



مطالعه سیستم ایمنی و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های دارای مکمل اسیدهای آلی و آنزیم فیتاز

نسبیه محمدباقری^۱ و رامین نجفی^۲

۱- کارشناس ارشد، دانشگاه ارومیه

۲- استادیار، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: r.najafi@urmia.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۴۵

چکیده

پژوهشی برای بررسی اثرات استفاده از اسیدهای آلی و آنزیم فیتاز بر سیستم ایمنی و ویژگی‌های لاشه جوجه‌های گوشتی انجام شد. پژوهش به صورت فاکتوریل ۲×۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار آزمایشی، ۵ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار به مدت ۴۲ روز انجام شد. جیره‌های آزمایشی دارای سرکه طبیعی انگور (صفر و ۲ درصد)، اسید سیتریک (صفر و ۱ درصد) و آنزیم فیتاز (صفر و ۵۰۰ واحد فعال آنزیم در هر کیلوگرم از جیره) بودند. تمام پرندگان در روزهای ۱۱ و ۲۳ با استفاده از واکسن لاسوتا علیه بیماری نیوکاسل به روش قطره چشمی واکسینه شدند. به منظور مطالعه سیستم ایمنی در ۴۲ روزگی از دو پرندۀ از هر تکرار خون گیری انجام شد و پس از جداسازی سرم، با استفاده از تست HI مقدار آنتی‌بادی بر علیه آنتی ژن ویروس نیوکاسل تعیین شد. همچنین در روز پایانی دوره آزمایشی، یک قطعه خروس از هر تکرار (پنج خروس از هر تیمار) برای ارزیابی وزن اندام‌های لنفوییدی و تجزیه لاشه به طور تصادفی انتخاب شده و کشتار شدند. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های آماری نشان دادند که وزن نسبی بورس فابرسیوس در اثر استفاده از سرکه، آنزیم فیتاز، اثر متقابل اسید سیتریک با سرکه و نیز اثر متقابل اسید سیتریک و آنزیم فیتاز به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$) همچنین سرکه منجر به افزایش معنی‌دار وزن نسبی طحال شد ($P < 0.05$). آنزیم فیتاز منجر به افزایش معنی‌دار چربی محوطه بطنی شد ($P < 0.05$) در حالی که اسید سیتریک و اثر متقابل سرکه و اسید سیتریک چربی محوطه بطنی را به صورت معنی‌داری کاهش دادند ($P < 0.05$) در مطالعه حاضر وزن نسبی اندام‌های داخلی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$).

واژه‌های کلیدی: اسید سیتریک، سرکه، آنزیم فیتاز، سیستم ایمنی، جوجه‌های گوشتی

مقدمه

امروزه پرورش طیور به عنوان یکی از بزرگترین منابع تأمین کننده پروتئین حیوانی جای خود را در جهان باز کرده است. صنعت طیور علاوه بر تأمین اسیدهای آمینه ضروری از نظر اقتصادی نیز به دلیل بازگشت سریع سرمایه و بازده غذایی بالا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۲۱). افزودنی‌های غذایی ضد میکروبی در شرایط پرورش متراکم نقش مهمی در تأمین مواد غذایی مورد نیاز جامعه دارند (۹). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای حفظ جمعیت میکروبی روده و کاهش رشد برخی از باکتری‌های بیماری‌زا مطلوب به نظر می‌رسد همچنین این مواد رشد و ضریب تبدیل خوراک را بهبود می‌بخشند (۱۳). اما در نتیجه افزایش نگرانی به علت امکان ایجاد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک در انسان و همچنین به واسطه باقی‌ماندن آنتی‌بیوتیک‌ها در بافت‌های حیوانی به خصوص گوشت که سلامت مصرف کننده را تهدید می‌کند، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد از ابتدای ژانویه ۲۰۰۶ در اروپا به کلی ممنوع گردید (۱۲). وجود شرایط اسیدی یکی از فاکتورهای کنترل کننده باکتری‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا می‌باشد (۱۹). اسیدهای آلی از طریق

کاهش pH خوراک طیور دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشند. همچنین به علت کاهش ظرفیت بافری خوراک‌ها می‌توانند موجب کنترل جمعیت میکروبی روده شوند (۲۱). اسیدهای آلی در جوجه‌های جوان با رفع کمبود ترشح اسید کلریدریک معده و افزایش فعالیت آنزیم پپسین باعث افزایش هضم و جذب پروتئین‌ها می‌شوند. علاوه بر این اسیدهای آلی می‌توانند جمعیت باکتری‌های تجزیه کننده پروتئین را در روده کاهش داده و سبب کاهش آمین زدایی اسیدهای آمینه گردند تا در نهایت پروتئین بیشتری برای جذب در دسترس حیوان قرار گیرد (۱۸). از کل فسفر مواد دانه‌ای استفاده شده در جیره‌های طیور ۵۰ تا ۸۰ درصد آن فسفر فیتاته است که قابلیت دسترسی آن برای طیور اندک می‌باشد. فیتات موجود در جیره موجب افزایش دفع آمینواسیدهای درون‌زادی در جوجه‌های گوشتی می‌گردد. همچنین دفع فسفر از طریق فضولات باعث آلودگی محیط زیست شده و حیات آبزیان را به مخاطره می‌اندازد (۲۷) از آنجایی که حیوانات تک معده‌ای فاقد آنزیم فیتاز در سیستم گوارشی خود هستند و یا فعالیت فیتازی آنها بسیار کم می‌باشد قادر به استفاده از فسفر موجود در ساختار فیتات نمی‌باشند.

بنابراین به منظور افزایش جذب فسفات موجود در جیره غذایی و همچنین کاهش آلودگی فسفات در محیط، آنزیم فیتاز به جیره غذایی حیوانات تک معده‌ای از قبیل خوک، پرندگان و ماهی‌ها افزوده می‌شود (۲۵). اسیدیته دستگاه گوارش طیور برای تجزیه کامل یا قابل قبول فیتات توسط آنزیم فیتاز مطلوب نیست. اسید سیتریک از طریق تشکیل کیلات با کاتیون‌های چند ظرفیتی مانند کلسیم که فرم غیرقابل حل آن با اسید فیتیک است منجر به بهبود اثر فیتاز می‌شود و بدین ترتیب قابلیت حل اسید فیتیک افزایش می‌یابد (۵). همچنین گزارش شده است که فعالیت آنزیم فیتاز با غلظت یون H^+ و کاتیون‌های آزاد مرتبط می‌باشد (۲۴) بنابراین استفاده از آنزیم فیتاز در جیره جوجه‌های گوشتی به همراه اسیدهای آلی ممکن است قابلیت هضم مواد معدنی کیلات شده با اسید فیتیک را افزایش دهد (۲۰). دستگاه ایمنی سالم نشان‌دهنده سلامتی و قدرت ایمنی بالای پرند و توانایی بالای آن برای مقابله با بیماری‌های روده‌ای و عفونی می‌باشد، افزودن اسید سیتریک به جیره جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش تعداد سلول‌های ایمنی و در نتیجه بهبود وضعیت ایمنی آنها خواهد شد (۱۷،۲). چودهاری و همکاران (۷)، رحمانی و همکاران (۲۲) و عبدالفتاح و همکاران (۲) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی مخصوصاً اسید سیتریک منجر به افزایش قدرت سیستم ایمنی می‌شود. وجود مطالعات متناقض در مورد مباحث مذکور و نیز افزایش روز افزون واردات اسیدفایرهای تجاری متعدد به کشور ضرورت توجه به محصولات مشابه داخلی و انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه را ایجاب می‌نماید. لذا با هدف بررسی اثر مکمل‌سازی سرکه، اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثرات متقابل آنها بر سیستم ایمنی و صفات لاشه جوجه‌های گوشتی آزمایش حاضر طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. برای انجام مطالعه حاضر تعداد ۴۸۰ قطعه جوجه نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ در آزمایش فاکتوریل $2 \times 2 \times 2$ با دو سطح سرکه طبیعی انگور (صفر و ۲ درصد)، دو سطح اسید سیتریک (صفر و ۱ درصد) و دو سطح آنزیم فیتاز (صفر و ۵۰۰ واحد فعال آنزیم در هر کیلوگرم از جیره) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار آزمایشی، ۵ تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار تا سن ۴۲ روزگی پرورش داده شدند. در هر یک از واحدهای آزمایشی از آبخوری نیپل و دانخوری تراف استفاده شد و از تراشه‌های چوب به عنوان بستر استفاده گردید. دمای سالن در روز اول پرورش ۳۲

درجه سانتی‌گراد بود سپس به تدریج کاهش یافت تا اینکه در ۴۲ روزگی به ۲۱ درجه سانتی‌گراد رسید. برنامه نوردهی در روز اول بصورت ۲۴ ساعت روشنایی بود و بعد از آن تا انتهای دوره به صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی در شبانه روز تثبیت گردید. رطوبت نسبی سالن بین ۵۰ تا ۶۰ درصد متغیر بود. جوجه‌ها از ۱۰-۰ روزگی جیره آغازین از ۲۴-۱۱ روزگی جیره رشد و از ۴۲-۲۵ روزگی جیره پایانی را بر اساس جداول راهنمای احتیاجات سویه راس ۳۰۸ (۲۰۰۷) دریافت نمودند. جیره نویسی با استفاده از نرم‌افزار UFFDA^۱ صورت گرفت. سرکه انگور استفاده شده به صورت تخمیر شده و با درصد خلوص ۶/۸ درصد اسید استیک بود که در آزمایشگاه دانشکده شیمی دانشگاه ارومیه مورد آزمایش قرار گرفت. اسید سیتریک استفاده شده به شکل مونوهیدراته و فیتاز مورد استفاده با نام تجاری ناتافوس، محصولی از میکروارگانسیم اسپرژیلوس نیجر بود که یک گرم از آن دارای حداقل ۱۰۰۰۰ واحد فعال آنزیم فیتاز (FTU)^۲ بود. مقدار مصرف آنزیم مطابق با دوز پیشنهادی شرکت سازنده در نظر گرفته شد (۲۰۰ گرم آنزیم فیتاز در یک تن جیره). طی دوره پرورش تمام گروه‌ها جیره‌های یکسانی بر پایه گندم- ذرت- سویا دریافت نمودند. دسترسی به آب و خوراک در طول دوره به صورت آزاد بود. تیمارهای آزمایشی به ترتیب شامل: ۱- جیره شاهد (گندم- ذرت- سویا) ۲- جیره شاهد + دو درصد سرکه طبیعی انگور ۳- جیره شاهد + یک درصد اسید سیتریک ۴- جیره شاهد + آنزیم فیتاز ۵- جیره شاهد + دو درصد سرکه طبیعی انگور + یک درصد اسید سیتریک ۶- جیره شاهد + دو درصد سرکه طبیعی انگور + آنزیم فیتاز ۷- جیره شاهد + یک درصد اسید سیتریک + آنزیم فیتاز ۸- جیره شاهد + دو درصد سرکه طبیعی انگور + یک درصد اسید سیتریک + آنزیم فیتاز بودند. برای تحریک سیستم ایمنی به منظور سنتز آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن ویروس نیوکاسل برای ارزیابی تأثیر تیمارهای مختلف بر ایمنی هومورال پرندگان، تمام جوجه‌های مورد آزمایش در روزهای یازدهم و بیست و سوم با استفاده از واکسن لاسوتا (واکسن زنده بیماری نیوکاسل) به روش قطره چشمی واکسینه شدند. در روز ۴۲ پرورش از تعداد دو قطعه خروس از هر تکرار (ده پرند از هر تیمار) از ورید بالی خونگیری صورت گرفت. نمونه‌های خون پس از انعقاد به آزمایشگاه منتقل شدند و سرم نمونه‌ها با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه جدا شد. نمونه‌های سرم تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به صورت فریز نگهداری شدند.

جدول ۱- ترکیب جیره آزمایشی (/)

اجزای جیره	جیره آغازین (۰-۱۰ روزگی)	جیره رشد (۱۱-۲۴ روزگی)	جیره پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)
ذرت	۴۱/۹۰	۴۲/۴۹	۴۰
گندم	۱۴/۰۶	۲۰	۲۵
کنجاله سویا	۳۷/۵	۳۱/۳۰	۲۸/۱۵
روغن سویا	۲/۲	۲/۵۰	۳/۲
سنگ آهک	۱	۰/۸	۰/۸
دی کلسیم فسفات	۲/۲	۲	۱/۸
متیونین دی-ال	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۱۵
لیزین هیدروکلراید	۰/۱۶	۰/۰۶	۰/۱
مکمل ویتامینی و معدنی	۰/۵	۰/۵۰	۰/۵
نمک	۰/۳	۰/۳۰	۰/۳
ترکیبات محاسبه شده:			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/ کیلوگرم)	۲۸۶۰	۲۹۵۰	۳۰۲۰
پروتئین خام	۲۱/۲۳	۱۹/۰۵	۱۸
کلسیم	۰/۹۶	۰/۸۴	۰/۷۹
فسفر قابل دسترس	۰/۴۷	۰/۴۳	۰/۳۹
دی-ال متیونین	۰/۴۹	۰/۴۴	۰/۴۲
ال-لیزین	۱/۲۸	۱/۰۶	۱/۰۲

مقادیر ویتامین‌ها در هر کیلوگرم جیره: ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین B₁₂، ۱۸۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۳ میلی‌گرم ویتامین K₃، ۱/۸ میلی‌گرم تیمین، ۶/۶ میلی‌گرم ریوفلاوین، ۳۰ میلی‌گرم نیاسین، ۳ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۱ میلی‌گرم اسید فولیک، ۱۵ میلی‌گرم ویتامین B₁₂، ۰/۱ میلی‌گرم بیوتین، ۵۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۱۰۰ میلی‌گرم اتوکسی کوئین. مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره: ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۸۵ میلی‌گرم روی، ۱۰ میلی‌گرم مس، ۱ میلی‌گرم ید، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان.

سیتریک و آنزیم فیتاز، $e_{ijkl} = (ABC)_{ijk}$ اثر متقابل سرکه، اسید سیتریک و آنزیم فیتاز، اثر خطای آزمایش

نتایج و بحث

بر اساس تجزیه و تحلیل داده‌های آماری مربوط به اثرات سرکه طبیعی انگور، اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثرات متقابل آنها بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در جدول ۲، مشخص شد که استفاده از سطح دو درصد سرکه منجر به افزایش معنی‌دار وزن نسبی بورس فابریسیوس و طحال شد ($P < 0/05$) به طوری که اندازه بورس فابریسیوس و طحال تیمارهای حاوی سرکه نسبت به تیمارهای فاقد آن بزرگ‌تر بود. افزودن آنزیم فیتاز در جیره نیز وزن نسبی بورس فابریسیوس پرندگان را به صورت معنی‌داری افزایش داد ($P < 0/05$). نتایج همچنین نشان دادند که اثر متقابل اسید سیتریک با سرکه و نیز اثر متقابل اسید سیتریک با آنزیم فیتاز منجر به افزایش معنی‌دار وزن نسبی بورس فابریسیوس شد ($P < 0/05$). تأثیر تیمارهای آزمایشی بر وزن تیموس و نیز مقدار آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن ویروس نیوکاسل معنی‌دار نبود ($P < 0/05$). وزن تیموس، بورس فابریسیوس و طحال (اندام‌های اصلی سیستم ایمنی پرنده) به عنوان شاخصی جهت ارزیابی سیستم ایمنی پرنده در پژوهش‌های متعددی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). این اعضا مسئول تولید گلبول‌های سفید برای محافظت پرندگان در برابر عوامل بیماری‌زا می‌باشند (۲، ۳۰).

جهت تعیین مقدار آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن ویروس نیوکاسل از تست مهار آگلوتیناسیون (HI) استفاده گردید (۲۹). در روز ۴۲ پرورش تعداد یک خروس از هر تکرار (پنج پرنده از هر تیمار) به طور تصادفی و نزدیک به میانگین انتخاب شده و از طریق قطع رگ زیر گردنی کشتار شدند (۴) تا تأثیر تیمارهای آزمایشی بر صفات لاشه همچون وزن لاشه، وزن سینه، وزن ران‌ها، وزن چربی محوطه بطنی، وزن اندام‌های داخلی همچون قلب، کبد، سنگدان و پیش‌مده تعیین گردد. جهت ارزیابی وضعیت سیستم ایمنی، بورس فابریسیوس، طحال و تیموس با دقت از لاشه جدا شده و توزین گردیدند (۲).

تجزیه آماری

تمام نتایج بدست آمده از این آزمایش با استفاده از مدل آماری که در برگیرنده اثر سرکه طبیعی انگور، اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثرات متقابل بین آنها بود با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۲۶) و رویه GLM تجزیه و تحلیل شدند. میانگین صفات مورد مطالعه در صورت معنی‌دار بودن با آزمون توکی و در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} = مقدار هر مشاهده، μ = اثر میانگین، A_i = اثر سرکه، B_j = اثر اسید سیتریک، C_k = اثر آنزیم فیتاز، $(AB)_{ij}$ = اثر متقابل سرکه و اسید سیتریک، $(AC)_{ik}$ = اثر متقابل سرکه و آنزیم فیتاز، $(BC)_{jk}$ = اثر متقابل اسید

جدول ۲- تأثیر سرکه، اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثرات متقابل آنها بر خصوصیات ایمنی جوجه‌های گوشتی

تیمار	وزن بورس	وزن تیموس	وزن طحال	تیترا نیوکاسل
سرکه (%)				
A ₁	۱/۸۳ ^د	۴/۶۷	۹/۶ ^د	۱/۸۵
A ₂	۲/۰۵ ^ا	۴/۴۵	۱۰/۶ ^ا	۱/۶۰
اسید سیتریک (%)				
B ₁	۱/۸۹	۴/۴۹	۱۰/۱	۱/۵۵
B ₂	۱/۹۹	۴/۶۳	۱۰/۱	۱/۹۰
فیتاز (FTU)				
C ₁	۱/۸۳ ^د	۴/۵۷	۹/۸۷	۱/۷۵
C ₂	۲/۰۵ ^ا	۴/۵۵	۱۰/۴	۱/۷۰
Pooled SEM				
سرکه (%) × اسیدسیتریک (%)				
A ₁ ×B ₁	۱/۸۵ ^د	۴/۷۲	۸/۹ ^د	۱/۵۰
B ₂ ×A ₁	۱/۸۱ ^د	۴/۶۳	۱۰/۴ ^ا	۲/۲۰
B ₁ ×A ₂	۱/۹۳ ^ا	۴/۲۷	۱۱/۳ ^ا	۱/۶۰
B ₂ ×A ₂	۲/۲۱ ^ا	۴/۶۳	۹/۹ ^ا	۱/۶۰
سرکه × فیتاز (FTU)				
A ₁ ×C ₁	۱/۷۴	۴/۵۳	۹/۸ ^ا	۱/۹۰
A ₁ ×C ₂	۱/۹۲	۴/۸۲	۹/۵ ^د	۱/۸۰
A ₂ ×C ₁	۱/۹۱	۴/۶۲	۹/۹ ^ا	۱/۶۰
A ₂ ×C ₂	۲/۱۹	۴/۲۸	۱۱/۳ ^ا	۱/۶۰
اسید سیتریک × فیتاز (FTU)				
B ₁ ×C ₁	۱/۶۷ ^د	۴/۵۱	۱۰/۵ ^ا	۱/۵۰
B ₁ ×C ₂	۲/۱۷ ^ا	۴/۴۸	۹/۷ ^ا	۱/۶۰
B ₂ ×C ₁	۱/۹۱ ^ا	۴/۶۴	۹/۲ ^د	۲
B ₂ ×C ₂	۳ ^ا	۴/۶۲	۱۱/۱ ^ا	۱/۸۰
Pooled SEM				
سرکه (%) × اسید سیتریک (%) × فیتاز (FTU)				
A ₁ ×B ₁ ×C ₁	۱/۶۸	۴/۶۴	۹/۴	۱/۸۰
A ₁ ×B ₁ ×C ₂	۲/۰۲	۴/۸۰	۸/۴	۱/۸۰
A ₁ ×B ₂ ×C ₁	۱/۶۴	۴/۴۲	۱۰/۲	۲/۲۰
A ₁ ×B ₂ ×C ₂	۱/۸۲	۴/۸۴	۱۰/۶	۲/۲۰
A ₂ ×B ₁ ×C ₁	۱/۶۶	۴/۳۸	۱۱/۶	۱/۸۰
A ₂ ×B ₁ ×C ₂	۲/۳۰	۴/۱۶	۱۱	۲/۴۰
A ₂ ×B ₂ ×C ₁	۲/۱۶	۴/۸۶	۸/۳	۱/۶۰
A ₂ ×B ₂ ×C ₂	۲/۱۹	۴/۴۰	۱۱/۶	۱/۸۰
SEM				
	۰/۰۹	۰/۲۴	۰/۵	۰/۴۵

a-b اندیس‌های نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهاست (P<۰/۰۵). *گرم به ازای هزار گرم وزن زنده
A1 و A2: سرکه صفر و دو درصد B1 و B2: اسید سیتریک صفر و یک درصد C1 و C2: آنزیم فیتاز صفر و ۵۰۰ واحد

دسترسی بهتر به مواد مورد نیاز سیستم ایمنی، سبب ایجاد ایمنی مطلوب گردد. چگونگی اثرات متقابل بین اسیدهای آلی و آنزیم فیتاز کاملاً مشخص نیست، ولی هان و همکاران (۱۴) گزارش کردند که احتمال دارد اسیدهای آلی با اسیدی کردن جیره و مواد هضمی محیط بهتری را از لحاظ pH برای عمل فیتاز فراهم نمایند. همچنین برنس و همکاران (۶) گزارش کردند که اسید سیتریک به تنهایی و یا همراه با آنزیم فیتاز، هیدرولیز فیتات را در جوجه‌های گوشتی افزایش می‌دهد. بر این اساس به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر استفاده از اسیدهای آلی به سبب فراهم‌سازی شرایط اسیدی مناسب در دستگاه گوارش باعث بهبود فعالیت آنزیم فیتاز در افزایش قابلیت حل اسید فیتیک شده است که در نتیجه آزادسازی مواد مغذی متصل شده با اسید فیتیک افزایش یافته است (۴) به این ترتیب

در این رابطه کتاناف و همکاران (۱۶) گزارش کردند افزایش وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی به عنوان نشانه‌ای از تقویت سیستم ایمنی است. اسیدهای آلی از طریق نابودسازی پاتوژن‌های داخلی و به تبع آن تکامل آناتومیکی بافت‌های لنفاوی تیموس، بورس فابریسیوس، طحال و سایر اندام‌های وابسته به سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی و نیز از طریق افزایش سلول‌های دفاعی بالغ باعث بهبود وضعیت سیستم ایمنی پرندگان و تنظیم فرآیندهای ایمنی آنها می‌شوند (۲۳). بولینگ و همکاران (۵) گزارش کردند با توجه به اینکه کمبود مواد غذایی در جیره یا عدم جذب مناسب آنها در سطح روده می‌تواند باعث کاهش فعالیت سیستم ایمنی شود، بهبود شرایط هضم و جذب از جمله تأمین اسیدیته مناسب و نیز افزایش انرژی قابل متابولیسم خوراکی‌ها از طریق مصرف اسیدهای آلی و آنزیم‌ها می‌تواند به سبب قابلیت

می‌کنند که به دنبال آن سلول باکتری برای ثابت ماندن pH محیط درونی خود از طریق بیرون راندن پروتون‌ها عمل می‌کند و به این ترتیب شدت رشد باکتری‌ها کاهش یافته و سیستم ایمنی تقویت می‌گردد (۱۰). همچنین کبیر و همکاران (۱۵) و رامارائو و همکاران (۲۳) دلایل تقویت سیستم ایمنی را هایپرتروفی و هایپرپلازی اندام‌های لنفوئیدی در گروه‌های حاوی جایگزین‌های آنتی بیوتیک محرک رشد عنوان کرده‌اند. اثر سطوح مختلف سرکه، اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثرات متقابل آنها بر بازده لاشه و وزن نسبی اجزای لاشه، در جداول ۳ و ۴ گزارش شده است.

قابلیت دسترسی به مواد مغذی مورد نیاز برای تقویت سیستم ایمنی به میزان بیشتری فراهم شده است (۵). همچنین ونگ و همکاران (۳۱) گزارش کردند که اسیدهای آلی می‌توانند از طریق بهبود بکارگیری مواد معدنی همچون آهن، کلسیم و فسفر که از جمله مواد معدنی مورد نیاز برای تقویت سیستم ایمنی هستند، منجر به تقویت سیستم ایمنی گردند. از سوی دیگر اسیدهای آلی به صورت محلول در چربی بوده و در شکل غیرتفکیک شده می‌توانند از غشای نیمه تراوا وارد سلول میکروارگانیسم‌ها شوند. در داخل سلول باکتری این اسیدها تفکیک شده و درون سلول را اسیدی

جدول ۳- تأثیرات سرکه، اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثرات متقابل آنها بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی

تیمار	بازده لاشه	چربی محوطه بطني	سینه	ران	بال*
سرکه (%)					
A ₁	۷۴/۴۸	۱/۴۵	۲۵/۴	۲۱/۵	۷/۵
A ₂	۷۴/۴۹	۱/۳۵	۲۵/۳	۲۱/۶	۷/۵
اسید سیتریک (%)					
B ₁	۷۴/۸۳	۱/۴۷ ^a	۲۵/۲	۲۱/۶	۷/۶
B ₂	۷۴/۱۳	۱/۳۳ ^d	۲۵/۵	۲۱/۶	۷/۵
فیتاز (FTU)					
C ₁	۷۴/۲۸	۱/۲۸ ^d	۲۵/۵	۲۱/۶	۷/۵
C ₂	۷۴/۶۹	۱/۵۱ ^a	۲۵/۳	۲۱/۵	۷/۶
Pooled SEM					
	۰/۳۶	۰/۰۳	۰/۴	۰/۲	۰/۰۵
سرکه (%) × اسید سیتریک (%)					
A1-B1	۷۴/۶۰	۱/۴۶ ^a	۲۵/۵	۲۱/۶	۷/۷
B2-A1	۷۴/۳۷	۱/۴۴ ^a	۲۵/۳	۲۱/۵	۷/۴
B1-A2	۷۵/۰۸	۱/۴۹ ^a	۲۴/۹	۲۱/۶	۷/۵
B2-A2	۷۳/۹۰	۱/۲۱ ^d	۲۵/۸	۲۱/۷	۷/۶
سرکه × فیتاز (FTU)					
A1-C1	۷۴/۳۸	۱/۳۶	۲۵/۶	۲۱/۳	۷/۵
A1-C2	۷۴/۵۸	۱/۵۴	۲۵/۳	۲۱/۸	۷/۶
A2-C1	۷۴/۱۸	۱/۲۱	۲۵/۴	۲۲	۷/۵
A2-C2	۷۴/۸۰	۱/۴۹	۲۵/۳	۲۱	۷/۵
اسید سیتریک × فیتاز (FTU)					
B1-C1	۷۴/۹۳	۱/۳۰ ^d	۲۵/۶	۲۱/۷	۷/۶
B1-C2	۷۴/۷۴	۱/۶۵ ^a	۲۴/۹	۲۱/۴	۷/۶
B2-C1	۷۳/۶۳	۱/۲۷ ^d	۲۵/۴	۲۱/۶	۷/۵
B2-C2	۷۴/۶۴	۱/۳۸ ^d	۲۵/۷	۲۱/۶	۷/۵
Pooled SEM					
	۰/۵۱	۰/۰۵	۰/۶	۰/۳	۰/۰۸
سرکه (%) × اسید سیتریک (%) × فیتاز (FTU)					
A1-B1-C1	۷۴/۹۸	۱/۲۶	۲۶/۱	۲۱/۴	۷/۷
A1-B1-C2	۷۴/۲۰	۱/۶۶	۲۴/۹	۲۱/۸	۷/۷
A1-B2-C1	۷۳/۷۸	۱/۴۶	۲۵	۲۱/۲	۷/۴
A1-B2-C2	۷۴/۹۶	۱/۴۲	۲۵/۶	۲۱/۸	۷/۵
A2-B1-C1	۷۴/۸۸	۱/۳۴	۲۵	۲۲	۷/۵
A2-B1-C2	۷۵/۲۸	۱/۶۴	۲۴/۸	۲۱/۱	۷/۵
A2-B2-C1	۷۳/۴۸	۱/۰۸	۲۵/۷	۲۲	۷/۶
A2-B2-C2	۷۴/۳۲	۱/۳۴	۲۵/۸	۲۱	۷/۶
SEM					
	۰/۴۶	۰/۰۶	۰/۹	۰/۴	۰/۱

a-b: اندیس‌های نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهاست (P<۰/۰۵). * گرم به ازای هزار گرم وزن زنده
A1 و A2: سرکه صفر و دو درصد B1 و B2: اسید سیتریک صفر و یک درصد C1 و C2: آنزیم فیتاز صفر و ۵۰۰ واحد

جدول ۴- تأثیر سرکه، اسید سیتریک، فیتاز و اثرات متقابل آنها بر وزن نسبی ارگان‌های داخلی جوجه‌های گوشتی

تیمار	قلب*	کبد*	پانکراس*	سنگدان*	پیش‌مده*
سرکه (%)					
A ₁	۰/۵	۲/۰۴	۰/۲۱	۱/۶۰	۰/۳۵
A ₂	۰/۵	۲/۰۱	۰/۲۱	۱/۶۰	۰/۳۶
اسید سیتریک (%)					
B ₁	۰/۵۱	۱/۹۷	۰/۲۱	۱/۶۱	۰/۳۶
B ₂	۰/۴۹	۲/۰۸	۰/۲۲	۱/۶۰	۰/۳۶
فیتاز (FTU)					
C ₁	۰/۵	۲/۰۲	۰/۲۱	۱/۵۸	۰/۳۵
C ₂	۰/۵	۲/۰۳	۰/۲۲	۱/۶۲	۰/۳۶
Pooled SEM					
	۰/۰۱۲	۰/۰۴	۰/۰۰۸	۰/۰۲	۰/۰۱
سرکه (%) × اسید سیتریک (%)					
A ₁ ×B ₁	۰/۵۱	۱/۹۳	۰/۲۱	۱/۶۱	۰/۳۶
A ₁ ×B ₂	۰/۴۹	۲/۱۵	۰/۲۲	۱/۶۰	۰/۳۵
A ₂ ×B ₁	۰/۵۲	۲/۰۱	۰/۲۱	۱/۶۱	۰/۳۶
A ₂ ×B ₂	۰/۴۹	۲/۰۱	۰/۲۲	۱/۶۰	۰/۳۷
سرکه × فیتاز (FTU)					
A ₁ ×C ₁	۰/۴۹	۲/۰۷	۰/۲۰	۱/۶۲	۰/۳۷
A ₁ ×C ₂	۰/۵۱	۲	۰/۲۳	۱/۵۹	۰/۳۴
A ₂ ×C ₁	۰/۵۱	۱/۹۷	۰/۲۲	۱/۵۵	۰/۳۴
A ₂ ×C ₂	۰/۵۰	۲/۰۵	۰/۲۱	۱/۶۶	۰/۳۹
اسید سیتریک × فیتاز (FTU)					
B ₁ ×C ₁	۰/۵۰	۱/۹۶	۰/۲۱	۱/۵۴	۰/۳۵
B ₁ ×C ₂	۰/۵۳	۱/۹۹	۰/۲۱	۱/۶۲	۰/۳۷
B ₂ ×C ₁	۰/۵۰	۲/۰۹	۰/۲۱	۱/۶۰	۰/۳۶
B ₂ ×C ₂	۰/۴۸	۲/۰۷	۰/۲۳	۱/۵۶	۰/۳۶
Pooled SEM					
	۰/۰۱۸	۰/۰۶	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۲
سرکه (%) × اسید سیتریک (%) × فیتاز (FTU)					
A ₁ ×B ₁ ×C ₁	۰/۵۰	۱/۹۴	۰/۲	۱/۶۰	۰/۳۸
A ₁ ×B ₁ ×C ₂	۰/۵۲	۱/۹۴	۰/۲۲	۱/۶۲	۰/۳۴
A ₁ ×B ₂ ×C ₁	۰/۴۸	۲/۲۴	۰/۲	۱/۶۴	۰/۳۶
A ₁ ×B ₂ ×C ₂	۰/۵۰	۲/۰۶	۰/۲۴	۱/۵۶	۰/۳۴
A ₂ ×B ₁ ×C ₁	۰/۵۰	۱/۹۸	۰/۲۲	۱/۴۶	۰/۳۲
A ₂ ×B ₁ ×C ₂	۰/۵۴	۱/۹۶	۰/۲	۱/۷۶	۰/۴۰
A ₂ ×B ₂ ×C ₁	۰/۵۲	۲/۰۴	۰/۲۲	۱/۶۴	۰/۳۶
A ₂ ×B ₂ ×C ₂	۰/۴۶	۲/۰۸	۰/۲۲	۱/۵۶	۰/۳۸
SEM					
	۰/۰۲۵	۰/۱	۰/۰۱۶	۰/۰۵	۰/۰۳

*: گرم به ازای هزار گرم وزن زنده
A1 و A2: سرکه صفر و دو درصد B1 و B2: اسید سیتریک صفر و یک درصد C1 و C2: آنزیم فیتاز صفر و ۵۰۰ واحد

طریق آزادسازی مواد مغذی متصل شده با اسید فیتیک (۴) موجب افزایش انرژی آزاد شده از جیره غذایی می‌گردد. که در مطالعه حاضر انرژی مازاد بر نیاز حیوان به صورت چربی در محوطه بطنی ذخیره شده است. عدم معنی‌داری وزن نسبی کبد در بین تیمارهای آزمایشی ممکن است به دلیل ذخیره بیشتر گلیکوژن و کاهش ذخیره‌سازی چربی کبد در اثر استفاده از اسیدهای آلی باشد (۲) که این فرضیه مطابق با یافته‌های فوشیمی و همکاران (۱۱) است که گزارش کردند اسیدی شدن جیره ممکن است از طریق افزایش هجوم گلوکز ۶-فسفات به مسیر سنتز گلیکوژن و افزایش غلظت سیترات در کبد منجر به تحریک گلیکوژن‌سیس و مهار گلیکولیز شود. دلیل و همکاران

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری نشان دادند که استفاده از آنزیم فیتاز در جیره منجر به افزایش معنی‌دار چربی محوطه بطنی شد ($P < 0/05$). در حالی که اسید سیتریک و اثر متقابل سرکه و اسید سیتریک چربی محوطه بطنی را به صورت معنی‌داری کاهش دادند ($P < 0/05$). در مطالعه حاضر وزن نسبی اندام‌های داخلی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P < 0/05$). شعبانی فتح و همکاران (۲۸) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی سبب کاهش تولید اسید چرب و یا کاهش تبدیل آن به گلیسرید می‌شود که این امر منجر به کاهش ذخیره چربی در محوطه بطنی پرندگان تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسیدهای آلی می‌گردد. آنزیم فیتاز با افزایش چشمگیر قابلیت هضم مواد مغذی از

محوطه بطنی گردید. همچنین آنها گزارش کردند که در مطالعه آنان استفاده از اسیدهای آلی منجر به افزایش ترشح آنزیمهای هضمی پانکراس و در نتیجه بزرگتر شدن پانکراس گردید. هرچند که در مطالعه حاضر، مکمل سازی خوراک با اسیدهای آلی سبب کاهش چربی محوطه بطنی و بهبود وضعیت ایمنی پرندگان مورد مطالعه گردید و در عین حال تداخل اثری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد، لازم است تا تحقیقات بنیادی بیشتری در زمینه موجود انجام گیرد تا مکانیسمهای اصلی تقویت سیستم ایمنی بدن توسط اسیدهای آلی و نیز وجود یا عدم وجود تداخل اثر بین تیمارهای مورد مطالعه بیشتر روشن شود.

(۸) گزارش کردند استفاده از اسیدهای آلی در جیره جوجه های گوشتی تأثیری روی بازده لاشه، چربی محوطه بطنی و وزن کبد نداشت. همچنین عدیل و همکاران (۳) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی تأثیر معنی داری بر خصوصیات لاشه (وزن گردن، سینه، ران ها، بال ها، کبد، قلب و سنگدان) جوجه های گوشتی نداشت. در حالی که عبدالعازم و همکاران (۱) در تحقیقات خود نشان دادند که استفاده از اسید سیتریک منجر به کاهش وزن کبد شد و عبدالفتاح و همکاران (۲) هم گزارش کردند که استفاده از سه و یک و نیم درصد اسید لاکتیک، اسید سیتریک و اسید استیک تأثیر معنی داری بر بازده لاشه، وزن کبد و قلب در مقایسه با گروه شاهد نداشت در حالی که استفاده از سطح سه درصد اسید سیتریک منجر به کاهش چربی

منابع

1. Abdel-Azeem, F., Y.M. El-Hommosany and G.M. Nematallah. 2000. Effect of citric acid in diets with different starch and fiber levels on productive performance and some physiological traits of growing rabbits. *Egypt Journal of Rabbit Science* 10: 121-145.
2. Abdel-Fattah, S.A., M.H. El-Mednay and V. Abdul-Azeem. 2008. Thyroid activity of broiler chicks fed supplemental organic acids. *International Journal of Poultry Science* 7: 215-222.
3. Adil, Sh., T. Banday, G.A. Bhat, M. Salahuddin, M. Raqubi and S. Shanaz. 2011. Response of broilers chicken to dietary supplementation of organic acids. *Journal of Center European Agricultur.* 12: 489- 508.
4. Aydin, A., A.Y. Pekel, G. Issa, G. demirel and P.H. Patterson. 2010. Effect of dietary copper, citric acid and microbial phytase on digesta PH and ileal and carcass microbiota of broiler chickens fed a low available phosphorus diet. *Journal of Applicate Poultry Research.* 19: 422-431.
5. Boling, S.D., D.M. Webel, I. Mavromichalis, C.M. Parsons and D.H. Baker. 2000. The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. *Journal of Animal Science.* 78: 682-689.
6. Brenes, A., A. Viveros, I. Arija, C. Centeno, M. Pizarro and C. Braro. 2003. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science Technology.* 110: 201-219.
7. Chowdhury, R., K.M.S. Islam, M.J. Khan, M.R. Karim, M.N. Haque and M. Khatun. 2009. Effect of citric acid, avilamycin and their combination on the performance, tibia ash and immune status of broilers. *Poultry Science.* 8: 1616-1622.
8. Denli, M., F. Okan and K. Celik. 2003. Effect of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. *Pakistan Journal of Nutrient.* 2: 89-91.
9. Deschepper, K., M. Lippens, G. Huyghebaert and K. Molly. 2003. The effect of aromabiotic and gallid'or on technical performances and intestinal morphology of broilers. 14th European symposium on poul. *Nutrition Lillehammer Norway.* 191-192.
10. Florou-Paneri, P., E. Christaki, N.A. Botsoglou, A. Kalousis and A.B. Spais. 2001. Performance of broilers and the hydrogen ion concentration in their digestive tract following feeding of diets with different buffering capacities. *Archelic Geflügelk.* 65: 236-240.
11. Fushimi, T., K. Tayama, M. Fukaya, K. Kitakoshi, N. Nakai, Y. Tsukamoto and Y. Sato. 2001. Acetic acid feeding enhances glycogen repletion in liver and skeletal muscle of rats. *Journal of Nutrient.* 131: 1973-1977.
12. Garcia, V., P. Catale-Gregori, F. Hernandez, M.D. Megias and J. Madrid. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology and meat yield of broilers. *Journal of Applicate Poultry Research.* 16: 555-562.
13. Gunal, M., G. Yaylı, O. Kaya, N. Karahan and O. Sulak. 2006. The effect of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of roilers. *International of Poultry Science.* 5: 149-155.
14. Han, Y.M., K.R. Roneker, W.G. Pond and X.G. Lei. 1998. Adding wheat middlings, microbial phytase and citric acid to corn-soybean meal diets for growing pigs may replace inorganic phosphorus supplementation. *Journal of Poultry Science.* 76: 2649-2656.
15. Kabir, S., M.M. Rahman, M.B. Rahman and S.U. Ahmad. 2004. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *International of poultry science.* 35: 361-364.
16. Katanbaf, M.N., E.A. Dunnington and P.B. Siegel. 1989. Restricted feeding in early and late-feathering chickens. *Growth and physiological responses.* *Poultry Science.* 68: 344-351.

17. Khan, M.Z.I., S.H. Akter, M.N. Islam, M.R. Karim, M.R. Islam and Y. kon. 2008. The effect of selenium and vitamin E on the lymphocytes and immunoglobulin-containing plasma cells in the lymphoid organ and mucosa-associated tissue of broiler chick. *Histology Embryol.* 37: 52-59.
18. Kocabagli, M., N. Kahraman and K. Bostan. 1999. Effects of dietary supplementation with organic acid and zinc on ileal microflora, pH, performance in broiler. *VIV Poultry Yutav* 99 Istanbul. pp: 496-504.
19. Mujdat, A.L. and N. Kocabagli. 1999. Effects of dietary supplementation with organic acids and zinc bacitracin on ileal microflora, pH and performance in broilers. *Veterinary Animal Science.* 23: 451-455.
20. Nourmohammadi, R., S.M. Hosseini, H. Farhangfar and M. Bashtani. 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:e7.
21. Qadyanloo, B., Sh. Rahimi and M.A. Karimi Torshizi. 2009. Effect of organic acids and formaldehyde on morphology of broiler intestine and salmonella reduction in feed. *Journal of Veterinary Research.* 64: 215-220.
22. Rahmani, H.R. and W. Speer. 2005. Natural additives influence the performance and humoral immunity of broilers. *International Journal of Poultry Science.* 4: 713- 717.
23. Ramarao, S.V., M.R. Reddy, M.V.L.N. Raju and A.K. Panda. 2004. Growth, nutrient utilization and immunocompetence in broiler chicken fed probiotic, gut acidifier and antibacterial compounds. *Indian Journal of Poultry Science.* 39:2. 125-130.
24. Ravindran, V., P.H. Selle and W.L. Bryden. 1999. Effect of phytase supplementation, individually and in combination with glycanase on the nutritive value of wheat and barley. *Journal of Poultry Science.* 78:1588-1595.
25. Reddy, N.R., S.K. Sathe and D.K. Salunkhe. 1982. Phytates in legumes and cereals. *Advances in Food Chemi.* Academic Press, New York, 1-92.
26. SAS. 2005. SAS User's Guide. Statistics. Version 9.12. Edn. SAS Institute Inc.
27. Selle, P. H and V. Ravindran. 2007. Microbial phytase in poultry nutrition. A review *Animal Feed Science.* 35:1-41.
28. Shabani Fath, A.A., R. Najafi and Gh. Najafi. 2011. Effects of antibiotic growth promoter replacement with Organic Acids, on Small Intestinal Morphology, Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chickens. *Iranian Journal of Animal Science.* 22: 114-124. (In Persian)
29. Snyder, D., W. Marquadt, E. Mallinson, P. Savage and C. Allen. 1984. Rapid serological profiling by enzyme linked immunosorbent assay. III. Simultaneous measurement of antibody titers to infectious bronchitis virus, infectious bursal disease and Newcastle disease virus in a single serum dilution. *Avian Disess.* 28:12-24.
30. Sturkie, P.D. 1986. *Avian Physiology.* 4th Edn. Springer-Verlag, Inc., New York, NY.
31. Wang, J. P., J.H. Lee, J.S. Yoo, J.H. Cho, H.J. Kim and I.H. Kim. 2010. Effects of phenyllactic acid on growth performance, intestinal microbiota, relative organ weight, blood characteristics and meat quality of broiler chicks. *Poultry Science.* 89: 1549-1555.

Study the Immune System and Carcass Characteristics of Broiler Chickens fed with Organic Acids and Phytase Enzyme Supplementation

Nasibeh Mohammadbagheri¹ and Ramin Najafi²

1- M.Sc., University of Urmia

2- Assistant Professor, University of Urmia (Corresponding author: r.najafi@urmia.ac.ir)

Received: August 18, 2013

Accepted: May 25, 2014

Abstract

An experiment was conducted to evaluate the effects of organic acids and phytase enzyme supplementation on immune system and carcass characteristics of broiler chickens. The experiment was done in factorial arrangement $2 \times 2 \times 2$ based on completely randomized design with 8 treatments, 5 replicates and 12 chicks in each to 42 d of age. Diets including natural vinegar (0 and 2%), citric acid (0 and 1%) and phytase enzyme (0 and 500 U phytase/kg of feed). All the birds were vaccinated against Newcastle disease by lasota vaccine via eye drop in 11 and 23 days. In order to study the immune system situation, blood samples of two birds of each replicate was taken in 42 day. After serum separation, the IgG of NDV was detected by HI test. One birds of each replicate (five birds of each treatment) randomly selected and were killed to evaluate lymphoid organs weigh and carcass characteristics at 42 day. The analysis of results showed that addition of vinegar and phytase significantly increased the relative weight of bursa ($P < 0/05$). Interaction effect of citric acid with vinegar and with phytase enzyme significantly increased the relative weight of bursa ($P < 0/05$) also vinegar significantly increased the relative weight of spleen ($P < 0/05$). Phytase significantly increased the abdominal fat ($P < 0/05$) while citric acid and interaction effect of citric acid with vinegar significantly decreased the abdominal fat ($P < 0/05$). In current study treatments hasn't any effect on internal organs relative weight ($P > 0/05$).

Keywords: Citric acid, Vinegar, Phytase Enzyme, Immune System, Broiler Chickens