تولیدات دامی
دوره ۲۲ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۹
صفحه‌های ۴۱۵-۴۰۷
DOI: 10.22059/jap.2020.293016.623471

بررسی تأثیر باکتری باسیلوس سابتیلیس مولد آنزیم فیتاز، آنزیم فیتاز و پروبیوتیک تجاری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در جیره‌هایی با کمبود فسفر

مسلم اسدی کرم[۱*]، محمد سالار معینی[۲]، محسن افشارمنش[۲]، یاسر فتاحیان کمسرخی[۳]
۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
۲. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.۳. دانش آموخته دکتری، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و ۳. تکنولوژی پیشرفته علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۹/۱۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۱/۱۷

چکیده
هدف از این مطالعه، استفاده از باکتری‌های *باسیلوس‌سابتیلیس* با قابلیت تولید آنزیم فیتاز و تأثیر آن بر عملکرد رشد، اندام‌های گوارشی و استحکام استخوان درشت‌نی در جوجه‌های گوشتی انجام گرفت. این آزمایش با ۲۰۰ قطعه جوجه‌گوشتی یک‌روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ٤ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار به‌مدت ٤۲ روز اجرا شد. تیمارها شامل: تیمار۱- جیره شاهدمثبت حاوی فسفر استاندارد; تیمار۲- جیره شاهد منفی حاوی ۳۰ درصد فسفر کم‌تر- تیمار۳; جیره شاهد منفی + آنزیم فیتاز; تیمار٤- جیره شاهد منفی + پروبیوتیک تجاری تیمار۵- جیره شاهد منفی + باسیلوس-سابتیلیس ۳-SH۱۷ بودند. تغذیه جوجه‌های‌گوشتی با جیره حاوی باکتری *باسیلوس‌سابتیلیس* ۳-SH۱۷، مصرف خوراک و میانگین افزایش وزن بدن را در کل دوره پرورش کاهش داد(P< ۰/۰۵)، تغذیه جوجه‌های‌گوشتی با جیره حاوی آنزیم فیتاز، مصرف خوراک و میانگین افزایش وزن را افزایش داد (P< ۰/۰۵). مقاومت استخوان درشت‌نی در پرندگانی که جیره حاوی آنزیم فیتاز را دریافت کردند بیش‌تر از سایر گروهها بود (P<۰/۰۵). براساس نتایج حاصل، استفاده از آنزیم فیتاز در جیره‌های با کمبود فسفر، عملکرد را در جوجه‌های‌گوشتی بهبود می‌دهد؛ اما باکتری *باسیلوس‌سابتیلیس* مولد فیتاز ۳-SH۱۷، نمی‌تواند جایگزین مناسبی برای پروبیوتیک و هم‌چنین آنزیم فیتاز باشد.

کلیدواژه‌ها: استخوان درشت‌نی، *باسیلوس سابتیلیس*، جوجه گوشتی، فیتات، محدودیت فسفر.

Effect of phytase producing *Bacillus subtilis* SH17-3, phytase enzyme and a commercial probiotic on the performance of broiler chickens fed low phosphorus diets

Moslem Asadikorom[1*], Mohammad Salarmoeini[2], Mohsen Afsharmanesh[2], Yaser Fattahian[3]
1. Former M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
3. Former Ph.D. Student, Department of Biotechnology, Environmental Sciences Research Institute, Advanced Science and Technology Institute of Environmental Sciences, University of Industrial and Technological Advanced Studies, Kerman, Iran.
Received: December 10, 2019 Accepted: April 05, 2020

Abstract
The aim of this study was to evaluate the efficacy of *Bacillus subtilis* bacteria capable to produce phytase enzyme on improving broiler chicken performance and to evaluate its effect on gastrointestinal organs, and tibia strength in broiler chickens. This experiment was done using 200 one-day old broiler chicks (Ross 308), in a completely randomized design with 5 treatments, 4 replicates and 10 chicks per replicate for 42 days. The treatments include: 1) positive control diet containing sufficient phosphorus level; 2) negative control diet with 30% less phosphorus; 3) negative control diet supplemented with phytase enzyme; 4) negative control diet supplemented with a commercial probiotic; 5) negative control diet supplemented with *Bacillus subtilis* SH17-3. Feeding broiler chickens with a diet containing *Bacillus subtilis* bacteria SH17-3 significantly reduced feed intake and mean body weight gain (BWG) in the total rearing period (P<0.05). Feeding broiler chickens with a diet containing phytase enzyme significantly increased feed intake and BWG (P<0.05). The strength of tibia was significantly increased in birds received phytase enzyme, compared to other groups (P<0.05). Based on the results the use of phytase enzyme in diets with phosphorus deficiency, improves performance in broilers; but *Bacillus subtilis* bacteria SH 17-3 could not be a good alternative for probiotic and also phytase enzyme.

Keywords: Bacillus subtilis, Broiler chickens, low phosphorus, Phytate, tibia.

* نویسنده مسئول
Email: moslemasadi3@agr.uk.ac.ir

مقدمه

در ۵۰ سال اخیر استفاده از آنزیم‌ها در خوراک طیور با رشد قابل‌توجهی مواجه گردید و روز به روز گسترش یافت. آنزیم‌های برون‌زا قادر هستند مواد مغذی دارای قابلیت هضم پایین را در دستگاه گوارش هیدرولیز کنند و با افزایش جذب آن‌ها سبب بهبود عملکرد و افزایش بازدهی تولید در صنعت طیور شوند [٤].

فیتات (میواینوزیتول هگزافسفات)، فرم اصلی ذخیره‌سازی فسفر در گیاه است و بیش از دو سوم کل فسفر را در غلات و حبوبات تشکیل می‌دهد. این نوع فسفر در طیور چندان قابل استفاده نیست. فسفر، یکی از مواد مغذی ضروری در تولید طیور است که کمبود آن در رژیم غذایی سبب افزایش مرگ‌ومیر و ضرر و زیان مالی می‌شود [٤]. حدود ۸۰ درصد فسفر در بدن پرنده به‌صورت بخشی از استخوان می‌باشد و۲۰ درصد دیگر نقش مهمی را در سوخت‌وساز (مانند ATP، کراتینین و آنزیم‌ها)، اسیدهای نوکلئوئیک، فسفولیپیدهای غشا ایفا می‌کند. فسفر جیره‌ای به شکل فسفات از روده کوچک جذب می‌شود. محلول‌بودن فسفات در محل تماس با مخاط روده ضروری می‌باشد و هر ترکیبی که منجر به تشکیل یک کمپلکس نامحلول با یون فسفات شود؛ قابلیت جذب آن را کاهش می‌دهد [۲۳]. آنزیم فیتاز قادر است که فیتات را هیدرولیز کند و فسفر قابل‌دسترس آن را برای طیورآزاد کند. اما دستگاه گوارش طیور مقدار کمی از این آنزیم را تولید می‌کند، به همین دلیل مقدار زیادی از فسفر فیتاته از بدن طیور دفع شده و سبب آلودگی محیط زیست می‌شود [١٤].

آنزیم فیتاز را می‌توان به‌صورت صنعتی از باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها تولید کرد و در جیره غذایی طیور مورد استفاده قرار داد [١٤]. آنزیم فیتاز، تأثیر مثبتی روی قابلیت هضم پروتئین، وزن حیوان، جذب غذایی، ضریب تبدیل خوراک، انرژی قابل سوخت‌وساز و هم‌چنین ابقای فسفر، نیتروژن و کلسیم دارد [۹].

با جایگزین‌کردن باکتری‌های مفید تولیدکننده آنزیم فیتاز در تغذیه طیور به‌جای آنزیم فیتاز تجاری، می‌توان علاوه بر اثرات مفید آنزیم فیتاز تجاری از اثرات مثبت باکتری‌های مفید نیز استفاده کرد. این باکتری‌ها که به‌عنوان پروبیوتیک از آن‌ها نام‌برده می‌شود، باید مقاوم و فعال بوده و در هنگام عبور از مجرای گوارشی تعداد بالای خود را حفظ کنند [۵]. در مطالعه‌ای روی جوجه‌های گوشتی، تجزیه فیتات را با استفاده از کشت لاکتوباسیل‌های نوترکیب‌شده با ژن فیتاز مورد بررسی قرار گرفت، که این پروبیوتیک‌ها توانستند میانگین وزن جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشند [۲]. دو باکتری *سودوموناس پوتیدا* و *پانتوا اگلومرانس* از خانواده باکتری-های حل‌کننده فسفات به‌عنوان پروبیوتیک توانستند موجب افزایش معنی‌داری در وزن زنده، میزان خوراک مصرفی و کاهش ضریب تبدیل شوند [۷]. در مطالعه دیگری استفاده از پروبیوتیک نوترکیب *لاکتوکوکوس‌لاکتیس* نتوانست، وزن جوجه‌های گوشتی را افزایش دهد [۱۳].

گونه‌های باکتری باسیلوس‌سابتیلیس از تولیدکنندگان بالقوه انواع آنزیم‌ها می‌باشند که دارای ویژگی‌هایی چون مقاوم به حرارت، فعالیت آنزیمی بالا در طیف گسترده‌ای ازpH، مقاوم به پروتئولیز در برابر آنزیم‌های گوارشی و تولید فیتاز خارج سلولی می‌باشند [۱۷]. به‌همین دلیل در این آزمایش از باکتری باسیلوس‌سابتیلیس SH17-3 جهت بررسی تولید آنزیم فیتاز و تأثیر آن بر عملکرد جوجه‌های گوشتی استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

در این طرح ۲۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر (سویه راس

۳۰۸) به‌مدت ٤٢ روز مورد آزمایش قرار گرفتند. جوجه‌ها در ابتدا با میانگین وزن ۱/۰۷±۳۹ گرم در۲۰ واحد آزمایشی شامل ۵ تیمار و ٤ تکرار به‌صورت تصادفی، توزیع شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد مثبت حاوی فسفر استاندارد طبق توصیه سویه راس ۳۰۸، ۲- جیره شاهد منفی با ۳۰ درصد فسفر کم‌تر، ۳- جیره شاهد منفی+ آنزیم فیتاز، ٤- جیره شاهد منفی+ پروبیوتیک تجاری و ۵- جیره شاهد منفی+ پروبیوتیک باسیلوس‌سابتیلیس۳-۱۷ SH بودند.

باکتری *باسیلوس‌سابتلیس* SH17-3، پیش‌تر توسط نگارندگان پس از نمونه‌برداری از خاک‌های آلوده به فضولات طیور در شهرستان شهداد و با روش کشت در محیط PSM آگار تهیه و مورد ارزیابی آزمایشگاهی قرار گرفت [۱۷]. پروبیوتیک تجاری *بیوپلوس*، حاوی دو باکتری *باسیلوس سابتیلیس* و *باسیلوس لیشنی فرمیس* بود که با توجه به دستور مصرف شرکت تولیدکننده، میزان استفاده ازآن ۷۰۰ گرم در یک تن خوراک جوجه گوشتی بود. یک گرم از این پروبیوتیک کشت شد؛ که تعداد $٤/٢\times١٠^{٨}$ باکتری زنده در هر گرم پروبیوتیک وجود داشت و میزان باکتری *باسیلوس‌سابتیلیس* (SH17-3) در هر گرم باکتری کپسوله‌شده برابر $١/٥\times١٠^{٨}$ باکتری زنده بود، برای این‌که میزان باکتری *باسیلوس‌سابتیلیس* (SH17-3) استفاده‌شده در خوراک معادل میزان باکتری پروبیوتیک باشد، میزان استفاده از آن ۲/۸ برابر بیش‌تر از پروبیوتیک، در نظر گرفته شد. آنزیم فیتاز مورداستفاده، مربوط به شرکت یزد مکمل با اسم تجاری فایتکس، با فرمولاسیون اختصاصی و ماده اولیه Phytex 500 اگرنکو آمریکا بود که هر گرم آن حاوی FTU ۱۰۰۰ آنزیم فیتاز و میزان استفاده از آن ۵۰۰ گرم در یک تن خوراک جوجه گوشتی بود.

در این پژوهش از جیره‌هایی بر پایه ذرت- کنجاله سویا استفاده شد. جیره‌های آزمایشی(جدول ۱) برای تأمین مواد مغذی توصیه‌شده سویه تجاری راس ۳۰۸ برای بازه‌های زمانی مختلف تهیه شد [۳].

در پایان هر بازه زمانی (آغازین، رشد، پایانی)، جوجه‌های هر تکرار به‌صورت گروهی وزن‌کشی شده و مقدار خوراک مصرفی نیز در پایان هر دوره هم‌زمان با وزن‌کشی جوجه‌ها از کسر مقدار خوراک باقیمانده در پایان آن دوره از کل خوراک داده‌شده در کل آن دوره به‌دست آمد. در انتهای آزمایش (٤٢ روزگی) یک قطعه جوجه از هر تکرار با وزن مشابه میانگین آن تکرار، انتخاب و به‌روش شرعی قطع گردن از ناحیه میان مهره اول و مهره دوم کشتار گردید. سپس اجزای لاشه (شامل لاشه و اندام‌های گوارشی) توزین و براساس درصد وزن زنده محاسبه شد. استخوان درشت‌نی پای راست نیز برای مطالعه خصوصیات مکانیکی نظیر مقاومت استخوان، نیروی شکست استخوان و سختی) جدا شد. خصوصیات مکانیکی با استفاده از دستگاه اینسترون (دستگاه تست‌کشش، ساخت شرکت ژاو آریا مشهد) بررسی شد. به‌منظور اندازه‌گیری درصد خاکستر ازاستخوان درشت‌نی پای چپ استفاده شد که پس از جداکردن بافت نرم و چربی، نمونه‌ها در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد سوزانده و تبدیل به خاکستر شد. برای محاسبه درصد خاکستر از رابطه (۱) استفاده شد [۱۱].

رابطه (۱) = درصد خاکستر استخوان

۱۰۰× (وزن خشک استخوان/ وزن خاکستر)

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab (نسخه ١٦) [١٦] با رویه GLM برای مدل (۲) تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح آماری ۵ درصد مقایسه شدند.

رابطه (۲) $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$

در این مدل: Y_{ij}، میانگین مشاهده jام از تیمار iام؛ μ، میانگین جامعه آماری؛ T_i، اثر iامین تیمار؛ E_{ij}، اشتباه تصادفی بود.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های مورد استفاده در سنین مختلف پرورش جوجه‌های گوشتی

مواد خوراکی (درصد)	جیره استاندارد			جیره با ۳۰ درصد فسفر کم‌تر		
	۱-۱۰ روزگی	۱۱-۲۴ روزگی	۲۵ روزگی به بعد	۱-۱۰ روزگی	۱۱-۲۴ روزگی	۲۵ روزگی به بعد
دانه ذرت	٤٨/٤٢	٥٢/٣٠	٥٨/٢٢	٤٨/٤٢	٥٢/٣٠	٥٨/٢٢
کنجاله سویا (٤٤ درصد پروتئین)	٤٢/٠٠	٣٧/٨٤	٣٢/٢٠	٤٢/٠٠	٣٧/٨٤	٣٢/٢٠
روغن سویا	٥/٠٠	٥/٧٠	٥/٧٠	٥/٠٠	٥/٧٠	٥/٧٠
کربنات کلسیم	١/١٥	١/٠٥	١/٠٠	١/٦٠	١/٤٥	١/٢٥
دی کلسیم فسفات	١/٧٥	١/٦٠	١/٤٠	١/٠٠	٠/٩٠	٠/٨٥
نمک	٠/٤٣	٠/٤٣	٠/٤٣	٠/٤٣	٠/٤٣	٠/٤٣
دی ال متیونین	٠/٤٠	٠/٣٢	٠/٣٠	٠/٤٠	٠/٣٢	٠/٣٠
ال لیزین هیدروکلراید	٠/٢٥	٠/١٨	٠/١٩	٠/٢٥	٠/١٨	٠/١٩
ال ترئونین	٠/١٠	٠/٠٨	٠/٠٦	٠/١٠	٠/٠٨	٠/٠٦
مکمل ویتامینه[1]	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥
مکمل معدنی[2]	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥	٠/٢٥
سنگریزه	٠/٠٠	٠/٠٠	٠/٠٠	٠/٣٠	٠/٣٠	٠/٣٠
مواد مغذی محاسبه شده						
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری بر کیلوگرم)	٣٠٠٠	٣١٠٠	٣٢٠٠	٣٠٠٠	٣١٠٠	٣٢٠٠
پروتئین خام (درصد)	٢٣/٠٠	٢١/٥	١٩/٥	٢٣/٠٠	٢١/٥٠	١٩/٥٠
لیزین (درصد)	١/٤٤	١/٢٩	١/١٦	١/٤٤	١/٢٩	١/١٦
متیونین (درصد)	٠/٧٤	٠/٦٤٣	٠/٥٩٩	٠/٧٤	٠/٦٤٣	٠/٥٩٩
متیونین+ سیستین (درصد)	١/٠٨	٠/٩٩	٠/٩١	١/٠٨	٠/٩٩	٠/٩١
کلسیم (درصد)	٠/٩٦	٠/٨٧	٠/٧٩	٠/٩٦	٠/٨٧	٠/٧٩
فسفرقابل استفاده (درصد)	٠/٤٨	٠/٤٣٥	٠/٣٩٥	٠/٣٣٧	٠/٣٠٨	٠/٢٨
سدیم (درصد)	٠/١٨	٠/١٨	٠/١٨	٠/١٨	٠/١٨	٠/١٨
ترئونین (درصد)	٠/٩٧	٠/٨٨	٠/٧٨	٠/٩٧	٠/٨٨	٠/٧٨

۱. ویتامین‌های تأمین‌شده توسط مکمل ویتامین (میلیگرم در هر کیلوگرم جیره): رتینول (۳/۷۸) آلفا توکوفرول استات (۳۰)، کوله کلسیفرول (۰/۰۵۵).

۲. منادیون (۲)، ویتامین B_{12} (۰/۰۱۵) پیریدوکسین (۰/۳) تیامین (۱/۸)، ریبوفلاوین (٦/٦)، اسیدپانتوتنیک (۱۰)، نیاسین (۳۰)، بیوتین (۰/۱)، کولین (۲۵۰) و فولاسین (۱).

۳. مواد معدنی تأمین‌شده توسط مکمل معدنی (میلی گرم در کیلوگرم جیره): سلنیوم (۰/۲)، مس (۱۰)، ید (۱) آهن (۵۰)، منگنز (۱۰۰) و روی (۸۵).

نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد در دوره‌های مختلف پرورش جوجه‌های گوشتی در جدول (۲) آمده است. در دوره آغازین (یک تا ۱۰ روزگی) مصرف خوراک پرندگانی که با جیره حاوی آنزیم فیتاز تغذیه شدند بیش‌تر از سایر تیمارها بود ($P< ۰/۰۵$). در دوره‌های رشد (۱۱ تا ۲٤ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ٤۲ روزگی)، مصرف خوراک این پرندگان نیز از سایر تیمارها (به‌جز تیمار شاهد) بیش‌تر بود

(P<۰/۰۵). در مطالعه‌ای کاهش مصرف خوراک در مرحله آغازین در گروه‌هایی که با کمبود فسفر مواجه بودند؛ به‌دلیل کمبود فسفر قابل‌دسترس بود [۱۵]، که با یافته‌های این آزمایش مطابقت دارد. اثرات مفید آنزیم فیتاز در افزایش قابلیت هضم نشاسته، آزادکردن مواد معدنی از اسیدفیتیک و افزایش قابلیت هضم فسفر [۲٤] می‌تواند دلیل افزایش مصرف خوراک در این تیمار باشد. اما میزان مصرف خوراک در گروه آنزیم فیتاز با شاهد مثبت در دوره رشد و پایانی تفاوت معنی‌داری نداشت، که دلیل آن را می‌توان به تفاوت سرعت متابولیسم در دوره آغازین و دوره‌های رشد و پایانی دانست [٦]. در واقع سرعت متابولیسم با افزایش سن کاهش می‌یابد، بنابراین می‌توان انتظار داشت که مواد مغذی موردنیاز برحسب واحد وزن بدن در دوره آغازین بیش‌تر از سایر دوره‌ها است، که دلیل آن را می‌توان به نقش فیتاز در تأمین فسفر و مواد مغذی ارتباط داد. هم‌چنین آثار آنزیم فیتاز در حذف فیتات در دوره آغازین، سبب جلوگیری از اثرات نامطلوب فیتات شده و فسفر و سایر ترکیبات متصل به آن آزاد و از افت شدید مصرف خوراک جلوگیری می‌کند [٦]. تفاوتی در مصرف خوراک در تیمارهای پروبیوتیک تجاری و *باسیلوس‌سابتیلیس* SH۱۷-۳ و تیمار شاهد منفی وجود نداشت که می‌تواند ناشی از کمبود فسفر قابل‌دسترس و عدم تولید آنزیم فیتاز به میزان کافی، در این تیمارها باشد.

جدول ۲. تأثیر آنزیم فیتاز، پروبیوتیک و باکتری باسیلوس‌سابتیلیس SH۱۷-۳ بر عملکرد جوجه‌های گوشتی

تیمارهای آزمایشی[۱]	شاهد مثبت	شاهد منفی	شاهد منفی + آنزیم فیتاز	شاهد منفی+ پروبیوتیک	شاهد منفی + SH۱۷-۳	SEM[۲]	P-value
مصرف خوراک (گرم/ پرنده/ روز)							
۱۰-۱روزگی	۱٤/۸۳^{b}	۱۳/٤۰^{b}	۱۸/۹۷^{a}	۱٤/۷٥^{b}	۱۳/٥۲^{b}	۰/۳۰٦	<۰/۰۰۱
۲٤-۱۱روزگی	٦٤/۸۷^{a}	٥٤/۲۹^{b}	۷۰/٤۲^{a}	٥۳/۷٥^{b}	٤٦/۳٥^{c}	۱/٤۸۱	<۰/۰۰۱
٤۲-۲٥روزگی	۱۳۳/۸۱^{a}	۹٤/۲۳^{b}	۱۳۷/۸٤^{a}	۹۹/٤۲^{b}	۹۸/۱۱^{b}	۱/۹٥۳	<۰/۰۰۱
٤۲-۱ روزگی	۸۲/٥۰^{a}	٦۱/٦۷^{b}	۸۷/۰۷^{a}	٦٤/۰٤^{b}	٦۰/۷۱^{b}	۱/۰٥٤	<۰/۰۰۱
میانگین افزایش وزن (گرم/ پرنده/ روز)							
۱۰-۱روزگی	۱۰/٥٥^{b}	۹/۱۰^{b}	۱٤/٤۹^{a}	۹/۹۹^{b}	۹/۱٤^{b}	۰/۳۲٥	<۰/۰۰۱
۲٤-۱۱روزگی	٤۱/٤٦^{a}	۳٤/۳۷^{b}	٤٤/۲۸^{a}	۳٤/۳۹^{b}	۳۰/٤۳^{c}	۰/۸٥۸	<۰/۰۰۱
٤۲-۲٥روزگی	٦۹/۹۱^{a}	٥٦/۳۸^{b}	۷۲/٦٥^{a}	٦۰/۲٦^{b}	٦۰/۱۱^{b}	۱/۳٥۰	<۰/۰۰۱
٤۲-۱ روزگی	٤٦/۲۹^{a}	۳٦/۸۳^{c}	٤۹/۳٤^{a}	٤۰/۹۸^{b}	۳۸/٥۸^{bc}	۰/۹۱٦	<۰/۰۰۱
ضریب تبدیل خوراک							
۱۰-۱روزگی	۱/٤۰^{ab}	۱/٤۷^{a}	۱/۳۱^{b}	۱/٤۸^{a}	۱/٤۷^{a}	۰/۰۲٦	۰/۰۰۱
۲٤-۱۱روزگی	۱/٥٦	۱/٥۸	۱/٥۹	۱/٥٦	۱/٥۲	۰/۰٥۰	۰/۸۹۳
٤۲-۲٥روزگی	۱/۹۱^{a}	۱/٦۷^{b}	۱/۹۰^{a}	۱/٦٥^{b}	۱/٦۳^{b}	۰/۰٤٥	۰/۰۰۱
٤۲-۱ روزگی	۱/۷۸^{a}	۱/٦۳^{ab}	۱/۷٦^{a}	۱/٦۱^{b}	۱/٥۹^{b}	۰/۰۳۳	۰/۰۰۱

a-c: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر سطر معنی‌دار است (P<۰/۰٥).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

۱. شاهد مثبت: حاوی فسفر استاندارد. شاهد منفی: حاوی فسفر ۳۰٪ کم‌تر از استاندارد.

میانگین افزایش وزن در این آزمایش به‌طور کامل در راستای مصرف خوراک در اکثر بازه‌های زمانی بود. در دوره آغازین میانگین افزایش وزن پرندگانی که با جیره حاوی آنزیم فیتاز تغذیه شدند با تفاوت معنی‌داری بیش‌تر بود (P< ۰/۰۵)، و در دوره‌های رشد و پایانی جیره حاوی آنزیم فیتاز با گروه شاهد مثبت تفاوت معنی‌داری نداشت، ولی نسبت به سایر گروه‌ها با تفاوت معنی‌داری بیش‌تر بود (P< ۰/۰۵). افزودن آنزیم فیتاز به جیره‌ای که کمبود فسفر در دسترس داشت، منجر به بهبود افزایش وزن و خوراک مصرفی شد. طی مطالعه‌ای روی جوجه‌های گوشتی، مشخص شده است که افزودن آنزیم فیتاز در جیره‌ای بر پایه ذرت و سویا و با مقادیر پایین فسفر قابل‌دسترس به‌طور معنی‌داری باعث بهبود افزایش وزن می‌شود [۲۲]. اثرات استفاده از آنزیم فیتاز در جیره طیور دارای مقادیر پایین فسفر قابل‌دسترس بیش‌تر از اثرات جیره‌های دارای مقادیر بالاتر فسفر قابل‌دسترس است [۱۲].

عدم تأثیر *باسیلوس سابتیلیس* SH17-3 و پروبیوتیک تجاری (شامل *باسیلوس‌سابتیلیس* و *باسیلوس لیشنی فرمیس*) رشد را می‌توان ناشی از کمبود فسفر قابل‌دسترس و عدم تولید آنزیم فیتاز به میزان کافی، در این تیمارها دانست، اما گزارش‌های متعددی در رابطه با بهبود اضافه وزن در اثراستفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره با فسفر استاندارد وجود دارد [۲۲]. در مقابل، گزارش‌هایی نیز وجود دارد که استفاده از پروبیوتیک تأثیری بر اضافه وزن بدن ندارد [۸]. علت این تناقضات مربوط به نوع باکتری مورداستفاده در ساخت پروبیوتیک، قابلیت زنده‌ماندن، روش استفاده، آلودگی محیط و عوامل تنش‌زا می‌باشد[۱۹].

در دوره آغازین ضریب تبدیل پرندگانی که با جیره کمبود فسفر ولی حاوی آنزیم فیتاز تغذیه شدند کاهش یافت (P<۰/۰۵)، که می‌تواند به‌دلیل افزایش قابلیت هضم انرژی، چربی‌ها و پروتئین‌ها باشد [٤]. اما در سایر دوره‌های رشد و پایانی ضریب تبدیل پرندگانی که با جیره حاوی آنزیم فیتاز تغذیه شدند کاهش نداشت. گزارش شده است که ضریب تبدیل غذایی، تحت تأثیر افزودن آنزیم فیتاز نیست، که ممکن است به‌علت تحریک افزایش وزن و افزایش خوراک مصرفی باشد [۲۱]. در مقابل هم‌چنین کاهش ضریب تبدیل غذایی از طریق مکمل‌سازی جیره با آنزیم فیتاز گزارش شده است [٤].

استفاده از باکتری گونه *باسیلوس‌سابتیلیس*۳-SH۱۷، تأثیری بر ضریب تبدیل غذایی در دوره آغازین نداشت. ضریب تبدیل جوجه‌هایی که در سن ٤۲-۲۱ روزگی و کل دوره، باکتری باسیلوس‌سابتیلیس ۳-SH۱۷ و پروبیوتیک تجاری را دریافت کرده بودند نسبت به تیمارهای آنزیم فیتاز و شاهد مثبت با اختلاف معنی‌داری بهبود یافت (P< ۰/۰۵). در مطالعه‌ای مصرف پروبیوتیک توانسته بود ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی را در فاصله سنین ٤۲-۱ و ٤۲-۲۱ روزگی به صورت معنی‌دار بهبود دهد [۲۰]، که این یافته‌ها با نتایج تیمارهایی که پروبیوتیک تجاری و باسیلوس سابتیلیس ۳-SH۱۷ را مصرف کرده بودند، در مرحله پایانی و هم‌چنین کل دوره مطابقت دارد. البته گزارش‌هایی مبنی بر بی‌تأثیربودن پروبیوتیک‌ها بر ضریب تبدیل خوراک نیز وجود دارد [۸].

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی (درصد وزن زنده) لاشه و اندام‌های گوارشی جوجه‌های گوشتی در جدول (۳) آمده است. تأثیر باکتری‌های *باسیلوس‌سابتیلیس*، آنزیم فیتاز و پروبیوتیک بر روی وزن نسبی سنگدان، پیش معده، دوازدهه، ایلئوم، ژئوژنوم، طول نسبی دوازدهه، ژژنوم و ایلئوم معنی‌دار نبود.

جدول ۳. تأثیر آنزیم فیتاز، پروبیوتیک و باکتری باسیلوس‌سابتیلیس SH۱۷-۳ بروزن نسبی لاشه و اندام‌های گوارشی جوجه‌های گوشتی

تیمارهای آزمایشی[۱]	وزن لاشه (درصد)	پیش معده (درصد)	سنگدان (درصد)	وزن دوازدهه (درصد)	طول دوازدهه (درصد)	وزن ژئوژنوم (درصد)	طول ژئوژنوم (درصد)	وزن ایلئوم (درصد)	طول ایلئوم (درصد)
شاهد مثبت	۶۰/۸۲[a]	۰/۴۱	۱/۶۳	۰/۷۳	۱/۶۱	۲/۰۹	۳/۷۵	۱/۸۰	۳/۸۴
شاهد منفی	۵۸/۶۵[ab]	۰/۴۰	۱/۵۷	۰/۷۷	۱/۷۸	۱/۸۳	۴/۶۴	۱/۷۵	۳/۶۹
شاهد منفی +آنزیم فیتاز	۶۱/۶۲[a]	۰/۴۵	۱/۷۷	۰/۸۰	۱/۶۳	۲/۰۶	۳/۷۱	۱/۷۳	۳/۸۲
شاهد منفی + پروبیوتیک	۶۰/۱۷[ab]	۰/۴۳	۱/۵۴	۰/۸۱	۱/۶۸	۱/۹۵	۳/۹۴	۲/۰۳	۴/۰۱
شاهد منفی + SH۱۷-۳	۵۱/۶۳[b]	۰/۴۷	۱/۸۵	۰/۸۱	۱/۶۲	۱/۹۱	۳/۶۳	۲/۰۷	۳/۹۴
SEM[۲]	۲/۰۰۵	۰/۰۳۱	۰/۱۰۱	۰/۰۵۴	۰/۰۸۴	۰/۱۰۱	۰/۰۸۳	۰/۰۹۵	۰/۱۴۱
P-value	۰/۰۲۳	۰/۴۵۲	۰/۲۷۴	۰/۴۲۱	۰/۶۷۰	۰/۳۷۳	<۰/۰۰۱	۰/۰۳۷	۰/۶۴۳

a-c: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P>۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

۱. شاهد مثبت: حاوی فسفر استاندارد. شاهد منفی: حاوی فسفر ۳۰٪ کم‌تر از استاندارد.

وزن نسبی لاشه در پرندگانی که با جیره حاوی باکتری *باسیلوس‌سابتیلیس* تغذیه شدند نسبت به گروه‌های شاهد مثبت و آنزیم فیتاز، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵)، ولی بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، که دلیل آن را می‌توان به کمبود فسفر و عدم جبران آن و پایین‌تربودن وزن در این گروه نسبت به تیمارهای مورد اشاره ارتباط داد. هم‌چنین کاهش درصد لاشه را می‌توان به تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه مواد هضمی، فعالیت دی‌آمیناسیونی پروتئین و اسیدهای آمینه مصرفی و نیز افزایش سرعت تجزیه آن‌ها در اثر ترشح موادی از قبیل آنزیم اوره‌آز توسط بعضی از باکتری‌ها احتمال داد [۱۸].

در اثر تیمارها بر نیروی شکست، خاکستر استخوان و فسفر سرم خون اثر معنی‌داری نبود (جدول ٤). اما مقاومت استخوان در پرندگانی که جیره حاوی آنزیم فیتاز را مصرف کرده بودند نسبت به سایر گروه‌ها بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). مقاومت استخوان در پرندگانی که جیره حاوی پروبیوتیک تجاری را دریافت کرده بودند نسبت به سایر گروه‌ها (به‌جز شاهد منفی) کم‌تر بود. در آزمایشی مقاومت استخوان جوجه‌های گوشتی در تیمارهایی که ٦۰۰ واحد آنزیم فیتاز دریافت کرده بودند و کمبود فسفر داشتند مشابه به گروه شاهد بوده است. ولی جیره‌هایی با کمبود فسفر و بدون فیتاز، مقاومت استخوان کاهش یافت [۱۰]. افزایش مقاومت استخوان در تیمار آنزیم فیتاز نسبت به تیمار شاهد مثبت را می‌توان به نوع آنزیم، مدیریت و تغذیه احتمال داد. کاهش معنی‌دار مقاومت استخوان در گروه پروبیوتیک نسبت به گروه باسیلوس‌سابتیلیس SH۱۷-۳ و هم‌چنین نبود اختلاف معنی دار بین گروه *باسیلوس سابتیلیس* SH۱۷-۳ و گروه شاهد مثبت که فسفر استاندارد داشتند را احتمالاً می‌توان به بهبود ذخیره فسفر در استخوان ارتباط داد که احتمال تولید آنزیم فیتاز به میزان کم را در گروه باسیلوس‌سابتیلیس ۳-SH۱۷ تقویت می‌کند. اما هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در رابطه با خاکستر استخوان مشاهده نشد.

جدول ٤. تأثیر آنزیم فیتاز، پروبیوتیک و باکتری باسیلوس‌سابتیلیس ۳-SH۱۷ بر استحکام و خاکستر استخوان درشت‌نی

تیمارهای آزمایشی[۱]	مقاومت استخوان (نیوتون)	نیروی شکست استخوان (نیوتون)	سختی (نیوتون/ میلی‌متر)	خاکستر (درصد)	فسفر (mg/dl)
شاهد مثبت	۲٤٤/۸[b]	۷۳/۳۸[a]	۸/۲۹[ab]	٤۳/۲۸	٦/۸۵[a]
شاهد منفی	۲۲۲/۷۰[bcd]	٥٤/٦۲[b]	۷/٦۲[ab]	٤٤/۱۳۲	٦/۰۳[ab]
*شاهد منفی +*آنزیم فیتاز	۲۸٦/۰۰ [a]	٦۷/٦٥[ab]	۹/۲۸[a]	٤۲/۰۰	٥/۰٥[ab]
شاهد منفی + پروبیوتیک	۱۹٥/۱[d]	٦٥/۲۰[ab]	٦/۰۹[b]	٤٤/۲٥	٦/۲۰[ab]
شاهد منفی *+ SH ۱۷-۳*	۲٤۲/٤[bc]	٦۷/۰۰ [ab]	۸/۹٦[a]	٤۲/۰۰	٤/٦۹[ab]
[۲]SEM	۸/۱۹۹	۳/۸٤٦	۰/٥٦۹	۰/٥۹۲	۰/٥٤٤
P-value	<۰/۰۰۱	۰/۰۲۳	۰/۰۰۳	۰/۰۲٦	۰/۰۱٦

a-d: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P>۰/۰٥).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

۱. شاهد مثبت: حاوی فسفر استاندارد. شاهد منفی: حاوی فسفر ۳۰٪ کم‌تر از استاندارد.

سختی استخوان در پرندگانی که جیره حاوی پروبیوتیک تجاری را دریافت کرده بودند کم‌تر از پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی آنزیم فیتاز و یا باسیلوس‌سابتیلیس۳-SH۱۷ بود (P<۰/۰٥). سختی استخوان، که از تفاوت نیروی مقاومت و نیروی شکست استخوان نسبت به جابه‌جایی به‌دست می‌آید، تغییر محسوسی را که بیانگر استحکام بالا استخوان و اثرگذاری آنزیم فیتاز بیرونی و ترشح آنزیم فیتاز توسط باکتری‌های باسیوس سابتیلیس باشد را نشان نمی‌دهد. میزان غلظت فسفر سرم خون می‌تواند به‌وسیله جذب از دستگاه گوارش، ذخیره و باز جذب از استخوان، هم‌چنین دفع از طریق مدفوع و ادرار یا باز جذب از کلیه کنترل شود، این می‌تواند دلیلی بر عدم تغییر معنی‌دار، در میزان غلظت فسفر سرم خون بین تیمارهای آزمایشی با توجه به کاهش فسفر جیره باشد [۱].

براساس نتایج این تحقیق، باکتری باسیلوس‌سابتیلیس ۳-SH۱۷، در سطح ۷۰۰ گرم در هر تن خوراک با زنده‌مانی cfu $۱/٥\times۱۰^{۸}$ در جیره‌ای با ۳۰ درصد فسفر توانایی تولید آنزیم فیتاز برای جبران کمبود فسفر را ندارد.

تشکر و قدردانی

از مجموعه دانشکده کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان و آزمایشگاه میکروبیولوژی آزما، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع

1. Alizadeh-Ghamsari A, Hassanabadi A, Leslie M (2007) Effects of dietary phytase, calcium and phosphorus on performance, nutrient utilization and blood parameters of male broiler chickens. Journal of Animal and Veterinary Advances, 6(12): 1434-1442.
2. Askelson T E, Campasino A, Lee J T, Duong T (2014) Evaluation of phytate-degrading Lactobacillus culture administration to broiler chickens. Applied and Environmental Microbiology, 80(3): 943-950.
3. Aviagen (2014) Ross 308 Broiler Nutrition Specification. (available at: www.aviagen.com)
4. Cowieson A, Hruby M and Pierson EM (2006) Evolving enzyme technology: impact on commercial poultry nutrition. Nutrition Research Reviews, 19(1): 90-103 .
5. Desai KGH and Park HJ (2005) Recent developments in microencapsulation of food ingredients. Drying Technology, 23(7): 1361-1394.

6. Haghighian Roudsari M, Roustaei Alimehr M, Taheri Tar S, Abolghasemi SA and Sefidgar SAA (2010) Effects of Phytase Enzyme (Natuphos) and Saccharomyces cervisiae (Biosof) Supplementation on Performance and Blood Calcium Plus Phosphorous of Broiler Chicks. Iranian Journal of Animal Science, 41(1): 43-51. (in Persian)
7. Ghaderi Jouybari M, Malbobi M A, Irani M, Rezaei Pour V, Mohammad Zadeh Nagharchi M (2009) The effect of phosphate solublizing bacteria as a novel probiotic on some biochemical parameters, carcass characteristics and performance of broiler chicks. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 3(1): 399-410. (in Persian)
8. Gunal M, Yayli G, Kaya O, Karah N and Sulak O (2006) The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. International Journal Poultry Science, 5(2): 149-155.
9. Hahn-Didde D and Purdum S E (2014) The effects of an enzyme complex in moderate and low nutrient-dense diets with dried distillers grains with solubles in laying hens. Journal of Applied Poultry Research ,23(1): 23-33.
10. Johnston SL and Southern LL (2000) The effect of varying mix uniformity (simulated) of phytase on growth performance, mineral retention, and bone mineralization in chicks Poultry Science, 79: 1485-1490.
11. Jorhem L (2000) Determination of metals in foods by atomic absorption spectrometry after dry ashing: NMKL Collaborative Study. Journal of AOAC International, 83(5): 1204-1211.
12. Karimi A (2005) Effect of different non-phytate phosphorus levels and phytase sources on performance in broiler chicks. International Journal of Poultry Science, 4(12): 1001-1005 .
13. Kermanshahi H, Majidzadeh Heravi R (2016) Study of a recombinant lactococcuslactis performance to degrade of phytate phosphorus in broiler chick diets. Iranian Journal of Animal Science Research, 8(1): 122-131. (in Persian)
14. Latorre JD, Hernandez-Velasco X, Wolfenden RE, Vicente JL, Wolfenden AD and Menconi (2016) Evaluation and Selection of Bacillus Species Based on Enzyme Production, Antimicrobial Activity,and Biofilm Synthesis as Direct-Fed Microbial Candidates for Poultry. Frontiers in Veterinary Science3, 95.
15. Leske K, Coon C (2002) The development of feedstuff retainable phosphorus values for broilers. Poultry Science, 81(11): 1681-1693 .
16. Minitab16 (2010) Minitab Inc, State College, PA.
17. Mohseni M, Ghorbanzadeh F and Seyed AliPour B (2018) Phytase production from rice bran extract using Bacillus spp. isolated from sediments of the Caspian Sea. Journal of Cellular and Molecular Research, 30(4): 476-487. (in Persian)
18. Nobakht A and Eghdam Shahriar H 2010 Effect of medicine plants of Malva silvestris, Alhaji maurorum and Mentha spicata on performance, carcass characteristics and blood metabolites in broiler chicks. Journal of Animal Science, 3: 51-63.
19. Patterson J and Burkholder K (2003) Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poultry Science, 82(4): 627-631.
20. Piray A H, Kermanshahi H, Tahmasbi A M and Bahrampour J (2007) Effects of Cecal Cultures and Aspergillus Meal Prebiotic (Fermacto) on Growth Performance and Organ Weights of Broiler Chickens. International Journal of Poultry Science, 6: 340-344. .
21. Sohail S, Roland Sr D (1999) Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to six weeks of age. Poultry Science, 78(4): 550-555 .
22. Teo AL and Tan H-M (2006)Effect of Bacillus subtilis PB6 (CloSTAT) on broilers infected with a pathogenic strain of Escherichia coli. Journal of Applied Poultry Research, 15(2): 229-235.
23. Vitti DM, Kebreab E (2010) Phosphorus and calcium utilization and requirements in farm animals. CABI.
24. Woyengo T, Slominski B and Jones R (2010)Growth performance and nutrient utilization of broiler chickens fed diets supplemented with phytase alone or in combination with citric acid and multicarbohydrase. Poultry Science, 89(10): 2221-2229.