Archive of SID

تحقیقات تولیدات دامی

سال هشتم/شماره چهارم/زمستان ۱۳۹۸ (۹۰-۷۹)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

اثر آنزیم‌های فیتاز نوترکیب باکتریایی و قارچی به همراه نمونه تجاری بر عملکرد، غلظت کلسیم و فسفر استخوان و سرم خون در جوجه‌های گوشتی

مهدی کسرایی[1*]، ریحانه سریری[2]، علیرضا حسابی نامقی[3]، محمدرضا نصیری[4]، احمد آسوده[5]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه زیست شناسی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان

۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان

۳- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان آموزش، تحقیقات و ترویج کشاورزی

۴- استاد گروه تحقیقاتی پروتئین‌های نوترکیب، پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد

۵- استاد گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۰۹ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۲/۱۶)

چکیده

این پژوهش با هدف مقایسه اثر افزودن آنزیم‌های فیتاز نوترکیب باکتریایی و قارچی با نمونه تجاری بر عملکرد، فراسنجه‌های رشد و غلظت کلسیم و فسفر با استفاده از ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل تیمار اول: جیره پایه (بدون آنزیم)، تیمار دوم: جیره پایه همراه با آنزیم فیتاز ناتافوس، تیمار سوم: جیره پایه همراه با آنزیم تولیدی *باسیلوس سابتلیس*، تیمار چهارم: جیره پایه همراه با آنزیم تولیدی *اشرشیاکلی* و تیمار پنجم: جیره پایه همراه با آنزیم تولیدی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بودند. نتایج نشان داد که افزودن آنزیم به جیره‌ها سبب کاهش خوراک مصرفی در دوره رشد، پایانی و کل دوره شد ($P<۰/۰۵$). افزودن آنزیم فیتاز به جیره‌ها سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک در تمامی دوره‌ها شد ($P<۰/۰۵$). سن و وزن در نقطه عطف تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P<۰/۰۵$). بیشترین غلظت فسفر خون در ۲۱ روزگی متعلق به گروه مصرف‌کننده آنزیم تجاری بود ($P<۰/۰۵$). میزان فسفر و درصد خاکستر استخوان به طور معنی‌داری تحت تاثیر آنزیم‌های مصرفی قرار گرفت ($P<۰/۰۵$). در کل افزودن آنزیم فیتاز به جیره‌ها سبب بهبود ضریب تبدیل و کاهش مصرف خوراک نسبت به تیمار شاهد شد و اختلافی بین آنزیم تجاری و آنزیم‌های تولیدی مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم فیتاز، جوجه گوشتی، عملکرد رشد، غلظت کلسیم و فسفر

* نویسندهٔ مسئول: mk.jahad@yahoo.com

doi: 10.22124/ar.2019.12430.1381

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پس از آزمایشاتی در قرن ۱۸ که موجب روشن شدن نقش کلسیم و فسفر در ساخت و نگهداری استخوان‌ها در بدن شد، نشان داده شد که کمبود این عناصر می‌تواند به میزان زیادی عملکرد تولیدی انواع دام‌ها و طیور را تحت تاثیر قرار دهد. بخش عمده فسفر موجود در مواد خوراکی با منشاء گیاهی، مخصوصاً در دانه غلات، به صورت متصل به اسید فیتیک است که فسفر فیتاتی نامیده می‌شود. اسید فیتیک اصلی‌ترین منبع فسفر در غلات، حبوبات و دانه‌های روغنی است (سقایی و شکوری، ۱۳۹۵). بیش از ۹۰ درصد از زمین‌های کشاورزی دنیا به کشت انواع حبوبات، غلات و دانه‌های روغنی اختصاص یافته است که این محصولات منبع مهمی از مواد غذایی مورد نیاز برای حیوانات محسوب می‌شوند. یکی از عناصر و ترکیبات مهم این محصولات اسید فیتیک است. این ترکیب توانایی کلاته کردن یون‌های فلزی و پروتئین‌ها را دارد و به همین دلیل به عنوان یک ترکیب ضد تغذیه‌ای در نظر گرفته می‌شود (Tungala *et al*., 2013). فسفر فیتاتی در دانه غلات و بقولات به ترتیب ۵۰ تا ۷۵ درصد کل فسفر موجود در دانه را به خود اختصاص می‌دهد. فیتات با تشکیل کمپلکس نامحلول با مواد معدنی همانند نیکل، کبالت، منگنز، آهن و روی در جذب آنها ایجاد اختلال نموده و موجب کمبود آنها در انسان و دام و افزایش دفع آنها در مدفوع می‌شود (Kumar *et al*., 2012). از سوی دیگر، پائین بودن قابلیت دسترسی فسفر موجود در منابع گیاهی سبب ورود فسفر اضافی به آب‌های سطحی شده و موجب افزایش آلودگی آب می‌شود. میزان دفع فسفر در مدفوع خوک و طیور بیشتر از فسفر موجود در مدفوع سایر دام‌ها است، که این خود موجب افزایش حساسیت در ارتباط با آلودگی‌های زیست محیطی دفع فضولات خوک و طیور شده است. با توجه به بالا بودن قیمت نسبی منابع غیر آلی فسفر در مقایسه با منابع کلسیم جیره، مطالعات زیادی جهت بررسی راهکارهای کاهش دفع فسفر از راه مدفوع انجام شده است که از آن جمله می‌توان به کاهش سطح فسفر خوراک، استفاده از برنامه تغذیه مرحله‌ای فسفر، پرورش جداگانه جنس نر و ماده، تنظیم جیره بر اساس فسفر قابل دسترس بجای فسفر کل و استفاده از آنزیم فیتاز اشاره نمود (Afinah *et al*., 2010).

فیتازها گروه ویژه‌ای از فسفاتازها یا فسفریک منو استر هیدرولازها به حساب می‌آیند که قادر به هیدرولیز فیتات هستند و حداقل یک گروه فسفات را از این ماده جدا می‌کنند. این دسته از آنزیم‌ها در طبیعت گسترده هستند و فعالیت فیتازی در گیاهان، جانوران و ریزسازواره‌ها گزارش شده است (Mittal *et al*., 2013). فیتازها در مباحث تغذیه، حفاظت از محیط زیست و زیست‌فناوری مورد توجه دانشمندان و فعالان محیط زیست قرار گرفته‌اند. این دسته از آنزیم‌های هیدرولیز کننده قادر به رهاسازی فسفات به صورت مرحله‌ای از فیتات که منبع اصلی ذخیره فسفر در دانه گیاهان است، هستند (Igbasan *et al*., 2000). به این دلیل که حیوانات تک معده‌ای از قبیل خوک، پرندگان و ماهی‌ها (و همچنین انسان) در سیستم گوارشی خود فاقد آنزیم فیتاز هستند و یا فعالیت فیتازی آنها بسیار پائین است قادر به استفاده از فسفر موجود در فیتات نیستند (Lei and Stahl 2001; Lei and Porres, 2003). به خدمت گرفتن آنزیم‌های فیتاز در سال ۱۹۹۰ به دنبال جرایم سنگینی که برای تولیدکنندگان و پرورش‌دهندگان خوک و طیور در نتیجه آلودگی فسفات در مناطقی که تولید گسترده ای داشتند، آغاز شد. در این ارتباط، گروهی از فیتازها با نام تجاری Allzyme، Natuphos، Finase و Bio-Feed از منابع میکروبی تولیدکننده فیتاز، تولید و مورد استفاده قرار گرفته‌اند و توانسته‌اند ۲۵ تا ۵۰ درصد هدر رفت فسفر را کاهش دهند (Haefner *et al*., 2005; Selle and Ravindran, 2007). فیتازهایی که به جیره غذایی طیور و آبزیان اضافه می‌شوند باید دارای فعالیت ویژه بالا، موثر بر سوبستراهای مختلف، فعال در محدوده وسیعی از pH، پایداری خوب در زمان نگهداری و انجام فرآیند تهیه‌سازی جیره غذایی باشند (Lei *et al*., 2007).

فیتازها را بر اساس pH بهینه فعالیت به دو گروه کلی اسیدی و قلیایی تقسیم‌بندی می‌کنند. از گروه اول می‌توان به فیتازهای قارچی و باکتری‌های گرم منفی اشاره کرد که در pHهای اسیدی (۳/۵ تا ۶) فعال هستند و گروه دوم فیتاز تولیدی باکتری‌های جنس *باسیلیوس* که معمولاً فیتازهای قلیایی دارند (Oh *et al*., 2004). با توجه به نقش فیتازها در تغذیه دام و اینکه این انزیم باید درون سیستم گوارشی با pH

www.SID.ir

Archive of SID

اسیدی فعال باشد عمده تحقیقات روی فسفاتازهای اسیدی متمرکز است. آنزیم فیتاز از منابع مختلفی قابل استخراج است. سه منبع اصلی آن عبارتند از حیوانات، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها که شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها است که مهمترین منابع آنزیم منابع میکروارگانیسمی است که از بین آنها به نظر می‌رسد منبع باکتریایی از لحاظ خلوص از دیگر منابع بهتر باشد (Anis *et al.*, 2010; Yao *et al.*, 2012). جداسازی میکروارگانیسم‌ها از خاک‌های حاوی کود، بقایای گیاهی و ریشه گیاهان غنی از فیتات انجام می‌شود و تاکنون بیش از ۱۱ نوع قارچ جداسازی شده که دو سویه از آنها تولید کننده فیتاز خارج سلولی هستند. برای بهینه‌سازی از روشی به نام RSM یا Response surface methodology استفاده می‌شود (Dahiya *et al.*, 2009). بیشترین تولید فیتازها در قارچ‌ها انجام می‌شود، به ویژه قارچ جنس *آسپرژیلوس نایجر* که به صورت خارج سلولی و در pH اسیدی به طور طبیعی تولید آنزیم فیتاز می‌کند. در حالی که در تولید آنزیم نوترکیب باکتریایی *باسیلوس*، آنزیم تولیدی خارج سلولی با pH بهینه قلیایی و آنزیم تولیدی *اشرشیاکلی* اسیدی، داخل سلولی بوده و مقاوم به تجزیه پروتئولتیک‌ها (پروتئازها) است. بیشترین قابلیت دسترسی به فسفر در جوجه‌های گوشتی در هنگام استفاده از فیتاز باکتری *اشرشیاکلی* مشاهده شده است (گودرزی و همکاران، ۱۳۹۶). و از این رو با توجه به pH و فعالیت آنزیمی به عنوان یکی از اصلی‌ترین فیتازها، در تحقیقات با مبنای تولید صنعتی آنزیم مورد توجه قرار می‌گیرد. به همین دلیل در صنعت تغذیه طیور مخلوطی از هر دو آنزیم باکتریایی و قارچی توصیه می‌شود که هم دارای کارآیی بالا بوده و هم مقاوم به تجزیه باشد.

یکی از روش‌های موثر جهت بهبود قابلیت هضم فیتات در جیره حیوانات، توسعه صنعت تولید آنزیم و مکمل کردن جیره‌ها با منابع فیتاز میکروبی یا قارچی است. لذا با توجه به اهمیت آنزیم فیتاز در صنعت طیور و آبزیان به جهت مصرف سالیانه تقریباً ۹۰۰ تن آنزیم در کشور، هدف از انجام این پژوهش تولید آنزیم‌های فیتاز با سویه‌های باکتریایی و قارچی در جهت یافتن آنزیمی با کارآیی بالا بود. بنابراین آنزیم‌های نوترکیب باکتریایی (*اشرشیاکلی* و *باسیلوس*) و قارچی را در محیط آزمایشگاهی تولید نموده و با نمونه وارداتی این آنزیم (ناتافوس) مقایسه نموده و تاثیر آنها را بر عملکرد، فراسنجه‌های رشد و غلظت کلسیم و فسفر در خون و استخوان جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مرغداری مرکز تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی خراسان رضوی واقع در شهر مشهد مقدس در بهار سال ۱۳۹۷ انجام شد. در این پژوهش از تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه (مخلوط) سویه راس ۳۰۸ که در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج تیمار، چهار تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر واحد آزمایشی تقسیم شدند، استفاده شد. در این آزمایش، سه جیره غذایی آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۸-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۹ روزگی) بر اساس احتیاجات توصیه شده تنظیم شد (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی در این پژوهش شامل تیمار اول: جیره پایه (بدون آنزیم)، تیمار دوم: جیره پایه همراه با آنزیم فیتاز تجاری ناتافوس، تیمار سوم: جیره پایه همراه با آنزیم تولیدی *باسیلوس سابتلیس*، تیمار چهارم: جیره پایه همراه با آنزیم تولیدی *اشرشیاکلی* و تیمار پنجم: جیره پایه همراه با آنزیم تولیدی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بودند. جیره تیمار اول (شاهد) فاقد هرگونه آنزیمی بود و به جیره سایر تیمارها یک کیلوگرم بر تن از آنزیم‌های مورد مطالعه افزوده شد. مقدار خوراک مصرفی به ازای هر جوجه به صورت هفتگی محاسبه و در اختیار آنها قرار گرفت. دسترسی به آب و خوراک در کل دوره به صورت آزاد بود. وزن‌کشی جهت برآورد فراسنجه‌های رشد دو بار در هفته انجام شد. مقدار خوراک مصرفی و افزایش وزن جوجه‌های گوشتی در تیمارهای مختلف در دوره‌های مختلف شامل دوره آغازین (یک تا ۱۰ روزگی)، دوره رشد (۱۱ تا ۲۸ روزگی)، دوره پایانی (۲۹ تا ۴۲ روزگی) و کل دوره پرورش (۱ تا ۴۲ روزگی) گزارش شد. تعداد تلفات در هر پن به صورت روزانه ثبت و تعداد تلفات در محاسبه خوراک مصرفی و افزایش وزن منظور شد و ضریب تبدیل خوراک نیز محاسبه شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- ترکیبات جیره (بر اساس درصد از ماده خشک)

Table 1. The diet composition (based on % of DM)

Ingredients (%)	Starter (1-10 day)	Grower (11-28 day)	Finisher (29-42 day)
Corn	53.62	53.71	50.96
Wheat	3.00	7.50	15.00
Soybean meal	37.00	32.00	27.30
Dicalcium phosphate	1.85	1.73	1.60
Calcium carbonate	1.07	0.97	0.95
Salt	0.39	0.36	0.32
Oil Soybean	2.00	2.70	2.90
L-Lysine Hydrocoloride	0. 30	0.23	0.22
DL-Methionine	0.17	0.2	0.15
Vitamin premix	0.25	0.25	0.25
mineral premix	0.25	0.25	0.25
Phytase enzyme	0.10	0.10	0.10
Calculated composition			
ME (kcal/kg)	3000	3020	3060
Crude protein (%)	21.5	20.5	19.5
Ca (%)	1	0.96	0.94
Available phosphors (%)	0.5	0.48	0.47
Total Methionine (%)	0.7	0.6	0.5
Total Lysine (%)	1.2	1.1	1.0
Total Arginine(%)	1.29	1.19	1.01
Met. + Cys. (%)	0.81	0.78	0.69
Total Threonine (%)	0.73	0.68	0.59
Thryptophan(%)	0.21	0.18	0.16

جهت ارزیابی غلظت کلسیم و فسفر خون، در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی دوره آزمایش از هر تکرار دو قطعه جوجه به صورت تصادفی انتخاب شدند. پس از خونگیری از ورید بال، نمونه‌های خون به آزمایشگاه منتقل و برای جدا شدن سرم از لخته به مدت ۲ تا ۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از گذشت این زمان برای اطمینان از عدم باقی ماندن لخته خون به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس نمونه‌های سرم جداسازی شده به میکروتیوپ منتقل شدند و تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌های مورد نظر در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (Sousa *et al.*, 2015). برای اندازه‌گیری غلظت کلسیم و فسفر خون از کیت‌های پارس آزمون و دستگاه یون آنالیزر مدل RA1000 استفاده شد.

در سن ۴۲ روزگی، دو قطعه جوجه از هر تیمار به طور تصادفی انتخاب و جداگانه وزن‌کشی، ذبح و استخوان‌های ران هر یک جدا و به طور جداگانه جهت تعیین میزان کلسیم، فسفر و خاکستر نگهداری شدند. میزان خاکستر با استفاده از روش AOAC اندازه‌گیری شد (AOAC, 1990). درصد کلسیم خاکستر با استفاده از روش تیتراسیون و اندازه‌گیری درصد فسفر خاکستر با استفاده از روش معرف (مخلوط مساوی از مونووانادات آمونیوم، هپامولیبدات آمونیوم و اسید نیتریک ۱ به ۲) و دستگاه اسپکتروفتومتر (طول موج ۴۳۰ نانومتر) اندازه‌گیری شد (Helrich, 2005).

در این پژوهش، آنزیم‌های فیتاز قارچی و باکتریایی بر اساس روش‌های مختلف خالص‌سازی شامل: سانتریفوژ، رسوب‌دهی سولفات آمونیوم، دیالیز، کروماتوگرافی تعویض یونی نیکل، Q سافاروز، پلی آکریل آمید الکتروفروز و فریزداریر (Kathiresan *et al*., 2006; Rodehutscord *et al*., 2006; Nadargolu and Tasgin, 2013) با استفاده از منابع قارچی و باکتریایی نوترکیب، در محیط آزمایشگاهی داخل کشور (پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه فردوسی مشهد) تولید شد. تولید آنزیم فیتاز از قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بر پایه روش Dahiya *et al.* (2009)، تولید آنزیم فیتاز باکتریایی *باسیلوس* بر پایه روش Shimizu (1992) و *اشرشیاکلی* بر پایه روش Nadargolu and Tasgin (2013) انجام شد. صحت تولید پروتئین نوترکیب با استفاده از روش SDS-PAGE مورد بررسی شد و سلول‌های باکتری معلق در محیط‌های کشت با استفاده از دستگاه سانتریفوژ (۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰rpm) به شکل پلت جمع‌آوری شد. با توجه به اینکه آنزیم فیتاز باکتریایی قلیایی و اسیدی، داخل سلولی هستند لذا پلت‌های

www.SID.ir

Archive of SID

حاصل در داخل بافر استات حل شده و سپس با استفاده از دستگاه التراسونیک روی یخ تحت تیمار قرار گرفتند و در نهایت نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار با دور ۴۰۰۰rpm سانتریفوژ شده و سپس جهت تغلیظ (روش رسوب‌دهی سولفات آمونیوم) مورد استفاده قرار گرفتند. با توجه به اینکه این پروتئین‌ها به شکل نوترکیب تولید شده‌اند و دارای His-taq در انتهای خود هستند، لذا خالص‌سازی برای آنها با استفاده از روش کروماتوگرافی با ستون نیکل انجام شد (جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی). در نهایت محلول حاصل فریزدرایر شد و سپس فعالیت آنزیمی آنزیم‌های تولیدی اندازه‌گیری شد (Popanich *et al*., 2003).

پس از جمع‌آوری اوزان بدن جوجه‌های گوشتی، به منظور برآورد فراسنجه‌های رشد از تابع رشد گمپرتز استفاده شد که تابع مربوط به آن به صورت زیر است:

$$Wt=W0\times\exp\left((1-\exp(-b\times t))\times(\log(W_f/W_0))\right)$$

که در آن، W_t وزن واقعی جوجه در زمان t (بر حسب روز)، W_0 فراسنجه مرتبط با وزن اولیه جوجه(بر حسب گرم)، W_f فراسنجه مرتبط با وزن نهایی (بر حسب گرم)، و b فراسنجه مرتبط با سرعت رشد است. در این تابع، Exp نماد عدد نپر است. برای محاسبه و تخمین زمان مرتبط با نقطه عطف منحنی رشد (T_i، بر حسب روز)، وزن در نقطه عطف منحنی (W_i، بر حسب گرم) و نرخ رشد (GR، گرم بر روز) با استفاده از فراسنجه‌های برآورد شده در مدل، از روابط زیر استفاده شد. از رویه Nlin (غیرخطی) نرم‌افزار SAS برای برازش منحنی رشد با استفاده از تابع مزبور و برآورد پارامترهای آن، استفاده شد. تابع مزبور بر داده‌های وزن جوجه‌ها از سن یک تا روز ۴۲ آزمایش برازش داده شد.

$$T_i=1/b\{\ln(\ln(W_f/W_0))\}$$
$$W_i=0.368W_f$$
$$GR=bW\ln(W_f/W).$$

جهت تجزیه داده‌های عملکرد، فراسنجه‌های رشد، خون و استخوان از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (ویراست ۹/۱) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی-کرامر و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های عملکرد شامل افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک در جدول ۲ ارائه شده است. در دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)، خوراک مصرفی و افزایش وزن تحت تأثیر آنزیم فیتاز قرار نگرفت ($P>0/05$). افزودن آنزیم‌های فیتاز تجاری و نوترکیب تولیدی به جیره‌ها به طور معنی‌داری سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک شد ($P<0/05$)، به طوری که تیمار شاهد بالاترین ضریب تبدیل خوراک را در این دوره به خود اختصاص داد. در دوره رشد (۱۱ تا ۲۸ روزگی)، خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای ازمایشی قرار گرفت، به طوری که پایین‌ترین عملکرد مربوط به تیمار شاهد (جیره پایه بدون آنزیم) بود ($P<0/05$). در دوره پایانی (۲۸ تا ۴۲ روزگی)، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک تحت تاثیر افزدون آنزیم قرار گرفت و بیشترین خوراک مصرفی و ضریب تبدیل مربوط به تیمار شاهد بود ($P<0/05$). همچنین تیمار سوم (آنزیم فیتاز تولیدی باکتریایی *باسیلوس*) کمترین خوراک مصرفی و بهترین ضریب تبدیل را در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی داشت. در دوره پایانی، افزایش وزن تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0/05$).

در کل دوره پرورش (۱ تا ۴۲ روزگی)، خوراک مصرفی تیمار شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود و تیمار مصرف‌کننده جیره پایه همراه با آنزیم فیتاز تولیدی باکتریایی *باسیلوس* کمترین خوراک مصرفی را داشتند ($P<0/05$). در این دوره، افزایش وزن تحت تاثیر افزودن آنزیم قرار نگرفت و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P>0/05$). بیشترین و کمترین ضریب تبدیل خوراک در کل دوره به ترتیب به تیمار شاهد و تیمار مصرف‌کننده جیره پایه همراه با آنزیم فیتاز تولیدی *اشرشیاکلی* مربوط بود ($P<0/05$). در کل نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن آنزیم فیتاز به جیره به طور معنی‌داری سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی شد. همچنین همانگونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری بین عملکرد جوجه‌های مصرف‌کننده جیره‌های حاوی آنزیم تجاری و آنزیم‌های نوترکیب تولیدی نبود و از نظر عددی عملکرد جوجه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

مصرف‌کننده جیره‌های حاوی آنزیم‌های نوترکیب تولیدی بهتر از آنزیم تجاری بود.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که آنزیم فیتاز علاوه بر آزادسازی کلسیم و فسفر در بهبود قابلیت دسترسی حیوان به انرژی و پروتئین مواد خوراکی نیز نقش دارد (Tamim *et al*., 2004). همچنین مصرف جیره دارای کاهش فسفر غیرفیتاتی و کلسیمی در جوجه‌های گوشتی سویه راس ۲۱ روزه سبب افزایش اضافه وزن و ضریب تبدیل شده است، در حالی که با افزایش آنزیم فیتاز به همین جیره راندمان بهتری نسبت به کلسیم و فسفر غیرفیتاتی جیره طبیعی از نظر اضافه وزن، ضریب تبدیل و جذب کلسیم و فسفر مشاهده شد. محققین گزارش نمودند که افزودن آنزیم فیتاز به خوراک جوجه‌ها میزان رشد آنها را افزایش می‌دهد و میزان افزایش وزن با مقدار آنزیم فیتاز افزوده شده در خوراک رابطه مستقیم دارد (Pirgozliev *et al*., 2010).

بر خلاف نتایج حاضر، محققین گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری در مقدار خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی مصرف‌کننده آنزیم‌های فیتاز با هم و با گروه شاهد مشاهده نشد (گودرزی و همکاران، ۱۳۹۶)، در حالی که محققین دیگر بیان داشتند که استفاده از فیتاز به واسطه افزایش قابلیت هضم نشاسته و افزایش بهره‌بری از پروتئین‌ها سبب بهبود مصرف خوراک می‌شود (Juanpere *et al*., 2004). در رابطه با تاثیر آنزیم بر وزن بدن، بین وزن بدن گروه‌های مصرف‌کننده آنزیم با گروه شاهد در کل دوره اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در این خصوص محققین گزارش کردند که افزودن آنزیم فیتاز اثر معنی‌داری بر وزن بدن و اضافه وزن روزانه نداشته است (گودرزی و همکاران، ۱۳۹۶)، در حالی که محققان دیگر بیان داشتند که افزودن فیتاز به واسطه افزایش قابلیت استفاده از فسفر، پروتئین، اسیدهای آمینه و افزایش قابلیت هضم نشاسته می‌تواند از جمله دلایل افزایش وزن جوجه‌ها گوشتی باشد (Kiarie *et al*., 2015). محققین بهبود معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک در گروه‌های مصرف‌کننده آنزیم فیتاز را گزارش نموده‌اند که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (شهسواری، ۱۳۹۵؛ Cowieson *et al*., 2013). از آنجایی که ضریب تبدیل از نسبت خوراک مصرفی به افزایش وزن بدست می‌آید، دلایل بهبود ضریب تبدیل خوراک در زمان افزودن آنزیم فیتاز به جیره باید به این عوامل ارتباط یابد.

فراسنجه‌های رشد و نرخ رشد جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با آنزیم‌های تولیدی که با مدل غیرخطی گمپرتز برآورد شدند در جدول ۳ ارائه شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود وزن اولیه (W_0)، ثابت رشد (b)، وزن نهایی (W_f) و نرخ رشد تحت تاثیر آنزیم‌های افزوده شده به جیره قرار نگرفتند و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). سن در نقطه عطف (T_i) و وزن در نقطه عطف (W_i) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد با تیمارهای مصرف‌کننده جیره‌های حاوی آنزیم فیتاز مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). تیمار شاهد کمترین وزن در نقطه عطف (۱۲۸۰ گرم) و بیشترین سن در نقطه عطف (۳۳ روز) را به خود اختصاص داد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P<۰/۰۵$). بیشترین وزن در نقطه عطف در تیمار سوم (آنزیم فیتاز تولیدی باکتریایی *باسیلوس*) بدست آمد که در ۳۰ روزگی مشاهده شد، اما این اختلاف از نظر آماری با سایر تیمارها معنی‌دار نشد. مطالعات نشان داده است که مدل‌های غیرخطی نه تنها از نظر ریاضی توصیف‌کننده روند رشد هستند، بلکه تخمینی از رابطه بین احتیاجات غذایی و وزن زنده را نشان می‌دهند. شکل منحنی حاصل از برازش مدل گمپرتز نشان می‌دهد که بیشترین رشد در هر نقطه از زمان متناسب با شرایط تغذیه‌ای و محیطی ایجاد شده خواهد بود و این مدل تجربی یک رابطه ریاضی را بین متغیر وابسته و متغیر مستقل بر پایه فرضیات نظری رشد بدون در نظر گرفتن روند زیستی مرتبط با آن توصیف می کند.

منحنی رشد جوجه‌های گوشتی مصرف‌کننده جیره‌های مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود کمترین رشد در طول زمان پرورش متعلق به تیمار شاهد بود، که عملکرد رشد آن طی زمان از تمامی گروه‌های مصرف‌کننده آنزیم فیتاز کمتر بود.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- اثرآنزیم‌های فیتاز مختلف بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

Table 2. Effect of different phytase enzymes on performance of broiler chickens

	Control	Nataphus	*Bacillus subtilis* enzyme	*E. coli* enzyme	*Aspergillus niger* enzyme	SEM	*P*-value
Starter (1 to 10 day)							
Feed intake (g)	287	276	279	288	287	8.11	0.7862
Weight gain (g)	241	234	240	248	241	8.81	0.3144
FCR	1.3^{a}	1.18^{ab}	1.16^{b}	1.16^{b}	1.19^{ab}	0.03	0.0466
Grower (11 to 28 day)							
Feed intake (g)	1728^{a}	1479^{b}	1482^{b}	1424^{b}	1497^{b}	28.40	0.0066
Weight gain (g)	1015^{a}	955^{b}	946^{b}	958^{b}	960^{b}	16.27	0.0221
FCR	1.70^{a}	1.54^{b}	1.56^{b}	1.48^{b}	1.56^{b}	0.043	0.0001
Finisher (29 to 42 day)							
Feed intake (g)	1920^{a}	1793^{b}	1752^{b}	1823^{ab}	1812^{ab}	24.94	0.0348
Weight gain (g)	942	954	957	971	978	23.62	0.6998
FCR	2.03^{a}	1.88^{b}	1.83^{b}	1.87^{b}	1.85^{b}	0.02	0.0001
Total period (1 to 42 day)							
Feed intake (g)	3935^{a}	3550^{b}	3514^{b}	3537^{b}	3597^{b}	36.44	0.0001
Weight gain (g)	2177	2145	2144	2179	2172	23.26	0.8268
FCR	1.77^{a}	1.62^{b}	1.60^{b}	1.59^{b}	1.62^{b}	0.016	0.0001

$^{a-b}$ Means in the same rows with no common superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۳- اثر آنزیم‌های فیتاز مختلف بر فراسنجه‌های رشد جوجه‌های گوشتی

Table 3. Effect of different phytase enzymes on growth parameters of broiler chickens

	W_0 (g)	b	W_f (g)	W_i (g)	T_i (day)	GR10 (g)	GR21 (g)	GR28 (g)	GR42 (g)
Control	55.15	0.046	3892	1280^{b}	33.54^{a}	33.82	60.92	66.51	58.80
Phytase enzyme (Nataphus)	64.52	0.045	4615	1514^{a}	30.25^{b}	36.41	61.98	69.18	66.74
Bacillus subtilis enzyme	57.02	0.046	4278	1574^{a}	30.85^{b}	34.63	60.07	67.86	64.80
E. coli enzyme	57.48	0.045	4657	1455^{ab}	31.88^{b}	34.60	60.46	71.85	71.40
Aspergillus niger enzyme	54.67	0.050	3988	1467^{ab}	29.36^{b}	34.00	64.28	71.24	62.50
SEM	1.700	0.001	161	34	0.632	0.411	0.803	0.929	1.913
P-value	0.4326	0.5537	0.4918	0.0430	0.0486	0.3061	0.5285	0.3519	0.3269

$^{a-b}$ Means in the same column with no common superscripts differ significantly (P<0.05). W_0: Initial weight; b: Growth constant; W_f: Final weight; W_i: Weight at inflection point; T_i: Time at inflection point; GR10: Growth rate at 10 days of age; GR21: Growth rate at 21 days of age; GR28: Growth rate at 28 days of age; GR42: Growth rate at 42 days of age

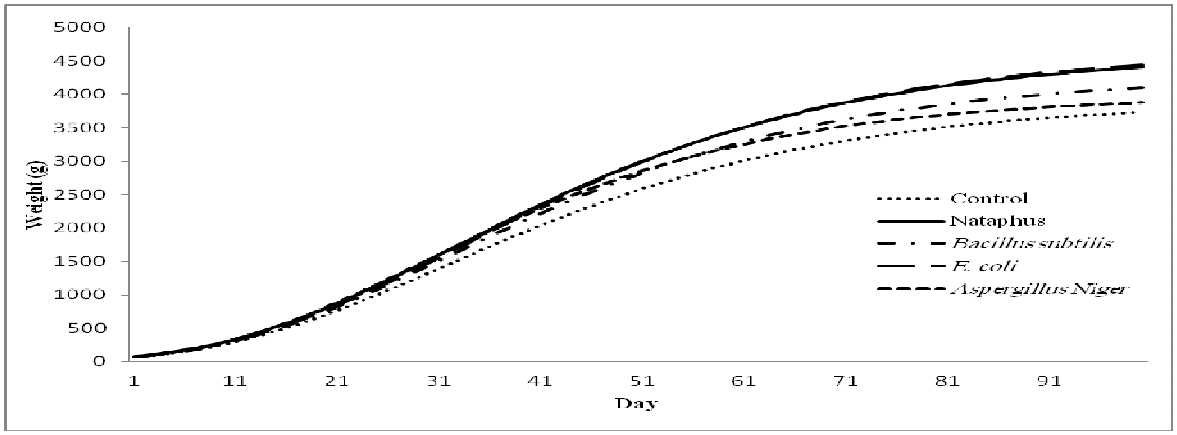

Fig. 1. Growth curve of broiler chicken fed by different Phytase enzymes

شکل ۱- منحنی رشد جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با آنزیم‌های فیتاز مختلف

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر افزودن آنزیم‌های فیتاز تجاری و تولیدی نوترکیب بر غلظت کلسیم و فسفر خون در روزهای ۲۱ و ۴۲ پرورش در جدول ۴ نشان داده شده است. غلظت کلسیم خون در هیچ یک از روزهای نمونه‌برداری تحت تاثیر افزودن آنزیم قرار نگرفت و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P>۰/۰۵). کلسیم دارای میل ترکیبی اندکی با اسید فیتیک است، اما مهمترین نمک معدنی بعد از فسفر است که بر زیست‌فراهمی آن تاکید شده است زیرا مولکول‌های فیتات بخشی از کلسیم موجود در دستگاه گوارش را غیرفعال می‌کنند و به نظر می‌رسد که این تاثیر به دلیل کم بودن نسبت کلسیم به فسفر در فیتات گیاهی نسبت به این ترکیب در دستگاه گوارش است. از آنجایی که افزایش غلظت کلسیم جیره سبب کاهش فعالیت آنزیم فیتاز می‌شود، لذا آنزیم فیتاز افزوده شده به جیره نتوانست با تاثیر بر اسید فیتیک سبب آزادسازی کلسیم و افزایش زیست‌فراهمی آن و در نتیجه افزایش کلسیم خون شود (Onyango *et al*., 2004). این نتایج با نتایج سایر محققین (Iqbal-Anjum *et al*., 2018) که از آنزیم فیتاز در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده کردند و بیان داشتند که افزودن آنزیم به جیره‌ها اثر معنی‌داری بر غلظت کلسیم خون نداشت مطابقت دارد.

غلظت فسفر خون در ۲۱ روزگی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و بیشترین غلظت فسفر خون متعلق به گروه مصرف‌کننده آنزیم تجاری بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). تیمارهای آزمایشی تاثیر معنی‌داری بر غلظت فسفر خون در ۴۲ روزگی نداشتند (P>۰/۰۵). اختلاف بین غلظت فسفر سرم خون جوجه‌های گوشتی مصرف‌کننده جیره حاوی آنزیم فیتاز تجاری با دیگر تیمارها ممکن است به این علت باشد که فسفر سرم خون با فسفر قابل دسترس جیره‌ها ارتباط دارد و سطح فسفر خون ناشی از تنظیم تعادل داخلی فسفر است و پائین بودن فسفر سرم خون نشان‌دهنده پائین بودن ذخیره فسفر بدن، ناشی از قابلیت دسترسی کمتر فسفر جیره، است. کاهش فسفر جیره باعث کاهش میزان فسفر در استخوان می‌شود و استخوان نمی‌تواند در پاسخ به هورمون پاراتیروئید فسفر آزاد کرده و سبب تنظیم فسفر خون شود، در نتیجه فسفر خون پائین می‌آید (Lan *et al*., 2002).

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد کلسیم، فسفر و خاکستر استخوان در جدول ۵ نشان داده شده است. درصد کلسیم استخوان تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). این نتیجه را می‌توان به میزان آنزیم استفاده شده در جیره و درصد کلسیم و فسفر جیره غذایی مرتبط دانست، چون عملکرد مطلوب آنزیم‌های فیتاز در جیره‌های دارای کمبود کلسیم مشاهده شده است. در همین راستا محققین گزارش کردند افزودن سطوح ۳۷۵، ۷۵۰ و ۱۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز به جیره غذایی حاوی سطوح پایین کلسیم سبب کاهش درصد ابقاء کلسیم در استخوان درشت‌نی نسبت به گروه شاهد شد (Selle and Ravindran, 2007)، در حالی که افزودن ۶۰۰۰ و ۱۲۰۰۰ واحد فیتاز به جیره غذایی باعث افزایش ابقای کلسیم در استخوان درشت‌نی نسبت به گروه شاهد شد (Ravindran, 1995).

جدول ۴- اثر آنزیم‌های فیتاز مختلف بر غلظت کلسیم و فسفر سرم خون (۲۱ و ۴۲ روزگی) جوجه‌های گوشتی

Table 4. Effect of different phytase enzymes on the concentrations of serum calcium and phosphorus (21 and 42 days of age) of broiler chickens

	Serum calcium (mg/dL)		Serum phosphorus (mg/dL)	
	21 d	42 d	21 d	42 d
Control	6.8	6.67	5.7 [b]	6.31
Commercial enzyme	6.5	6.97	7.4 [a]	6.64
Bacillus subtilis enzyme	5.4	5.3	5.3 [b]	6.67
E. coli enzyme	6.9	7.2	5.3 [b]	7.63
Aspergillus niger enzyme	6.1	5.57	5.27 [b]	5.80
SEM	0.54	0.94	0.52	0.83
P-value	0.3508	0.5166	0.0469	0.6320

[a-b] Means in the same column with no common superscripts differ significantly (P<0.05).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- اثر آنزیم‌های فیتاز مختلف بر غلظت کلسیم و فسفر خاکستر استخوان ران جوجه‌های گوشتی

Table5. Effect of different phytase enzymes on the concentrations of calcium and phosphorus in femur bone ash of broiler chickens

	Calcium of ash	Phosphorus of ash	Ash (%)
Control	35.32	17.12 [b]	43.21 [d]
Commercial enzyme	35.47	17.27 [b]	47.99[ab]
Bacillus subtilis enzyme	35.57	17.47 [b]	49.79[a]
E. coli enzyme	36.02	18.62 [a]	45.88 [c]
Aspergillus niger nzyme	35.47	17.62 [b]	47.44 [bc]
SEM	0.17	0.16	0.61
P-value	0.1064	0.0001	0.0001

[a-d] Means in the same column with no common superscripts differ significantly ($P<0.05$).

میزان فسفر استخوان با افزودن آنزیم نوترکیب تولیدی باکتری *اشرشیاکلی* (تیمار ۴) به طور معنی‌داری بیشتر از میزان فسفر گروه شاهد و سایر گروه‌ها بود ($P<۰/۰۵$). درصد خاکستر استخوان نیز به طور معنی‌داری تحت تاثیر آنزیم‌های مصرفی قرار گرفت، به طوری که به ترتیب بیشترین و کمترین درصد استخوان مربوط به تیمار ۳ (آنزیم نوترکیب تولیدی باکتری *باسیلیوس*) و تیمار ۴ (آنزیم نوترکیب تولیدی باکتری *اشرشیاکلی*) بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند ($P<۰/۰۵$).

محققین گزارش کردند افزودن آنزیم فیتاز به جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش درصد فسفر استخوان درشت‌نی می‌شود (Nourmohammadi *et al*., 2012; Iqbal-Anjum *et al*., 2018). محققین دیگر تأثیر استفاده از سطوح متفاوت آنزیم‌های تجاری ناتافوس و رونوزایم و همچنین فیتاز استخراج شده از باکتری *اشرشیاکولی* را بر درصد خاکستر استخوان درشت‌نی بررسی کردند و نتایج نشان داد که بیشترین درصد خاکستر بدست آمده مربوط به اثر استفاده از آنزیم استخراجی از باکتری *اشرشیاکولی* بوده است چون این آنزیم منجر به آزادسازی بیشتر فسفر (حدود ۰/۱۲۵ درصد) در مقایسه با افزودن ناتافوس و رونوزایم شد (Augspurger *et al*., 2003). همچنین این محققین بیان داشتند که استفاده ترکیبی از آنزیم‌ها به واسطه امکان شروع جداسازی فسفر از جایگاه‌های متفاوت در مولکول اسید فیتیک تاثیر بیشتری دارد. محققان نشان دادند که با افزایش سطح آنزیم فیتاز در جیره میزان کلسیم (تا ۹ درصد)، فسفر (تا ۱۰ درصد) و روی (تا ۱۶ درصد) افزایش می‌یابد (Brenes *et al*., 2003). همچنین گزارش شده است که افزودن آنزیم فیتاز به جیره سبب افزایش خاکستر استخوان (تا ۴ درصد) و افزایش کلسیم (تا ۲ درصد) و فسفر استخوان ران (تا ۱ درصد) جوجه‌های گوشتی شد (Ashraf Khan *et al*., 2013)، که نتایج تحقیق حاضر نیز افزایش معنی‌دار خاکستر و فسفر را تائید می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که افزودن آنزیم فیتاز به جیره‌ها سبب بهبود ضریب تبدیل و کاهش مصرف خوراک نسبت به تیمار شاهد شد و اختلاف معنی‌داری بین آنزیم‌های نوترکیب تولیدی با آنزیم تجاری استفاده شده وجود نداشت. هر چند بیشترین غلظت فسفر خون در ۲۱ روزگی متعلق به گروه مصرف‌کننده آنزیم تجاری بود، اما میزان فسفر استخوان با افزودن آنزیم نوترکیب تولیدی باکتری *اشرشیاکلی* بالاتر از سایر تیمارها بود. لذا می‌توان با تولید این آنزیم در کشور با توجه به وجود امکانات، شرایط و دانش فنی موجود، کشور را از واردات آنزیم فیتاز بی‌نیاز نمود. در نهایت پیشنهاد می‌شود آنزیم‌های تولیدی با استفاده از جیره‌های دارای کمبود فسفر نیز آزمایش شوند و میزان تاثیر آنها در شرایط کمبود فسفر بررسی شود. همچنین جهت بررسی اثر هم‌افزایی آنزیم‌ها، از مخلوط آنزیم‌های تولیدی قارچی و باکتریایی در جیره‌ها استفاده شود.

www.SID.ir

Archive of SID

فهرست منابع

سقایی ع.، و شکوری م. د. ۱۳۹۵. اثر افزودن فیتاز میکروبی و پلی‌اتیلن‌گلیکول به جیره حاوی سورگوم بر عملکرد رشد و ثبات اکسیداتیو گوشت جوجه‌های گوشتی. تحقیقات تولیدات دامی، ۵(۱): ۵۳-۶۲.

شهسواری ک. ۱۳۹۵. بررسی اثر متقابل بین تعادل کاتیون-آنیون جیره و فیتاز میکروبی بر عملکرد، خصوصیات لاشه و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی. تحقیقات تولیدات دامی، ۵(۲): ۱۳-۲۴.

گودرزی ن.، قیصری ع. ع.، و طغیانی م. ۱۳۹۶. تاثیر نوع عمل آوری خوراک و فیتاز بر عملکرد و قابلیت هضم فسفر در جوجه‌های گوشتی. پژوهش‌های تولیدات دامی، ۱۸: ۳۸-۴۶.

Afinah S., Yazid A. M., AnisShobirin M. H. and Shuhaimi M. 2010. Phytase: application in food industry. International Food Research Journal, 17: 13-21.

AOAC. 1990. Official Method of Analysis .Vol. 1, 15th ed. Association Official of Analytical Chemists, Arlington, VA.

Ashraf Khan S. H., Chaudhry H. R., Mustafa Y. S. and Jamee T. 2013. The effect of phytase enzyme on the performance of broilers. Biologia, 59(1): 99-106.

Augspurger N. R., Webel D. M., Lei X. G. and Baker D. H. 2003. Efficacy of *e.coli* phytas expressedin yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. Journal of Animal Science, 81: 474-483.

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

Cowieson A. J., Ptak A., Mackowiak P., Sassek M., Pruszynska-Oszmalek E., Zyla K., Swiatkiewicz S., Kaczmarek S. and Józefiak D. 2013. The effect of microbial phytase and myo-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. Poultry Science, 92(8): 2124-2134.

Dahiya S., Namita S. and Rana J. S. 2009. Sonia D. and Namita S. 2009. Optimization of growth parameters of phytase producing fungus using RSM. Journal of Scientific and Industrial Research, 68: 955-959.

Helrich K. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC), chapter 9,18th Edition.

Igbasan F. A., Manner K., Miksch G., Borriss R., Farouk A. and Simon O. 2000. Comparative studies on the *in vitro* properties of phytases from various microbial origins. Archives of Animal Nutrition, 53: 353-373.

Iqbal- Anjum M., Javaid S. H. and Ahmad-Nadeem M. 2018. Effect of supplementing microbial phytase on broiler chicks fed low di-calcium phosphate diets. Pakistan Journal of Zoology, 50(1): 347-351.

Juanpere J., Pérez-Vendrell A. M. and Brufau J. 2004. Effect of microbial phytase on broilers fed barley-based diets in the presence or not of endogenous phytase. Animal Feed Science and Technology, 115: 265-279.

Kathiresan K. and Manivannan S. 2006. α-amylase production by Penicillium fellutanum isolated from mangrove rhizosphere soil. African Journal of Biotechnology, 5: 829-832.

Kiarie E., Woyengo T. and Nyachoti C. M. 2015. Efficacy of new 6-phytase from Buttiauxella spp. on growth performance and nutrient retention in broiler chickens fed corn soybean meal-based diets. Asian Australiasian Journal of Animal Science, 28(10): 1479-1487.

Kumar V., Sinha A. K., Makkar H .P .S., De-Boeck G. and Becker K. 2012. Phytate and phytase in fish nutrition. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 96: 335-364.

Lan G. Q., Abdullah N., Jalaludin S. and Ho Y. W. 2002. Efficacy of supplementation of a phytase producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. Poultry Science, 81: 1522-1532.

Lei G. X. and Poress J. M. 2003. Phytase enzyomology, applications, and biotechnology. Biotechnology Letters, 25: 787-1794.

Lei G. X. and Stahl C. H. 2001. Biotechnological development of effective phytases for mineral nutrition and environmental protection. Applied Microbiology and Biotechnology, 57: 474-481.

Lei G. X., Porres J. M., Mullaney E. J. and Brinch-Pedersen H. 2007. Phytase: Source, structure and application. In: Polaina J., MacCabe A. P. (eds) Industrial Enzymes. Springer, Dordrecht.

Mittal A., Gupta V., Singh G., Yadav A. and Aggarwal N. K. 2013. Phytase: A boom in food industry. Octa Journal of Biosciences, 1(2): 158-169.

Nadargolu H. and Tasgin E. 2013. Purification and characterization of laccase from *Lactarius volmus* and its application of removal phenolic compound from some fruit juices. International Journal of Food, Agriculture and Environment, 11(3): 109-114.

www.SID.ir

Archive of SID

Nourmohammadi R., Hosseini S. M., Farhangfar H. and Bashtani M. 2012. Effect of citric acid and microbial phytase enzyme on ileal digestibility of some nutrients in broiler chicks fed corn-soybean meal diets. Italian Journal of Animal Science, 11(7): 36-40.

Oh B. C., Choi-Park S., Kim Y. O. and Oh T. K. 2004. Biochemical properies and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. Applied Microbiology and Biotechnology, 63: 362-372.

Onyango E. M., Bedford M. R. and Adeola O. 2004. The yeast production system in which *Escherichia coli* phytase is expressed may affect growth performance, bone ash and nutrient use in broiler chicks. Poultry Science, 83: 421-427.

Pirgozliev V., Karadas F., Pappas A., Acamovic T. and Bedford M. R. 2010. The effect on performance, energy metabolism and hepatic carotenoid content when phytase supplemented diets were fed to broiler chickens. Veterinary Science, 89: 203-205.

Popanich S., Klomsiri C. and Dharmsthiti S. 2003. Thermo-acido-tolerant phytase production from a soil bacterium in a medium containing rice bran and soybean meal extract. Bioresource Technology, 87: 295-298.

Ravindran V. 1995. Phytases in poultry nutrition. Proceeding of Australian poultry science symposium, 7: 135-139.

Rodehutscord M., Hempel R. and Wendt P. 2006. Phytase effects on the efficiency of utilization and blood concentration of phosphorus and calcium in pekin ducts. British Poultry Science, 47: 311-321.

SAS Institute. 2000. SAS User's Guide: Statistics. 8th Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC. ISBN: 10:158025599X, pp: 576.

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

Shimizu M. 1992. Purification and Characterization of Phytase from *Bacillus suhtilis* (natto) N–77. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 56(8): 1266-1269.

Sousa J. P. L., Albino L. F. T., Vaz R. G. M. V., Rodrigues K. F., Da-Silva G. F., Renno L. N., Barros V. R. S. M. and Kaneko I. N. 2015. The effect of dietary phytase on broiler performance and digestive, bone, and blood biochemistry characteristics. Brazilian Journal of Poultry Science, 17(1): 69-76.

Tamim N. M., Angel R. and Christman M. 2004. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. Poultry Science, 83:1358-1367.

Tungala A., Narayanan K. A. and Muthuraman M. S. 2013. Isolation of phytase producing bacteria from poultry feces and optimize of culture conditions for enhanced phytaze production. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(4): 264-269.

Yao M. Z., Zhang Y. H., Lu W. L., Hu M. Q., Wang W. and Liang A. H. 2012. Phytases: crystal structures, protein engineering and potential biotechnological applications. Pharmaceutical Sciences, 5: 64-69.

www.SID.ir

Archive of SID

Animal Production Research

Vol. 8, No. 4, 2019 (79-90)

University of Guilan

Effect of recombinant fungal and bacterial phytase enzymes along with commercial sample on performance and bone and serum calcium and phosphorus concentrations in broiler chicks

M. Kasraei[1*], R. Sariri[2], A. R. Hesabi Namaghi[3], M. R. Nasiri[4], A. Asodeh[5]

1. Ph.D Student, Department of Biology, University College, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Assistant Professor, Department of Animal Science Research, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Khorasan Razavi Province, Agricultural Research, Education and Extention Organization, Mashhad, Iran
4. Professor, Recombinant Proteins Research Group, The Research Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
5. Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received: 28-02-2019 – Accepted: 06-05-2019)

Abstract

The current study was carried out to investigate the effect of native fungal and bacterial recombinant phytase enzymes produced in lab with commercial sample on performance, growth parameters, Ca and P using 200 day-old Ross 308 broiler chicken which assigned in a completely randomized design to five treatments with four replicates. The experimental treatments included T_1: control diet (without enzyme), T_2: control diet+commercial phystase enzyme of Nataphus, T_3: control diet+*Bacillus subtilis* enzyme, T_4: control diet + *E. coli* enzyme and T_5: control diet+*Aspergillus niger* enzyme. The results of this study showed that the addition of enzyme to diets decreased feed intake in grower, finishing and total period (P<0.05). Feed conversion ratio was improved due to the addition of phytase to diets in all periods (P<0.05). Time and weight at inflation point showed a significant difference between the experimental treatments and control group (P<0.05). The highest concentration of blood phosphorus at 21 days of age was observed in the group consumed commercial enzyme (P<0.05). But the amount of phosphorus and bone ash content significantly affected by the enzymes consumed (P<0.05). Overall, the addition of phytase enzyme to diets improved the feed conversion ratio and decreased feed intake compared to control group, and no significant difference was observed between commercial enzymes and enzymes produced.

Keywords: Phytase enzyme, Broiler chicks, Growth performance, Calcium and phosphorus concentrations

[*]Corresponding author: mk.jahad@yahoo.com

doi: 10.22124/ar.2019.12430.1381

www.SID.ir