زیر را داشته است: مکمل ویتامین‌ها شامل: ۴۴۰۰۰ واحد بین‌المللی آ، ۷۲۰۰ واحد بین‌المللی د- ۳، ۴۴۰ میلی‌گرم ای، ۴۰ میلی‌گرم ک، ۷۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۶۵ میلی‌گرم تیامین، ۳۲۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۲۹۰ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۲۰ میلی‌گرم نیاسین، ۶۵ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۲۲ میلی‌گرم بیوتین و ۲۷۰ میلی‌گرم کولین کلراید.

مواد کانی شامل (میلی‌گرم در کیلوگرم): ۹۹/۲۰۰ میلی‌گرم اکسید منگنز (MnO)، ۸۵ میلی‌گرم اکسید روی(ZnO)، ۵۰ میلی‌گرم سولفات آهن ($FeSo_4$)، ۱۰ میلی‌گرم سولفات مس ($SuSo_4$)، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم (سدیم سلنیت)، ۱۳ میلی‌گرم ید (یدات کلسیم) و ۲۵۰ میلی‌گرم کلین کلراید.

C=Control diet, W=Wheat, B=Barley, W+E=Wheat+Enzyme, B+E=Barley+Enzyme.

*Enzyme and enzyme supplementation included 1 kg per 1000 kg of diet for all treatments and contained 1000 active units of Phytase and 180 active units of Multi-glycanase units per gram.

**Each kg of premix which used in this experiment has contained vitamins: 44000 IU A, 7200 IU D_3, 440 mg E, 40 mg K_3,70 mg B_{12}, 65 mg B_1, 320 mg B_2, 290 mg Pantothenic acid, 1220 mg Niacin, 65 mg B_6, 22 mg Biotin, 270 mg Choline Chloride, and Minerals: 950 mg Mn, 450 mg Zn, 320 mg Fe, 100 mg Cu, 65 mg Se, 68 mg I and 45 mg Co; C: corn, W: wheat, B: barley, WE: wheat + enzyme, BE: barley + enzyme.

برای تعیین غلظت آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز سرم نیز از کیت‌های اختصاصی یادشده و روش همسان استفاده شد (Lorenz, 1998). برای اندازه‌گیری ابعاد پرزهای روده قطعه‌هایی از قسمت‌های دوازدهم (دئودنوم)، میان‌روده (ژژونوم) و آخرین بخش رودهٔ کوچک (ایلئوم) هریک از لاشه‌ها جدا و پس از شستشو توسط سرم فیزیولوژیک و بافر فسفات به درون ظرف‌های دردار سترون حاوی فرمالین ۱۵ درصد انتقال داده شدند. برای اندازه‌گیری ابعاد پرز و عمق کریپت از رویهٔ استاندارد استفاده شد. در آغاز قطعه‌های رودهٔ تثبیت‌شده با روش رنگ‌آمیزی فوشین رنگ و توسط پارافین به شکل جامد تثبیت شدند. سپس نمونه‌ها توسط دستگاه میکروتوم برش و با دستگاه استریومیکروسکوپ با درجهٔ بزرگ‌نمایی ۵۰ و ۱۰۰ بررسی شدند (Wu *et al.*, 2004; Yu *et al.*, 1998). برای اندازه‌گیری بیان ژن‌های انتقال گلوکز (SGLT1 و GLUT2)، انتقال پپتید (PepT1) و تولید موسین (MUC2) قطعاتی از بافت ژژونوم جوجه‌ها جدا و پس از شستشو درون ورقه‌های آلومینیومی سترون بسته‌بندی و به فریزر با دمای -80^oC انتقال داده شدند. استخراج RNA از نمونهٔ بافت ژژونوم با استفاده از کیت اختصاصی تلخیص RNA (CINNAPURE RNA Purification Kit) ساخت شرکت سیناژن (50k30341) و بنابر دستورکار شرکت سازنده انجام

Archive of SID

www.SID.ir

گرفت. برای ساخت (سنتز) cDNA از mRNA نمونه‌ها از کیت رونویسی (Reverse Transcription) ساخت شرکت Qiagen (2050311) استفاده شد. انجام واکنش‌های *RT-PCR* با کمک آغازگرهای ویژهٔ بتا-اکتین، CCAAT/enhancer binding protein (C/EBPα) *a* و آغازگرهای اختصاصی هر یک از ژن‌های یادشدهٔ ویژهٔ ماکیان (Gilbert *et al*., 2008; Gilbert *et al*. 2007)، ساخت شرکت *METABION* آلمان و رنگ QuantiFastTM SYBR® ساخت شرکت Qiagen (204052) و دستگاه PCR مدل 7500® ABI ساخت کشور آمریکا انجام شد. توالی و ویژگی‌های آغازگرهای به‌کاررفته در جدول ۴ ارائه شده است. برای تعیین سطح بیان ژن، از روش مقایسهٔ Ct به‌دست‌آمده از ژن‌های هدف هریک از نمونه‌ها با مقادیر به‌دست‌آمده از ژن مرجع (ß-Actin) آن نمونه نسبت به مقادیر به‌دست‌آمده از تیمار شاهد با استفاده از شاخص محاسباتی استاندارد $2^{-\Delta\Delta C_t}$ (معادلهٔ ۱)، عمل شد (Livak,&Schmittgen 2001).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخهٔ ۲۰۰۴ و رویهٔ مدل خطی عمومی و مقایسهٔ میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت (SAS 2004).

رابطهٔ (۱)
$$\Delta\Delta C_t = (C_{t\ \text{mean target gene}} - C_{t\ \text{mean ß.Actin}}) - (C_{t\ \text{mean control gene}} - C_{t\ \text{mean ß.Actin}})$$

جدول ۴. مشخصات ژن‌ها و آغازگرهای مربوطه در این آزمایش

Table 4. Experimental gene and primer characteristics

Gene name	Gene ID	Function	Forward primer	Backward primer
PepT1	NM_204365	Oligo-peptide transporter	CCCCTGAGGAGGATCACTGTT	CAAAAGAGCAGCAGCAACGA
SGLT1	XM_415247	Na+-dependent glucose and galactose transporter	ATACCCAAGGTCATAGTCCCAAAC	TGGGTCCCTGAACAAATGAAA
GLUT2	Z22932	Na+-independent glucose, galactose and fructose transporter	CACACTATGGGCGCATGCT	ATTGTGCCTGGAGGTGTTGGT
MUC2	XM_421035	Intestinal mucin2; Gallus Gallus	TCACCCTGCATGGATACTTGCTCA	TGTCCATCTGCCTGAATCACAGGT
ß-Actin	L-8165	Reference Gene	GTCCACCGCAAATGCTTCTAA	TGCGCATTTATGGGTTTTGTT

منبع: (Gilbert *et al*., 2007)

Source: (Gilbert *et al*., 2007)

نتایج و بحث

تأثیر جیره‌های با منابع مختلف کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای مکمل‌شده با آنزیم بر صفات رشد شامل میانگین خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی در کل دورهٔ پرورش در جدول ۵ ارائه شده است.

بنابر نتایج جدول ۵، در کل دورهٔ پرورش بیشترین افزایش وزن روزانه مربوط به تیمار شاهد و کمترین میزان افزایش وزن روزانه مربوط به تیمار گندم بود ($p<۰/۰۱$). تیمارهای گندم با آنزیم و جو بین دو دستهٔ بیشینه و کمینه قرار داشتند ($p<۰/۰۱$). در عوض کمترین ضریب تبدیل غذایی متعلق به شاهد و بیشترین آن مربوط به تیمارهای گندم و جو بود ($p<۰/۰۱$). این نتایج گویای تأثیر مثبت و معنی‌دار آنزیم بر خوراک مصرفی، رشد و ضریب تبدیل غذایی پرندگان در این دوره بود. ازآنجاکه ترکیب آنزیمی به‌کاررفته فیتاز و انواع گلایکاناز را داشت، قابل‌انتظار است که عملکرد تیمارهای دارای گندم و جو با آنزیم بهبود یافته و به دلیل شکسته شدن پیوندهای عرضی بین واحدهای تشکیل‌دهندهٔ زنجیره‌های آرابینوزایلان و بتاگلوکان در گندم و جو و باز شدن نوار (باند)های کمپلکس فیتات در ساختار این رقم‌ها، انرژی بیشتری آزاد شده، مواد مغذی (پروتئین، نشاسته و چربی) و مواد کانی (کلسیم و فسفر) به دام افتاده قابل‌دسترس و در فرآیند جذب بهتر استفاده شده و درنهایت رشد بیشتری به دست آید (Cowieson *et al*., 2004; Selle & Ravindran, 2007). گذشته از آن بنا بر نتایج گزارش‌شده (Ravindran *et al*., 1999)، مخلوط کردن آنزیم‌های بالا با هم در جیرهٔ طیور باعث بهبود هضم مواد مغذی بیشتر از حالت مستقل آن‌ها می‌شود. در واقع گلایکانازها از راه کاهش گرانروی محتویات هضمی و آزادسازی مواد مغذی به دام افتاده، باعث

Archive of SID

www.SID.ir

آسان شدن عمل فیتاز روی کمپلکس‌های غیرقابل‌هضم فیتات شده، آزادسازی و میزان جذب مواد مغذی در این شرایط افزایش می‌یابد. لذا اثر متقابل این آنزیم‌ها مسئله‌ای است که باید موردتوجه خاص قرار گیرد (Ravindran *et al*., 1999; Selle & Ravindran, 2007). تأثیر جیره‌های با منابع مختلف کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای مکمل‌شده با آنزیم بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی پرزها شامل طول و عرض پرز، عمق کریپت و نسبت‌های مربوطه در نواحی دئودنوم، ژژونوم و ایلئوم در جدول ۶ ارائه شده است.

جدول ۵. تأثیر جیره‌های با منابع مختلف کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای با آنزیم بر صفات رشد جوجه‌های گوشتی

Table 5. Effect of different dietary source of NSP supplemented with enzyme on growth traits of broilers

Treatment/Trait	Average daily feed intake (g)	Average daily gain (g)	Feed conversion Rate
C	99.79[a]	52.53[a]	1.9[c]
W	96.66[b]	46.92[c]	2.06[a]
W+E	99.25[a]	49.38[b]	2.01[b]
B	101.15[a]	49.1[b]	2.06[a]
B+E	102.08[a]	51.3[a]	1.99[b]
SEM	1.24	0.13	0.02
P-value	0.004	0.001	0.001

* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد درون ستون‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۱ درصد است.

C: control, W: wheat: B: barley, W+E: Wheat +Enzyme, B+E: barley + enzyme.

*[abc] Means with different superscript letters within columns have a significant difference ($P < 0.01$).

نتایج جدول ۶ گویای آن است که تأثیر جیره‌های دارای منابع مختلف کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای بر ابعاد پرزها شامل طول و عرض پرز، عمق کریپت و نسبت‌های مربوطه در نواحی رودهٔ باریک معنی‌دار بود (p<۰/۰۱). روند عمومی مشاهده شده به این صورت بود که ارتفاع پرز در نواحی مختلف کاهش و در عوض عرض پرز و عمق کریپت افزایش داشت و نسبت‌های مربوطه نیز تحت تأثیر واقع شدند (p<۰/۰۱). این نتایج گویای آن است که استفاده از رقم‌های گندم و جو به‌جای ذرت در جیره به علت میزان بالای پنتوزآن‌ها به‌ویژه آرابینوزایلان و بتاگلوکان بر ساختار میکروسکوپی بافت روده و ابعاد و ویژگی‌های ظاهری پرزهای ناحیهٔ دئودنوم تأثیر منفی می‌گذارد. نشان داده شده که این ترکیب‌ها با ایجاد گرانروی بالا در محتویات هضمی قسمت‌های مختلف روده باعث تحریک، التهاب و پس‌روی (آتروفی) یاخته‌های مخاطی شده و درجهٔ افزایش آن‌ها را تغییر می‌دهند که در مجموع این تغییرها باعث کوتاه شدن ارتفاع پرز، افزایش ضخامت پرز و افزایش عمق کریپت می‌شوند (Viveros *et al*., 1994; Wu *et al*., 2004). در عوض مکمل‌سازی جیره‌های دارای گندم و جو با آنزیم در این آزمایش باعث خنثی شدن این اثرگذاری‌ها شد که مربوط به کاهش گرانروی محتویات گوارشی و شکسته شدن مولکول‌های بزرگ پنتوزان موجود در گندم و جو است. این نتایج با گزارش‌های دیگر محققان همخوانی داشت (Nourmohammadi & Afzali, 2013; Viveros *et al*., 1994; Wu *et al*., 2004).

افزایش میزان پنتوزان‌ها که اجزای اصلی کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای محلول در آب موجود در رقم‌های گندم و جو هستند، در جیره می‌تواند باعث ایجاد تغییرهای دامنه‌داری شامل فیزیکوشیمیایی (افزایش گرانروی و کاهش اسیدیتهٔ محتویات گوارشی) (Pourreza *et al*., 2007)، ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) یاخته‌های پوششی مخاط روده (کوتاه شدن طول و افزایش ضخامت پرز همراه با پس‌روی یاخته‌های پوششی پرز) (Wu *et al*., 2004; Yu *et al*., 1998)، و میکروبیولوژیکی (افزایش باکتری‌های بی‌هوازی و نیز افزایش فعالیت تخمیری آن‌ها بشود (Pourreza *et al*., 2007). در مجموع این تغییرهایی که باعث تغییر ساختمانی و ضخیم شدن دیوارهٔ روده (Nourmohammadi & Afzali, 2013)، تغییر فعالیت ترشحی بافت پوششی (Sakata, 1987; Viveros *et al*., 1994) و تغییر ترکیب و توازن اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (Pourreza *et al*., 2007; Silva & Smithard, 1996) در منطقهٔ جذب مواد

Archive of SID

www.SID.ir

مغذی شده که این جهت‌گیری‌ها در کل باعث کاهش ارتفاع و افزایش ضخامت پرز همراه با افزایش عمق کریپت شده و سطح جذبی سودمند روده را کاهش داده و بر عملکرد و سلامت پرنده تأثیر منفی قابل‌توجهی می‌گذارد (Silva & Smithard, 2002). در عوض مکمل‌سازی آنزیم با جیره‌های دارای گندم و جو به‌آسانی آثار منفی یادشده را مرتفع کرده و با کاهش گرانروی محتویات از درجهٔ افزایش یاخته‌های زایندهٔ کریپت کاسته و در مقابل باعث افزایش طول پرز و فعالیت جذبی آن می‌شود (Wu *et al.*, 2004). در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ مقایسه‌ای بین پرزهای پوششی منطقهٔ جذبی ژژنوم جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره‌های بر پایهٔ ذرت- کنجالهٔ سویا، گندم بدون آنزیم و گندم با آنزیم ارائه شده است. شکل‌ها به‌خوبی بیانگر تغییر ساختار ظاهری پرزها از جمله کوتاهی، افزایش ضخامت و پس‌روی آن‌ها در جیرهٔ بدون آنزیم (شکل۲) در مقایسه با جیرهٔ حاوی ذرت (شکل۱) یا جیرهٔ دارای آنزیم (شکل۳) است.

جدول ۶. تأثیر جیره‌های با منابع مختلف کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای با آنزیم بر مشخصات ظاهری پرزهای نواحی مختلف روده

Table 6. Effect of different dietary source of NSP supplemented with enzyme on villi morphology of broilers

Treatment/Trait	Duodenum				
	VH (µm)	VW (µm)	CD (µm)	VH/VW	VH/CD
C	1530.33^{ab}	115^{c}	108.33^{c}	13.31^{a}	14.39^{a}
W	1360^{c}	120.00^{b}	114.67^{b}	11.33^{b}	11.86^{b}
W+E	1668^{a}	123.67^{ab}	108^{c}	13.49^{a}	15.44^{a}
B	1440.04^{b}	117.00^{c}	119^{a}	12.31^{ab}	12.1^{b}
B+E	1589.82^{ab}	125.33^{a}	109^{c}	12.68^{ab}	14.59^{a}
SEM	84.8	1.18	1.39	0.45	0.52
P-value	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001
			Jejunum		
C	1273.67^{a}	138.67^{b}	109.67^{b}	9.18^{a}	11.61^{ab}
W	1190^{ab}	150^{a}	116^{a}	7.93^{b}	10.26^{ab}
W+E	1297^{a}	136^{b}	108^{b}	9.54^{a}	12.01^{a}
B	1025.23^{b}	125^{c}	110.33^{b}	8.20^{ab}	9.29^{b}
B+E	1191.33^{ab}	135^{b}	95^{c}	8.83^{ab}	12.54^{a}
SEM	69.62	3.14	4.72	0.61	0.97
P-value	0.001	0.001	0.005	0.001	0.001
			Ileum		
C	1285.33^{ab}	87^{d}	105^{b}	14.94^{a}	12.5^{a}
W	1140.67^{b}	128.33^{b}	115^{a}	8.68^{c}	9.88^{b}
W+E	1408^{a}	102.67^{c}	109.67^{ab}	13.33^{ab}	12.61^{a}
B	1172^{b}	142.33^{a}	114.33^{a}	8.23^{c}	10.25^{b}
B+E	1308^{a}	107^{c}	108^{ab}	12.22^{b}	12.12^{a}
SEM	67.67	3.88	3.14	0.71	0.69
P-value	0.001	0.001	0.002	0.001	0.001

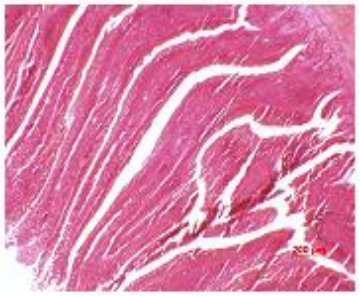
* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد درون ستون‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۱ درصد است.

VH: ارتفاع پرز، VW: عرض پرز، CD: عمق کریپت، VH/VW: نسبت ارتفاع پرز به عرض پرز، VH/CD: نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت

C: control, W: wheat: B: barley, W+E: Wheat +Enzyme, B+E: barley + enzyme.

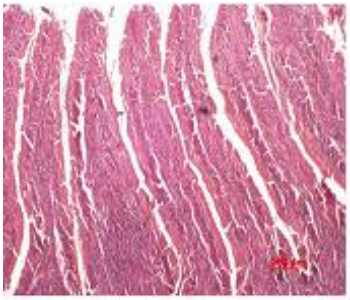
*^{abc} Means with different superscript letters within columns have a significant difference ($P < 0.01$).

VH: Villus Height, VW: Villus Width, CD: Crypt Depth, VH/VW: Villus Height to Villus Width ratio, VH/CD: Villus Height to Crypt Depth ratio.



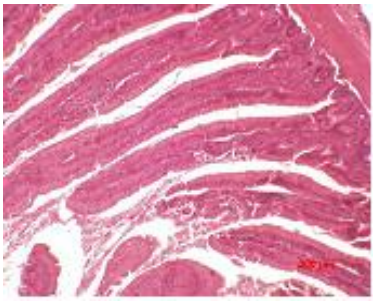
شکل۱. جیرهٔ بر پایهٔ ذرت (شاهد)

Figure 1. Control diet



شکل۲. جیرهٔ دارای گندم بدون آنزیم

Figure 2. Wheat diet whiteout Enzyme



شکل۳. جیرهٔ دارای گندم با آنزیم

Figure 3. Wheat + Enzyme diet

Archive of SID

www.SID.ir

تأثیر جیره‌های با منابع مختلف کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای مکمل‌شده با آنزیم بر فعالیت آنزیمی لوزالمعده (برحسب واحد آنزیم به ازای گرم پروتئین خام بافت لوزالمعده) و غلظت آنزیم‌های سرم خون جوجه‌ها (برحسب واحد آنزیم در لیتر سرم خون) در جدول ۷ ارائه شده است.

نتایج جدول ۷ نشان داد جیره‌های دارای منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های لوزالمعده‌ای و غلظت آنزیم‌های موجود در سرم خون جوجه‌های گوشتی داشتند ($p< ۰/۰۱$). در هر دو مورد استفاده از گندم و جو بدون آنزیم باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیمی یا غلظت سرمی آنزیم‌ها شد که البته مکمل‌سازی با آنزیم‌های خارجی باعث کاهش معنی‌دار آن‌ها شد ($p< ۰/۰۱$). افزایش فعالیت آنزیمی لوزالمعده نتایج منفی زیادی برای پرنده در بردارد و باعث افزایش فشار روی اندام‌های هضمی، افزایش اندازه غدد مترشحهٔ آنزیم، هدرروی مواد مغذی و کاهش رشد پرنده می‌شود (Jaroni *et al*., 1999). این تأثیر بیشتر ناشی از تأثیر منفی پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول و نبود آنزیم‌های تخصصی شکنندهٔ آن‌ها در بدن پرندگان اهلی است. این مسئله باعث ایجاد گرانروی محتویات هضمی و تولید توده‌های ژله‌ای غیرقابل نفوذ برای آنزیم‌های هضم‌کننده شده و آنزیم‌های مترشحه از دستگاه گوارش و غدد ترشحی را درون شبکهٔ گستردهٔ خود به دام انداخته و از عمل اختصاصی آن‌ها روی مواد مغذی و شکسته شدن آن‌ها و در نهایت هضم و جذب و تخلیه این مواد از دستگاه گوارش جلوگیری می‌کند. به دلیل کارایی نداشتن آنزیم‌های ترشح‌شدهٔ پیشین، دستگاه گوارش و غدد ترشح‌کنندهٔ آنزیم مقادیر بیشتری از آنزیم‌ها را تولید و به درون مجرای (لومن) دستگاه گوارش ترشح می‌کنند. ادامهٔ این روند بی‌تأثیر تنها تشدید عوارض منفی یادشده را به دنبال داشته و روی هضم و جذب مواد مغذی درون دستگاه گوارش تأثیر مثبتی ایجاد نخواهد کرد (Ravindran *et al*., 1999; Slominski, 2011). بهبود عملکرد جوجه‌ها ناشی از درجهٔ هضم بیشتر مواد مغذی در روده همراه با توسعهٔ فرآیندهای جذبی مواد مغذی موجود در جیره‌های مکمل‌شده با آنزیم‌های مختلف و به‌احتمال افزایش انتقال‌دهنده‌های مواد مغذی (Sakata, 1987; Ravindran *et al*., 1999) است. این احتمال نیز وجود دارد که ترکیب کردن آنزیم‌ها با هم در جیره باعث افزایش بهبود فرآیندهای هضم مواد مغذی، بیشتر از حالت مستقل آن‌ها بشود. مواد ضد مغذی موجود در غلات باعث پوشش دادن چربی، نشاسته و پروتئین شده و دسترسی آنزیم‌های گوارشی به این اجزا را مختل می‌کند (Garcia *et al*., 2008). ازآنجاکه آنزیم‌های دستگاه گوارش مسئول نهایی هضم بیشتر مولکول‌ها و بستره (سوبسترا)ها در روده هستند، لذا دارای یک نقش حیاتی در تنظیم میزان مواد مغذی در دسترس برای جذب به شمار می‌آیند.

جدول ۷. تأثیر منابع مختلف کربوهیدرات غیر نشاسته‌ای جیره‌ها بر فعالیت آنزیمی لوزالمعده و غلظت آنزیم‌های سرم خون

Table 7. Effect of different dietary source of NSP supplemented with enzyme on pancreas and serum enzyme activity of broilers

Treatment/Trait	Pancreatic enzyme activity (U/g CP)	
	Amylase	Lypase
C	3.98[b]	158.43[b]
W	5.99[a]	190.22[a]
W+E	3.42[bc]	135.13[c]
B	4.02[b]	188.11[a]
B+E	3.29[c]	136.48[c]
SEM	0.28	3.81
P-value	0.001	0.005
	Serum enzyme activity (U/L)	
C	22.94[c]	10[c]
W	60.48[a]	21.83[a]
W+E	49.99[b]	17.63[b]
B	66.32[a]	20.83[a]
B+E	47.71[b]	18.73[b]
SEM	1.62	0.64
P-value	0.003	0.006

* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد درون ستون‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۱ درصد است.

C: control, W: wheat: B: barley, W+E: Wheat +Enzyme, B+E: barley + enzyme.

*[abc] Means with different superscript letters within columns have a significant difference ($P < 0.01$).

در جوجه‌های گوشتی فعالیت آنزیمی متأثر از عامل‌های زیادی است که مهم‌ترین آن‌ها شامل تفاوت ژنتیکی بین سویه‌ها، سن، نوع جیره و تراکم کربوهیدرات‌های موجود در جیره است. این احتمال وجود دارد که فعالیت آنزیمی تحت تأثیر تنظیم جیره

Archive of SID

www.SID.ir

و شرایط تغذیه قرار گیرد همان‌طور که تأثیر بهبوددهندهٔ آنزیم‌ها روی ترکیب‌های ضد مغذی مانند بتاگلوکان، پنتوزان‌ها و اسید فایتیک به‌خوبی نشان داده شده است. مکمل‌سازی جیره‌های دارای غلات با آنزیم‌های با منشأ خارجی بر عملکرد و کارایی هضمی جیره و همچنین میزان ترشح آنزیم‌های با منشأ داخلی از جمله آنزیم‌های مترشحه از روده و لوزالمعده تأثیر دارد (Nourmohammadi & Afzali, 2013; Pourreza *et al*., 2007).

هماهنگ با تغییر فعالیت آنزیمی لوزالمعده، غلظت سرمی آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز نیز با روند همسانی تغییر کرد. بیشترین غلظت آنزیمی مربوط به جیره‌های گندم و جو بود. در برابر، کمترین میزان مربوط به شاهد بود و جیره‌های مکمل‌شده با آنزیم حد وسط این دو دسته قرار داشتند. هرچند مکمل‌سازی این جیره‌ها با آنزیم‌های با منشأ خارجی باعث کاهش معنی‌دار غلظت آن‌ها در سرم شد، ولی بااین‌وجود، هنوز غلظت آنزیم‌های یادشده به‌طور معنی‌دار از گروه شاهد بالاتر بود. ازآنجاکه بخش مهمی از آنزیم‌های موجود در سرم خون منشأ کبدی دارند (Garcia *et al*., 2008; Wu *et al*., 2004)، این‌گونه نتیجه‌گیری می‌شود که تأثیر جیره‌های آزمایشی و سطح پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای موجود در آن‌ها فراتر از روده و لوزالمعده عمل کرده و عملکرد اندام‌های وابسته به دستگاه گوارش از جمله کبد نیز تحت تأثیر قرار گرفته است. همان‌طور که پیشتر بیان شد نوع و ترکیب جیره و سطح کربوهیدرات‌های موجود در آن بر غلظت آنزیم‌های به‌دست‌آمده از دستگاه گوارش و غده‌های درون‌ریز بدن تأثیر دارد. آنزیم‌های موجود در سرم خون با هدف تجزیهٔ دی‌ساکاریدها و ذرات کوچک چربی و میسل‌های جذب‌شده به درون جریان خون از کبد به خون ترشح شده و این بسترها را تجزیه کرده تا در نهایت جذب یاخته‌ها شده و به مصرف تولید انرژی و سوخت‌وساز و رشد و افزایش یاخته‌ها برسند. این فرآیند سامانهٔ خودتنظیمی داشته و غلظت بسترها در خون و افزایش فعالیت انتقال‌دهنده‌های اختصاصی گلوکز در غشاهای یاخته‌ای و اسیدهای چرب در غشای میتوکندریایی در این تنظیم دخالت دارند. افزایش غلظت این آنزیم‌ها در سرم می‌تواند ناشی از تأثیر ضد مغذی کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای بر اندام‌های گوارشی و غدد ضمیمهٔ گوارشی مانند لوزالمعده و کبد باشد که در نهایت منجر به افزایش ساخت و ترشح آن‌ها به خون باشد (Garcia *et al*., 2008). تأثیر جیره‌های با منابع مختلف کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای مکمل‌شده با آنزیم بر بیان ژن‌های انتقال مواد مغذی از روده شامل انتقال گلوکز (SGLT1 و GLUT2)، انتقال پپتید (PepT1) و تولید موسین (MUC2) در بخش ژژونوم رودهٔ کوچک جوجه‌های مورد آزمایش به شرح جدول ۸ ارائه شده است.

همان‌طور که نتایج جدول ۸ نشان می‌دهد، هماهنگ با نتایج دیگر گزارش‌ها، در این مورد نیز تأثیر جیره‌های مختلف بر بیان ژن‌های موردنظر معنی‌دار ($p < ۰/۰۱$) و بیشترین میزان بیان ژن انتقال مواد مغذی و تولید موسین به جیره‌های گندم و جو و کمترین به گروه شاهد تعلق داشت. جیره‌های گندم و جو مکمل‌شده با آنزیم حد واسط این گروه‌ها قرار داشتند ($p<۰/۰۱$). نتایج گزارش‌های موجود بیانگر این مطلب است که حضور میزان و ترکیب مناسب مواد مغذی در روده برای توسعهٔ بافت روده ضروری بوده و به‌عکس ازدیاد مواد ضد مغذی باعث توسعه نیافتن بافت یا تغییر ویژگی‌های رشد و نمو آن می‌شود (Uni,& Ferket 2004 ; Uni *et al*., 2003a). نشان داده شده که افزایش سطح و ترکیب کربوهیدرات‌های مصرفی به‌خوبی طی چند روز باعث افزایش تراکم انتقال‌دهنده‌های گلوکز در غشاهای یاخته‌ای روده شده و این افزایش به موازات افزایش سطوح mRNA مربوط به ژن SGLT1 در این یاخته‌ها است (Ferraris, 2001&2007; Gilbert *et al*., 2008). این افزایش در مورد انتقال‌دهنده‌های پپتید و افزایش سطح mRNA مربوط به ژن MUC2 گزارش شده است (Gilbert *et al*., 2008; Mott *et al*., 2008). انتقال‌دهنده‌های اسیدهای آمینه و پپتیدها در رودهٔ جوجه‌ها تحت تأثیر عامل‌های مختلف مانند انتخاب ژنتیکی، نوع و میزان مصرف خوراک، نحوهٔ رشد و نمو بافت روده، کیفیت و کمیت پروتئین جیره و سطح

Archive of SID

www.SID.ir

فیبر خوراک تنظیم می‌شوند (Gilbert *et al*., 2007; Mott *et al*., 2008, 2010).

جدول ۸. تأثیر جیره‌های با منابع مختلف کربوهیدرات غیرنشاسته‌ای بر بیان ژن‌های انتقال مواد مغذی و تولید موسین در رودهٔ کوچک جوجه‌های گوشتی

Table 8. Effect of different dietary source of NSP supplemented with enzyme on gene expression of intestinal nutrient transporters and mucin producer of broilers

Treatment/Trait	SGLT1	GLUT2	PepT1	MUC2
C	1^{c}	1^{c}	1^{d}	1^{c}
W	1.77^{a}	1.71^{a}	1.49^{b}	1.48^{a}
W+E	1.19^{b}	1.15^{b}	1.22^{c}	1.13^{b}
B	1.84^{a}	1.8^{a}	2.82^{a}	1.38^{a}
B+E	1.13^{b}	1.19^{b}	1.27^{c}	1.05^{c}
SEM	0.01	0.02	0.03	0.03
P-value	0.001	0.001	0.001	0.001

* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد درون ستون‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۱ درصد است.

C: control, W: wheat: B: barley, W+E: Wheat +Enzyme, B+E: barley + enzyme.

*^{abc} Means with different superscript letters within columns have a significant difference ($P < 0.01$).

محرومیت غذایی یا وجود ترکیب‌های ضد مغذی مانند کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای محلول در آب باعث تأخیر و اختلال در رشد بافت روده، ساخت و ترشح موسین و تغییر ساختار لایهٔ مخاطی روده می‌شود (Uni *et al*., 2000, 2003a). تأمین مواد مغذی و کربوهیدرات‌های قابل‌جذب در دوران اولیهٔ رشد نقش بسزایی در توسعهٔ طبیعی بافت روده، لایهٔ مخاطی و عمل درست یاخته‌های جذبی روده دارد (Slominski, 2011; Smirnov *et al*., 2004). همهٔ اثرهای یادشده توسط تنظیم بیان ژن انتقال‌دهندهٔ مواد مغذی از مجرای روده و از خلال لایهٔ مخاطی به سمت یاخته‌های انتروسایت جدار پوششی در منطقهٔ جذبی روده صورت می‌گیرد. زیرا تغییر ظرفیت جذبی روده به دنبال تغییر یا محدودیت عمل انتقال‌دهنده‌های مواد مغذی (گلوکز، اسیدهای آمینه و پپتیدها) در روده ایجاد شده و عامل اصلی محدودکنندهٔ رشد و نمو جاندار به شمار می‌آید (Ferraris, 2001; Gilbert *et al*., 2010). در این آزمایش جیره‌های دارای گندم و جو باعث افزایش بیان ژن MUC2 شدند. ازآنجاکه مواد خوراکی دارای فیبر یا NSP زیاد باعث افزایش دفع موسین می‌شوند، بدیهی است که افزایش مصرف این مواد باعث افزایش بیان ژن مولد موسین و افزایش میزان ساخت موسین شود (Smirnov *et al*., 2004, 2006). همچنین موسین در جدار پوششی روده نقش حیاتی دارد. از جمله محافظت بافت روده در برابر کیموس اسیدی معده و آنزیم‌های هضم‌کنندهٔ لوزالمعده، ایجاد سطح لغزنده برای آسانگری عبور مواد از جمله مواد خشبی و فیبری، محافظت در مقابل هجوم و استقرار میکروب‌های بیماری‌زا و همچنین تصفیه و آسانگری انتقال مواد مغذی به سمت یاخته‌های جذبی روده. موسین به‌صورت دو لایهٔ شل و سخت بوده که ترکیب و عمل آن‌ها متفاوت از هم بوده و لایهٔ سخت مکان‌های اتصالی غشایی برای جذب مواد دارد (Montagne *et al*., 2004; Smirnov *et al*., 2004). عامل‌های مختلف شامل نوع، میزان و ترکیب جیره (میزان فیتات، فیبر و NSP)، افزایش جمعیت باکتری‌های مهاجم، بیماری، کمبود اسیدهای آمینه و عامل‌های محیطی قادر به تغییر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی موسین از جمله گرانروی و یکپارچگی آن شده و در نهایت درجهٔ ساخت و دفع آن را تغییر می‌دهند (Cowieson *et al*., 2004; Montagne *et al*., 2004).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد عملکرد رشد و صفات فیزیولوژیک جوجه‌های گوشتی از جمله فعالیت آنزیمی لوزالمعده و غلظت سرمی آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز، ابعاد و ویژگی‌های ظاهری پرزهای روده و بیان ژن‌های انتقال‌دهندهٔ مواد مغذی (گلوکز و پپتید) و تولید موسین در رودهٔ کوچک به دنبال مصرف سطوح به نسبت بالای گندم و جو در جیره‌های آزمایشی دچار تغییر و آسیب شدند. اما مکمل‌سازی جیره‌ها با آنزیم‌های فیتاز و مولتی گلایکاناز با منشأ خارجی باعث خنثی شدن اثرگذاری‌های منفی به وجود آمده و بهبود عملکرد رشد و صفات فیزیولوژیک جوجه‌ها شد.

سپاسگزاری

از مسئولان صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور برای تأمین و حمایت مالی اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES

1. Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). (2005). Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists International, 18th ed., 1st suppl. Gaithersburg, MD U.S.A
2. Cowieson, A.J., Acamovic, T. & Bedford, M.R. (2004). The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *British Poultry Science*, 45, 101-108.
3. Ferraris, R.P. (2001). Dietary and developmental regulation of intestinal sugar transport. *Journal of Biochemistry*, 360, 265-275.
4. Finnie, S.M., Bettge, A.D. & Morris, C.F. (2006). Influence of cultivar and environment on water-soluble and water-insoluble arabinoxylans in soft wheat. *Journal of Cereal Chemistry*, 83(6), 617-623.
5. Garcia, M., Lazaro, R., Latorre, M.A., Gracia, M.I. & Mateos, G.G. (2008). Influence of enzyme supplementation and heat processing of barley on digestive traits and productive performance of broilers. *Poultry Science*, 87, 940-948.
6. Gilbert, E.R., Wong, E.A. & Webb Jr., K.E. (2008). Peptide absorption and utilization: Implications for animal nutrition and health. *Animal Science*, 86, 2135-2155.
7. Gilbert, E.R., Li, H., Emerson, D.A., Webb Jr., K.E. & Wong, E.A. (2007). Development regulation of nutrient transporter and enzyme mRNA abundance in the small intestine of broilers. *Poultry Science*, 86, 1739-1753.
8. Gilbert, E.R., Li, H., Emerson, D.A., Webb Jr., K.E. & Wong, E.A. (2008). Dietary protein quality and feed restriction influence abundance of nutrient transporter mRNA in the small intestine of broiler chicks. *Journal of Nutrition*, 138, 262-271.
9. Gilbert, E.R., Li, H., Emmerson, D.A., Webb Jr., K.E. & Wong, E.A. (2010). Dietary protein composition influences abundance of peptide and amino acid transporter messenger ribonucleic acid in the small intestine of 2 lines of broiler chicks. *Poultry Science*, 89, 1663-1676.
10. Gilbert, E.R., Li, H., Emmerson, D.A., Webb Jr., K.E. & Wong, E.A. (2007). Developmental regulation of nutrient transporter and enzyme mRNA aboundance in the small intestine of broilers. *Poultry Science*, 86, 1739-1753.
11. Jaroni, D., Scheideler, S.E., Beck, M.M. & Wyatt, C. (1999). The effect of dietary wheat middling and enzyme supplementation. II: Apparent nutrient digestibility, digestive tract size, guts viscosity and gut morphology I two strains of leghorn hens. *Poultry Science*, 78, 1664-1674.
12. Livak, K.J. & Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔCt method. *Journal of Methods*, 25, 402-408.
13. Lorenz, K. (1998). Clinical laboratory diagnostics.1sted.Frankfurt.TH-Books Verlagsgesellschaft P7-95 (Lipase) and 192-202 (a-Amylase).
14. Megazyme International Ireland ltd., Bray Business Park, bray, co. wicliow, Ireland. Internet: www. Megazyme.
15. Montagne, L., Piel, C. & Lalles, J.P. (2004). Effect of diet on mucin kinetics and composition: Nutrition and health implications. *Nutrition Review*, 62, 105-114.
16. Mott, C.R., Siegel, P.B., Webb Jr., K.E. & Wong, E.A. (2008). Gene expression of transporters in the small intestine of chickens from lines divergently selected for high or low Junvenile body weight. *Poultry Science*, 87, 2215-2224.
17. Nourmohammadi, R. & Afzali, N. (2013). Effect of citric acid and microbial phytase on small intestine morphology in broiler chicken. *Italian Journal of Animal Science*, 12(1), 12:e7 doi: 10.4081/ijas.2013.e7.
18. Pourreza, J., Samie, A.H. & Rowghani, E. (2007). Effect of supplemental enzyme on nutrient digestibility and performance of broiler chicks fed on diets containing triticale. *International Journal of Poultry Science*, 6, 115-117.
19. Ravindran, V., Selle, P.H., Ravindran, G., Morel, P.C.M., Kies, A.K. & Bryden, W.L. (2001). Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. *Poultry Science*, 80, 338-344.
20. Ravindran, V., Selle, P.H. & Bryden, W.L. (1999). Effects of phytase supplementation, individually and in combination, with glycanase, on the nutritive value of wheat and barley. *Poultry Science*, 78, 1588-1595.
21. Sakata, T. (1987). Stimulatory effect of short chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: A possible explanation for trophic effects of fermentable fiber, gut microbes and luminal trophic factors. *British Journal of Nutrition*, 58, 95-103.
22. SAS Institute. (2004). SAS procedure guide for personal computers, STAT User Guide, *Statistics. Version* 9.1., SAS Institute INC, Cary NC.
23. Selle, P.H. & Ravindran, V. (2007). Microbial phytase in poultry nutrition. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 135, 1-41.

Archive of SID

www.SID.ir

24. Silva, S.S. & Smithard, R.R. (1996). Exogenous enzymes in broiler diet crypt cell proliferation, digesta viscosity short chain fatty acids and xylanase in the jejunum. *British Poultry Science*, 37, 577-579.
25. Silva, S.S.P. & Smithard, R.R. (2002). Effect of enzyme supplementation of a rye-based diet on xylanase activity in the small intestine of broilers, on intestinal crypt cell proliferation and on nutrient digestibility and growth performance of the birds. *British Poultry Science*, 43, 274-282.
26. Slominski, B.A. (2011). Recent advances in research on enzymes for poultry diets. *Review: Poultry Science*, 90, 2013-2023.
27. Smirnov, A., Sklan, D. & Uni, Z. (2004). Mucin dynamics in the small intestine are altered by starvation. *Journal of Nutrition*, 134, 738-742.
28. Smirnov, A., Tako, E., Ferket, P.R. & Uni, Z. (2006). Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells are affected by in ovo feeding of carbohydrates. *Poultry Science*, 85, 669-673.
29. Uni, Z., Geyra, A., Ben Hur, H. & Sklan, D. (2000). Small intestine development in the young chick: Crypt formation and enterocyte proliferation and migration. *British Poultry Science*, 41, 544-551.
30. Uni, Z., Smirnov, A. & Sklan, D. (2003a). Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: Effect of delayed access to feed. *Poultry Science*, 82, 320-327.
31. Uni, Z. & Ferket, P. (2004). Methods for early nutrition and their potential. *World's Poultry Science Journal*, 60, 101-111.
32. Viveros, A., Brenes, A., Pizarro, M. & Castanb, M. (1994). Effect of enzyme supplementation of a diet based on barley on apparent digestibility, growth performance and gut morphology of broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 48, 237-251.
33. Wu, Y.B., Ravindran, V., Thomas, D.G., Birties, M.J. & Hendriks, W.H. (2004). Influence of method of whole wheat inclusion and xylanase supplementation on the performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology of broilers. *British Poultry Science*, 45, 385-394.
34. Yaghobfar, A., Mirzaei, S., Valizadeh, H. & Safamehr, A. (2012). Determination of Non-Starch Polysaccharides (NSP) and metabolizable energy of Iran wheat varieties fed to poultry. Iranian *Journal of Animal Science Research*, 4(1), 25-3.
35. Yu, B., Tsai, C.C., Hsu, J.C. & Chiou, P.W.S. (1998). Effect of different sources of dietary fiber on growth performance, intestinal morphology and caecal carbohydrates of domestic geese. *British Poultry Science*, 39, 560-567.

Archive of SID

www.SID.ir