



## بررسی تأثیر سطوح مختلف کنجاله گوار با آنزیم بتاماناز بر جمعیت باکتریایی ایلنوم، پاسخ ایمنی و برخی فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی

حسن نبی‌پور افروزی<sup>۱</sup>، منصور رضایی<sup>۲</sup> و وحید تقی‌زاده<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسئول: afroztab@yahoo.com)

۲- استاد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- مدیر واحد تحقیق و توسعه شرکت زربال امل

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۲۲

### چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کنجاله گوار (صفر، ۵ و ۱۰ درصد) و آنزیم بتا-ماناناز (صفر و ۰/۰۵ درصد) در دوره‌های رشد و پایداری در قالب یک آزمایش فاکتوریل  $2 \times 3$  با طرح بلوک‌های کامل تصادفی بر جمعیت باکتریایی ایلنوم، پاسخ ایمنی و برخی فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی انجام شد. سیصد و شصت قطعه جوجه خروس گوشتی سویه تجاری راس ۳۰۸ با ۶ تیمار، هر تیمار از ۴ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر واحد آزمایشی به مدت ۴۲ روز پرورش یافتند. جهت ارزیابی جمعیت باکتریایی ایلنوم، پرندهای مورد آزمایش در سن ۴۲ روزگی به روش جابجایی مهره‌های گردنی کشتار شدند و پس از باز کردن حفره شکمی، جمعیت باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی پاسخ ایمنی، در سن ۳۵ روزگی یک میلی‌لیتر گلبول قرمز گوسفند به صورت داخل عضلانی تزریق شده و در سن ۴۱ روزگی از ناحیه ورید بال خونگیری به عمل آمد. به‌منظور تعیین فراسنجه‌های خونی، از هر تیمار ۴ پرند انتخاب و پس از خون‌گیری، نمونه‌های خون برای تعیین برخی فراسنجه‌های خونی به آزمایشگاه منتقل شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که کمترین جمعیت باکتری‌های بی‌هوازی و ای‌کولای مربوط به جوجه‌های تغذیه شده با سطح ۱۰ درصد کنجاله گوار حاوی مکمل آنزیمی بود ( $P < 0/05$ )، اما تغذیه سطوح مختلف کنجاله گوار و مکمل آنزیمی بر پاسخ ایمنی و فراسنجه‌های خونی جوجه‌های گوشتی اثر معنی‌داری نداشت. به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از ۱۰ درصد کنجاله گوار در جیره غذایی همراه با مکمل آنزیمی باعث کاهش باکتری‌های بی‌هوازی و ای-کولای در ایلنوم شد، اما تأثیری روی فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی نداشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم بتا-ماناناز، پاسخ ایمنی، جمعیت باکتریایی، جوجه گوشتی، فراسنجه‌های خونی، کنجاله گوار

### مقدمه

فلور دستگاه گوارش تحت تأثیر جیره می‌باشد زیرا اقلام خوراکی جیره سوبستراهای بالقوه برای رشد باکتری‌ها می‌باشند (۲۰). جمعیت میکروفلورای گوارشی روی عملکرد و سلامتی جوجه‌های گوشتی تأثیر می‌گذارد (۱۷). فلور میکروبی در دستگاه گوارش پرندگان نقش مهمی در فرآیندهای هضم مواد مغذی، تحریک سیستم ایمنی و حفظ سلامت روده حیوان دارد. این فلور میکروبی شامل اجتماع متنوعی از گونه‌های میکروبی می‌باشد (۲۳). تغییرات ساده در شیوه مدیریت تغذیه می‌تواند به طور معنی‌داری روی جمعیت میکروبی و اثرشان روی عملکرد حیوان و سلامتی آن موثر باشد (۲۳). باقیمانده صمغ گوار (پلی ساکارید گالاتومنانان) موجود در کنجاله گوار می‌تواند دارای خواص پری بیوتیکی باشد که با اثر بر عملکرد سیستم ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار باعث افزایش مقاومت نسبت به باکتری‌های بیماری‌زا شود (۱۳). گالاتومنانان فعالیت ماکروفاژها را افزایش داده بنابراین باعث فعالیت تحریک سیستم ایمنی می‌شود (۳۲). در نتیجه‌ی هیدرولیز آنزیمی صمغ گوار، مولکول‌های کوچکتری ایجاد شده، که دارای چسبندگی کمتری بوده که به‌عنوان پری بیوتیک شناخته می‌شوند (۲۹). مولکول‌های کوچکتر حاصل از هیدرولیز آنزیمی صمغ گوار (مانان الیگوساکاریدها) به‌عنوان پری بیوتیک‌ها، موجب تقویت جمعیت باکتری‌های مفید به

طور انتخابی نمی‌شوند، بلکه با اتصال به عوامل بیماری‌زا موجب دفع آنها از دستگاه گوارش شده و از این طریق سیستم ایمنی را تحریک می‌کنند (۲۸). مکمل آنزیمی با هیدرولیز قسمتی از پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای چسبندگی محتویات هضمی در روده کوچک را کاهش، قابلیت هضم مواد مغذی را بهبود و فلور میکروبی روده را تغییر می‌دهند (۵). صمغ گوار که در کنجاله گوار به مقدار ۲۰-۱۸ درصد موجود می‌باشد، از طریق افزایش دفع اسیدهای صفراوی از طریق فضولات، و کاهش باز جذب آن، و همین‌طور کاهش جذب کلسترول از طریق روده و کاهش تأثیر آنزیم لیپاز بر هضم و جذب چربی به واسطه ایجاد ویسکوزیته می‌تواند باعث کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید شود (۳۲). کنجاله گوار ترکیبی از بخش‌های جوانه و پوسته دانه گوار است که به‌عنوان یک محصول جانبی در مراحل تولید صمغ گوار از دانه گوار تولید می‌شود، و به جهت داشتن پروتئین بالا به عنوان جایگزین بخشی از کنجاله سویا به‌عنوان منبع پروتئین در تغذیه طیور اهمیت فراوان دارد (۱۹، ۱۱). مقدار پروتئین خام کنجاله گوار از ۳۵ تا ۴۷/۵ درصد بر مبنای ماده خشک متغیر است (۳۲، ۱۰). آنزیم بتا-د-ماناناز به طور تصادفی پیوندهای بتا-۱-۴ در داخل زنجیره اصلی بتا-د-مانانان موجود در گالاتومنانان، گالاتوگلوکومانان و مانان را می‌شکند (۱۴، ۱۲، ۱). با توجه به اینکه ترکیبات جانبی (فرعی)

کننده ۱۰۰ میلیون واحد<sup>۱</sup> در تن است. در این طرح مقدار مصرف آنزیم برای تیمارهای حاوی آنزیم، ۰/۰۵ درصد در جیره بوده است. پرندگان در طول دوره آزمایش به صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. جیره‌های آزمایشی از نظر مواد مغذی و پروتئین یکسان بودند، در دوره آغازین و دوره آزمایش (رشد و پایداری) براساس احتیاجات سویه تجارتي راس ۳۰۸ و با استفاده از نرم‌افزار *UFFDA* تنظیم شدند. ترکیب جیره‌های آزمایشی در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. صفات مورد بررسی در آزمایش عبارت بودند از: جمعیت میکروبی ایلئوم، برخی فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی. به‌منظور بررسی وضعیت جمعیت باکتریایی روده در پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی) از هر تیمار ۳ قطعه جوجه (در مجموع ۱۸ نمونه) با وزن بدنی میانگین گروه انتخاب و پس از توزین، به روش جابجایی مهره‌های گردنی<sup>۲</sup> کشتار شدند. پس از باز کردن حفره شکمی، بخش ایلئوم مرغ از ناحیه زائده مکل<sup>۳</sup> و محل اتصال آن به سکوما و راست روده با قیچی استریل جدا و دو طرف آن را با نخ استریل محکم بسته شد. سپس این نمونه‌ها در داخل قوطی‌های استریل (یورینگ بائر) قرار داده شد، بدین ترتیب برای بررسی جمعیت کل میکروگانيسم‌های هوازی، بی‌هوازی و باکتریهای *E.coli* بوسیله کشت‌های میکروبی مربوطه در آزمایشگاه طی مراحل به شرح زیر آماده و تعیین شد، برای آماده‌سازی نمونه‌ها، ابتدا یک گرم از محتویات روده را با ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط کرده و پس از همگن نمودن نمونه‌ها، رقت‌های متوالی تهیه شده و جهت کشت آماده شدند، برای کشت باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی و در نهایت شمارش این گروه از باکتری‌ها از محیط تریپتیک سوی آگار (*TSA*)<sup>۴</sup> استفاده شده و نوع کشت نیز کشت سطحی بود. به منظور گرمخانه‌گذاری نمونه‌های باکتری‌های بی‌هوازی از دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت همراه با جار بی‌هوازی و گاز پک نوع *A* استفاده شده ولی در ارتباط با جداسازی باکتری‌های هوازی از جار و گاز پک استفاده نمی‌شود (۲۵). برای شمارش ای-کولای (*E.coli*) از محیط کشت *ECC* کروم آگار استفاده شد و پلیت‌ها بعد از کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون شدند. ظاهر شدن کلنی‌های آبی نشان‌دهنده *E.coli* می‌باشد. به‌منظور شمارش کلنی‌های رشد یافته در محیط‌های مذکور، ابتدا تعداد کلنی‌ها، شمارش شده و با ضرب تعداد آنها در عکس رقت مورد استفاده، تعداد کل باکتری‌ها در یک گرم از محتویات روده بر حسب *CFU/g*<sup>۵</sup> مشخص شدند. جهت تعیین فراسنجه‌های خونی در پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی)، ۴ قطعه جوجه خروس که از هر بلوک یک قطعه مربوط به آن تیمار بود جهت خونگیری انتخاب شدند. جوجه‌ها قبل از خونگیری به مدت ۸ ساعت ناشتا نگهداری شدند و سپس با استفاده از سرنگ مقدار ۲ میلی‌لیتر خون از محل ورید بال از هر پرنده خونگیری به عمل آمده است و بعد از خونگیری، نمونه‌ها به داخل لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد *EDTA* منتقل شد. شماره هر واحد آزمایشی بر روی لوله‌های آزمایش ثبت شد، سپس لوله‌های نمونه خون به آزمایشگاه منتقل شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰

موجود در خوراک‌ها و جیره و افزودنی‌ها می‌تواند تأثیری روی فراسنجه‌های خونی، جمعیت میکروبی و غلظت کل آنتی بادی‌ها داشته باشند، لذا هدف از انجام این پژوهش تعیین سطح مناسب استفاده از کنجاله گوار دارای ترکیب گالاکتومانان در جیره جوجه‌های گوشتی روی جمعیت میکروبی، فراسنجه‌های خونی و غلظت آنتی بادی‌ها بوده که تغییرات آنها در سلامت و مقاومت پرنده در برابر عوامل محیطی موثر است می‌باشد. بدین ترتیب تأثیر استفاده از سطوح مختلف کنجاله گوار و مکمل آنزیمی به‌عنوان ترکیب افزودنی، در دوره‌های رشد و پایداری (از ۱۱ تا ۴۲ روزگی) در جوجه‌های گوشتی بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در شرکت زربال، واقع در شهرستان آمل انجام شد. این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل ۳×۲ با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد، چرا که تمام واحدهای آزمایشی در یک ردیف طولی در داخل سالن پرورش واقع شده بودند، در چنین شرایطی ممکن است واحدهای آزمایشی یکسان نباشند و بین آنها تغییرات یک سویه وجود داشته باشد. بنابراین با اجرای طرح بلوک امکان محاسبه مقدار پراکنش ناشی از عدم یکنواختی ماده آزمایشی و تعیین مقادیر دقیق‌تر اثرات تیمارها و خطای آزمایشی فراهم شد. در این بررسی در پایان دوره آغازین ۳۶۰ قطعه جوجه خروس گوشتی یک روزه از سویه تجاری راس ۳۰۸ به گروه‌هایی با میانگین وزن نزدیک به یکدیگر به ۲۴ واحد آزمایشی (۶ تیمار، هر تیمار از ۴ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر واحد آزمایشی) اختصاص داده شدند، با توجه به ۲۴ واحد آزمایشی و ۶ تیمار، طرح از ۴ بلوک تشکیل شده به‌طوری‌که تیمارها طوری به واحدهای آزمایشی اختصاص یافتند که در هر بلوک از هر تیمار یک تکرار وجود داشت. لذا تکرارها به صورت بلوک تعریف شده‌اند. در این شرایط، تیمارها در هر بلوک در شرایط یکسان مقایسه شدند. در این آزمایش تیمارها به صورت کاملاً تصادفی به واحدهای آزمایشی موجود در هر بلوک اختصاص یافتند. در طی آزمایش تأثیر سطوح مختلف کنجاله گوار (۰، ۵ و ۱۰ درصد) با دو سطح آنزیم بتا-ماناناز (۰ و ۰/۰۵ درصد) در دوره‌های رشد و پایداری (۱۱ تا ۴۲ روزگی) مورد ارزیابی قرار گرفتند. شش تیمار آزمایشی شامل: ۱) جیره فاقد کنجاله گوار و فاقد آنزیم بتا-ماناناز (تیمار شاهد)، ۲) جیره فاقد کنجاله گوار با افزودن آنزیم بتا-ماناناز، ۳) جیره دارای ۵ درصد کنجاله گوار و فاقد آنزیم بتا-ماناناز، ۴) جیره دارای ۵ درصد کنجاله گوار با افزودن آنزیم بتا-ماناناز، ۵) جیره دارای ۱۰ درصد کنجاله گوار و فاقد آنزیم بتا-ماناناز و ۶) جیره دارای ۱۰ درصد کنجاله گوار با افزودن آنزیم بتا-ماناناز بوده است. کنجاله گوار مورد استفاده در این تحقیق که در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت دارای ۵۸/۷ درصد پروتئین خام، ۷/۰۴ درصد چربی خام، ۵ درصد فیبر و ۴/۹۶ درصد خاکستر بود. آنزیم مورد استفاده در این تحقیق بتا-ماناناز با نام تجاری همی‌سل بوده است، که سبب تجزیه بتامانان‌ها می‌شود (۳۳) سطح توصیه شده‌ی آنزیم بتا-ماناناز توسط شرکت تولید

1- Million units

2- Cervical dislocation-

3- Meckel diverticulum

4- Tryptic Soy Agar

5- Colony Forming Unit

چاهک هر یک از ردیف‌های هشت‌گانه میکروپلیت افزوده شد (هر میکروپلیت برای ۸ نمونه سرم پرنده قابل استفاده می‌باشد) و با استفاده از میکروپیت سری رقت با عامل رقت ۰/۵ تهیه شد. بدین ترتیب که پس از چند بار مخلوط کردن سرم و بافر در اولین چاهک هر ردیف، مقدار ۲۵ میکرولیتر از مخلوط به چاهک بعدی منتقل و این عمل تا چاهک ۱۱ ادامه یافت و سپس از چاهک ۱۱، ۲۵ میکرولیتر از مخلوط بیرون ریخته شد تا کلیه چاهک‌ها ۲۵ میکرولیتر مخلوط سرم و بافر داشته باشند. در میکروپلیت یک ردیف (ردیف چاهک‌های شماره ۱۲) به‌عنوان شاهد گلبول قرمز در نظر گرفته می‌شود و بدین ترتیب چاهک شماره ۱۲ برای هر نمونه به عنوان شاهد گلبول قرمز در نظر گرفته شد و به آن سرم اضافه نشد. پس از پایان این عمل به تمام چاهک‌ها از شماره ۱ تا شماره ۱۲ مقدار ۲۵ میکرولیتر سوسپانسیون بافر ۲ درصد گلبول قرمز گوسفند در محلول بافر فسفات به‌عنوان آنتی ژن افزوده شد، سپس میکروپلیت‌های حاوی نمونه به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از سپری شدن این مدت لگاریتم در مبنای ۲ معکوس آخرین رقتی که در آن هم‌گلو‌تیناسیون دیده می‌شد به‌عنوان عیار آنتی بادی ثبت شد. داده‌ها با استفاده از روش خطی عمومی (GLM) و با نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۲۶). میانگین تیمارها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ درصد مقایسه شدند (۴). مدل آماری طرح مورد استفاده به صورت زیر می‌باشد.

$$Y_{ijk} = \mu + R_k + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = مقدار هر مشاهده

$\mu$  = میانگین جامعه

$R_k$  = اثر بلوک

$A_i$  = سطح کنجاله گوار

$B_j$  = سطح آنزیم

$(AB)_{ij}$  = اثر متقابل سطح کنجاله گوار و آنزیم

$e_{ijk}$  = اثر خطای آزمایش

دور در دقیقه قرار گرفت (۳۰)، تا پلاسمای آن از گلبول‌های قرمز جدا شده و بعد از جداسازی پلاسمای خون هر یک از نمونه‌های پلاسما به لوله‌های آزمایش مخصوص انتقال داده شد. پس از آن نمونه‌های موجود در زمان مشخص در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز شدند و بعد از آن فراسنجه‌های خونی از قبیل گلوکز، تری‌گلیسرید، کلسترول، VLDL، LDL و HDL توسط کیت‌های تجاری شرکت زیست شیمی و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر و روابط موجود تعیین شده است. برای تعیین عیار آنتی بادی (پاسخ ایمنی) در سن ۳۵ روزگی از هر یک از تیمارها، ۴ پرنده که از هر بلوک یک پرنده مربوط به آن تیمار بود انتخاب و مقدار یک میلی‌لیتر گلبول قرمز گوسفند (SRBC) به عنوان آنتی ژن با رقت ۵ درصد به وسیله سرنک‌های استریل انسولین در عضله ناحیه سینه تزریق شد و پس از ۷ روز یعنی در سن ۴۱ روزگی از پرندگان فوق توسط سرنک‌های استریل از ناحیه ورید بال خون‌گیری به عمل آمده و برای تعیین عیار پادتن تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفند از روش هم‌گلو‌تیناسیون استفاده شده است (۷). سرنک‌های محتوی نمونه‌های خون گرفته شده در زاویه ۴۵ درجه قرار داده شده تا منعقد شوند، سپس نمونه به دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شده است و سپس خون کامل به داخل لوله‌های استریل منتقل و اقدام به سانتریفیوژ نموده و این سانتریفیوژ در دور ۱۸۰۰ و به مدت ۳ دقیقه انجام شد و سپس سرم‌های سانتریفیوژ شده را به ویال استریل منتقل و نهایتاً نمونه‌های سرم آزمایش (۲۴ نمونه) به داخل یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه‌های سرم از داخل یخچال خارج شده تا به دمای محیط آزمایشگاه ۲۵ درجه سانتی‌گراد رسید، همین‌طور قبل از شروع کار نمونه‌های سرم جهت خنثی شدن سیستم کمپلمان و عدم تداخل آن با پادتن ضد گلبول قرمز گوسفند به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۵ تا ۵۶ درجه سانتی‌گراد گرمخانه قرار داده شد، سپس یک میکروپلیت سرولوژی u شکل ۹۶ خانه (چاهک یا گوده) گرفته و به کلیه چاهک‌های آن مقدار ۲۵ میکرولیتر محلول بافر فسفات افزوده شد. سپس از هر نمونه سرم (سرم‌های واحدهای آزمایشی) مقدار ۲۵ میکرولیتر به اولین

جدول ۱- درصد مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در دوره رشد (۲۸-۱۱ روزگی)

| اجزاء جیره (درصد)              | ۱     | ۲     | ۳ تیمارها | ۴     | ۵     | ۶     |
|--------------------------------|-------|-------|-----------|-------|-------|-------|
| ذرت                            | ۵۹/۳۴ | ۵۹/۳۴ | ۵۹/۹۱     | ۵۹/۹۱ | ۵۶/۸۷ | ۵۶/۸۷ |
| کنجاله سویا                    | ۳۰/۹۷ | ۳۰/۹۷ | ۲۶/۶۲     | ۲۶/۶۲ | ۲۵/۴۳ | ۲۵/۴۳ |
| کنجاله گوار                    | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  | ۵/۰۰      | ۵/۰۰  | ۱۰/۰۰ | ۱۰/۰۰ |
| پودر ضایعات کشتارگاهی          | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰      | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  |
| اسید چرب                       | ۱/۷۸  | ۱/۷۸  | ۰/۵۲      | ۰/۵۲  | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  |
| زنولیت                         | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰      | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  |
| مونوکلسیم فسفات                | ۱/۵۹  | ۱/۵۹  | ۱/۶۳      | ۱/۶۳  | ۱/۳۱  | ۱/۳۱  |
| صدف                            | ۰/۸۴  | ۰/۸۴  | ۰/۸۹      | ۰/۸۹  | ۰/۹۰  | ۰/۹۰  |
| دی ال-متیونین                  | ۰/۲۹  | ۰/۲۹  | ۰/۲۹      | ۰/۲۹  | ۰/۲۹  | ۰/۲۹  |
| ال-لیزین                       | ۰/۲۱  | ۰/۲۱  | ۰/۲۱      | ۰/۲۱  | ۰/۱۰  | ۰/۱۰  |
| ال-ترئونین                     | ۰/۰۴  | ۰/۰۴  | ۰/۰۴      | ۰/۰۴  | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  |
| پرمیکس ویتامینه و مواد معدنی   | ۰/۵۰  | ۰/۵۰  | ۰/۵۰      | ۰/۵۰  | ۰/۵۰  | ۰/۵۰  |
| نمک                            | ۰/۳۱  | ۰/۳۱  | ۰/۳۱      | ۰/۳۱  | ۰/۳۱  | ۰/۳۱  |
| بیکربنات سدیم                  | ۰/۰۸  | ۰/۰۸  | ۰/۰۸      | ۰/۰۸  | ۰/۰۸  | ۰/۰۸  |
| فرماکسین گلد                   | ۰/۱۰  | ۰/۱۰  | ۰/۱۰      | ۰/۱۰  | ۰/۱۰  | ۰/۱۰  |
| آویلامایسین                    | ۰/۰۱  | ۰/۰۱  | ۰/۰۱      | ۰/۰۱  | ۰/۰۱  | ۰/۰۱  |
| سالنومایسین                    | ۰/۰۵  | ۰/۰۵  | ۰/۰۵      | ۰/۰۵  | ۰/۰۵  | ۰/۰۵  |
| آنزیم همی سل                   | ۰/۰۰  | ۰/۰۵  | ۰/۰۰      | ۰/۰۵  | ۰/۰۰  | ۰/۰۵  |
| آنالیز شیمیایی جیره            |       |       |           |       |       |       |
| انرژی قابل متابولیسم (Kcal/Kg) | ۳۰۰۰  | ۳۰۰۰  | ۳۰۰۰      | ۳۰۰۰  | ۳۰۰۰  | ۳۰۰۰  |
| پروتئین خام (درصد)             | ۲۰/۳۸ | ۲۰/۳۸ | ۲۰/۳۸     | ۲۰/۳۸ | ۲۰/۳۸ | ۲۰/۳۸ |
| کلسیم (درصد)                   | ۰/۸۷  | ۰/۸۷  | ۰/۸۷      | ۰/۸۷  | ۰/۸۷  | ۰/۸۷  |
| فسفر قابل دسترس (درصد)         | ۰/۴۳  | ۰/۴۳  | ۰/۴۳      | ۰/۴۳  | ۰/۴۳  | ۰/۴۳  |
| سدیم (درصد)                    | ۰/۱۶  | ۰/۱۶  | ۰/۱۶      | ۰/۱۶  | ۰/۱۶  | ۰/۱۶  |
| آرژنین (درصد)                  | ۱/۳۰  | ۱/۳۰  | ۱/۵۱      | ۱/۵۱  | ۱/۸۲  | ۱/۸۲  |
| لیزین (درصد)                   | ۱/۱۸  | ۱/۱۸  | ۱/۱۸      | ۱/۱۸  | ۱/۱۸  | ۱/۱۸  |
| متیونین (درصد)                 | ۰/۵۷  | ۰/۵۷  | ۰/۵۷      | ۰/۵۷  | ۰/۵۷  | ۰/۵۷  |
| متیونین+سیستین (درصد)          | ۰/۹۹  | ۰/۹۹  | ۰/۹۹      | ۰/۹۹  | ۰/۹۹  | ۰/۹۹  |
| ترئونین (درصد)                 | ۰/۷۹  | ۰/۷۹  | ۰/۷۹      | ۰/۷۹  | ۰/۷۹  | ۰/۷۹  |

۱- جیره فاقد کنجاله گوار و فاقد آنزیم بتا-ماناناز (تیمار شاهد)، ۲- جیره فاقد کنجاله گوار با افزودن آنزیم بتا-ماناناز، ۳- جیره دارای ۵ درصد کنجاله گوار و فاقد آنزیم بتا-ماناناز، ۴- جیره دارای ۵ درصد کنجاله گوار با افزودن آنزیم بتا-ماناناز، ۵- جیره دارای ۱۰ درصد کنجاله گوار و فاقد آنزیم بتا-ماناناز، ۶- جیره دارای ۱۰ درصد کنجاله گوار با افزودن آنزیم بتا-ماناناز

\*: مکمل ویتامینه و معدنی استفاده شده در این تحقیق در هر کیلوگرم جیره حاوی: ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۳۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۲۳ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۳ میلی‌گرم ویتامین B<sub>1</sub>، ۲ میلی‌گرم ویتامین B<sub>2</sub>، ۲/۹ میلی‌گرم ویتامین B<sub>6</sub>، ۰/۰۲ میلی‌گرم ویتامین B<sub>12</sub>، ۴۵ میلی‌گرم نیاسین، ۲۰ میلی‌گرم ویتامین اسید پانتوتنیک، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین اسید فولیک، ۴۰۰ میلی‌گرم کلرید، ۰/۱۵ میلی‌گرم بیوتین، ۷۵ میلی‌گرم منگنز، ۶۵ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۲ میلی‌گرم مس، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم و ۰/۹ میلی‌گرم ید.

جدول ۲- درصد مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در دوره پایانی (۲۹-۴۲ روزگی)  
Table 2. Percentage of feed and chemical composition of experimental diets during finisher period (29-42 d)

| اجزاء جیره (درصد)              | ۱     | ۲     | ۳     | ۴     | ۵     | ۶     |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| ذرت                            | ۶۱/۵۵ | ۶۱/۵۵ | ۶۲/۳۵ | ۶۲/۳۵ | ۶۰/۵۵ | ۶۰/۵۵ |
| کنجاله سویا                    | ۲۸/۲۳ | ۲۸/۲۳ | ۲۳/۸۷ | ۲۳/۸۷ | ۲۱/۶۹ | ۲۱/۶۹ |
| کنجاله گوار                    | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  | ۵/۰۰  | ۵/۰۰  | ۱۰/۰۰ | ۱۰/۰۰ |
| پودر ضایعات کشتارگاهی          | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  |
| اسید چرب                       | ۲/۸۱  | ۲/۸۱  | ۱/۵۱  | ۱/۵۱  | ۰/۷۱  | ۰/۷۱  |
| زنولیت                         | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  | ۲/۰۰  |
| مونوکلسیم فسفات                | ۱/۰۴  | ۱/۰۴  | ۱/۰۳  | ۱/۰۳  | ۱/۰۱  | ۱/۰۱  |
| صدف                            | ۰/۸۲  | ۰/۸۲  | ۰/۸۵  | ۰/۸۵  | ۰/۸۷  | ۰/۸۷  |
| دی ال-متیونین                  | ۰/۲۷  | ۰/۲۷  | ۰/۲۷  | ۰/۲۷  | ۰/۲۷  | ۰/۲۷  |
| ال-لیزین                       | ۰/۱۸  | ۰/۱۸  | ۰/۱۸  | ۰/۱۸  | ۰/۱۱  | ۰/۱۱  |
| ال-ترئونین                     | ۰/۰۴  | ۰/۰۴  | ۰/۰۳  | ۰/۰۳  | ۰/۰۰  | ۰/۰۰  |
| *پریمیکس ویتامینه و مواد معدنی | ۰/۵۰  | ۰/۵۰  | ۰/۵۰  | ۰/۵۰  | ۰/۵۰  | ۰/۵۰  |
| نمک                            | ۰/۲۹  | ۰/۲۹  | ۰/۳۱  | ۰/۳۱  | ۰/۳۱  | ۰/۳۱  |
| بیکربنات سدیم                  | ۰/۱۲  | ۰/۱۲  | ۰/۰۹  | ۰/۰۹  | ۰/۰۹  | ۰/۰۹  |
| فرمایسین کلد                   | ۰/۱۰  | ۰/۱۰  | ۰/۱۰  | ۰/۱۰  | ۰/۱۰  | ۰/۱۰  |
| آویلامایسین                    | ۰/۰۱  | ۰/۰۱  | ۰/۰۱  | ۰/۰۱  | ۰/۰۱  | ۰/۰۱  |
| سالیونمایسین                   | ۰/۰۵  | ۰/۰۵  | ۰/۰۵  | ۰/۰۵  | ۰/۰۵  | ۰/۰۵  |
| آنزیم همی سل                   | ۰/۰۰  | ۰/۰۵  | ۰/۰۰  | ۰/۰۵  | ۰/۰۰  | ۰/۰۵  |
| آنالیز شیمیایی جیره            | ۳۱۰۰  | ۳۱۰۰  | ۳۱۰۰  | ۳۱۰۰  | ۳۱۰۰  | ۳۱۰۰  |
| انرژی قابل متابولیسم (Kcal/Kg) | ۱۸/۳۱ | ۱۸/۳۱ | ۱۸/۳۱ | ۱۸/۳۱ | ۱۸/۳۱ | ۱۸/۳۱ |
| پروتئین خام (درصد)             | ۰/۸۷  | ۰/۸۷  | ۰/۸۷  | ۰/۸۷  | ۰/۸۷  | ۰/۸۷  |
| کلسیم (درصد)                   | ۰/۴۲  | ۰/۴۲  | ۰/۴۲  | ۰/۴۲  | ۰/۴۲  | ۰/۴۲  |
| فسفر قابل دسترس (درصد)         | ۰/۱۶  | ۰/۱۶  | ۰/۱۶  | ۰/۱۶  | ۰/۱۶  | ۰/۱۶  |
| سدیم (درصد)                    | ۱/۲۲  | ۱/۲۲  | ۱/۴۳  | ۱/۴۳  | ۱/۷۱  | ۱/۷۱  |
| آرژنین (درصد)                  | ۱/۰۹  | ۱/۰۹  | ۱/۰۹  | ۱/۰۹  | ۱/۰۹  | ۱/۰۹  |
| لیزین (درصد)                   | ۰/۵۴  | ۰/۵۴  | ۰/۵۴  | ۰/۵۴  | ۰/۵۴  | ۰/۵۴  |
| متیونین (درصد)                 | ۰/۹۹  | ۰/۹۹  | ۰/۹۹  | ۰/۹۹  | ۰/۹۹  | ۰/۹۹  |
| متیونین+سیستین (درصد)          | ۰/۷۴  | ۰/۷۴  | ۰/۷۴  | ۰/۷۴  | ۰/۷۴  | ۰/۷۴  |
| ترئونین (درصد)                 |       |       |       |       |       |       |

۱- جیره فاقد کنجاله گوار و فاقد آنزیم بتا-ماناناز (تیمار شاهد)، ۲- جیره فاقد کنجاله گوار با افزودن آنزیم بتا-ماناناز، ۳- جیره دارای ۵ درصد کنجاله گوار و فاقد آنزیم بتا-ماناناز، ۴- جیره دارای ۵ درصد کنجاله گوار با افزودن آنزیم بتا-ماناناز، ۵- جیره دارای ۱۰ درصد کنجاله گوار و فاقد آنزیم بتا-ماناناز، ۶- جیره دارای ۱۰ درصد کنجاله گوار با افزودن آنزیم بتا-ماناناز

\*: مکمل ویتامینه و معدنی استفاده شده در این تحقیق در هر کیلوگرم جیره حاوی: ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۳۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D<sub>3</sub>، ۲۳ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۳ میلی‌گرم ویتامین k، ۲ میلی‌گرم ویتامین B<sub>1</sub>، ۴ میلی‌گرم ویتامین B<sub>2</sub>، ۲/۹ میلی‌گرم ویتامین B<sub>6</sub>، ۰/۰۲ میلی‌گرم ویتامین B<sub>12</sub>، ۴۵ میلی‌گرم نیاسین، ۲۰ میلی‌گرم ویتامین اسید پانتوتیک، ۲/۵ میلی‌گرم ویتامین اسید فولیک، ۴۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۰/۱۵ میلی‌گرم بیوتین، ۷۵ میلی‌گرم منگنز، ۶۵ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰ میلی‌گرم روی، ۱۲ میلی‌گرم مس، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم و ۰/۹ میلی‌گرم ید.

## نتایج و بحث

### جمعیت میکروبی ایلئوم

آنزیمی به‌طور معنی‌داری میزان سالمونلا اینتریدیدیس را در چینه‌دان، کبد، طحال، تخمدان، ایدوکت، سکوم و محتویات سکوم کاهش داد. گالاتکومانان (صمغ گوار) باقی‌مانده در کنجاله گوار دارای پیوندهای بتا-۱-۴ گلیکوزید است که توسط حیوان و انسان غیر قابل هضم می‌باشد اما به خوبی توسط میکروب‌های موجود در دستگاه گوارش تخمیر می‌شود که در نتیجه مقادیر زیادی از اسیدهای چرب کوتاه زنجیر تولید می‌شود که باعث کاهش میزان PH مجرای گوارشی شده و بدین ترتیب از رشد و تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کند. قابلیت تخمیر صمغ گوار و تاثیرات فیزیولوژیکی مفید آن در انسان و حیوان در بررسی‌ها به‌عنوان پری بیوتیک معرفی شده است (۳۲). کیم و همکاران (۱۶) گزارش کردند که مانان الیگوساکارید و فروکتو الیگوساکارید جمعیت اشریشاکلی و کلستریدیوم پرفرینجنز را کاهش و جمعیت لاکتوباسیل ها را افزایش می‌دهد. اسپرینگ و همکاران (۲۸) گزارش کردند مانان-اولیگوساکارید جیره‌ای که از هیدرولیز صمغ گوار حاصل می‌شود تعداد بیفیدو باکتری‌ها و لاکتو باسیلوس‌های سکوم را افزایش، اما تعداد انتروباکتری‌ها

همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، در اثرات اصلی سطوح کنجاله گوار تاثیر معنی‌داری بر جمعیت باکتری‌های بی‌هوازی و ای-کولای داشت، به‌طوری‌که افزایش کنجاله گوار تا سطح ۱۰ درصد باعث کاهش باکتری‌های بی‌هوازی و ای-کولای شد. اما سطوح مکمل آنزیمی تاثیر معنی‌داری بر جمعیت باکتری‌های بی‌هوازی و ای-کولای نداشت. با توجه به جدول ۳ باکتری‌های بی‌هوازی و ای-کولای تحت تاثیر متقابل کنجاله گوار و مکمل آنزیمی قرار گرفتند، به نحوی که کمترین تعداد باکتری‌های بی‌هوازی و ای-کولای مربوط به استفاده از سطح ۱۰ درصد کنجاله گوار حاوی مکمل آنزیمی و بیشترین تعداد مربوط به استفاده از سطح صفر درصد کنجاله گوار فاقد مکمل آنزیمی بود ( $P < 0.05$ ). بسیاری از گزارش‌ها عملکرد پری بیوتیکی صمغ گوار و مولکول‌های کوچکتر حاصل از هیدرولیز آنزیمی صمغ گوار را نشان دادند (۳۲). زانگ (۳۲) گزارش کرد استفاده از ۲۰ درصد کنجاله گوار در جیره با و بدون مکمل

گرم فضولات شد و از اسهال خونی نیز جلوگیری نمود. قابل ذکر است بررسی‌های انجام شده نشان دادند که ساپونین موجود در کنجاله گوار هم دارای فعالیت‌های ضد باکتری، ضدپروتوزوا و ضد قارچی می‌باشد (۱۰۹). محققین معتقدند مکمل آنزیمی همی‌سل باعث تجزیه بخشی از صمغ گوار باقی‌مانده (گالاتومانان) موجود در کنجاله گوار شده و باعث تولید مانان الیگوساکاریدها می‌شوند که این ترکیب می‌تواند نقش پری بیوتیک‌ها را ایفا نموده و جمعیت میکروبی ایلئوم پرندگان را بهبود بخشد (۳۲). نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از ۱۰ درصد کنجاله گوار در جیره‌ی با مکمل آنزیم بتا-ماناناز به مقدار ۰/۰۵ درصد باعث کاهش جمعیت میکروارگانسیم‌های مضر شد.

و انتروکوکوس‌ها را کاهش داد و همچنین باعث کاهش حساسیت در تشکیل کلونی توسط سالمونلا اینتریتیدیس در جوجه‌های جوان شد. ایشی هارا و همکاران (۱۳) گزارش کردند که پولت‌ها و مرغ‌های تخم‌گذار با مصرف صمغ گوار هیدرولیز شده به طور جزئی، با یک هم‌زمانی افزایش در دفع سالمونلا اینتریتیدیس داخل فضولات، و کاهش بروز تشکیل کلونی سالمونلا اینتریتیدیس در اندام‌ها و مجرای دستگاه گوارش داشتند. به‌طور مشابه گوتیرز و همکاران (۸) وقتی که از صمغ گوار به‌طور جزئی هیدرولیز شده، در جیره مرغ‌های تخم‌گذار استفاده کردند، کاهش بروز سالمونلا اینتریتیدیس در ترکیبات تخم مرغ را گزارش کردند. حسن و همکاران (۱۰) گزارش دادند که به‌کارگیری ۵ درصد کنجاله گوار در جیره جوجه‌ها علیه ایمریاتنلا باعث کاهش اووسیت در هر

جدول ۳- اثرات اصلی و متقابل سطوح مختلف کنجاله گوار و آنزیم بر جمعیت میکروارگانسیم‌های ایلئوم در جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی\* (Log<sub>10</sub> CFU)

| اثرات اصلی                    | باکتری‌های هوازی | باکتری‌های بی‌هوازی | باکتری‌های ای-کولای |
|-------------------------------|------------------|---------------------|---------------------|
| G <sub>1</sub>                | ۶/۴۴             | ۶/۳۹                | ۳/۳۴                |
| G <sub>2</sub>                | ۶/۴۰             | ۶/۲۸                | ۳/۲۲                |
| G <sub>3</sub>                | ۶/۰۴             | ۵/۷۹                | ۲/۸۶                |
| SEM                           | ۰/۱۷             | ۰/۱۵                | ۰/۱۵                |
| P-value                       | ۰/۲۵۰            | ۰/۰۴۴               | ۰/۰۲۳               |
| B <sub>1</sub>                | ۶/۴۱             | ۶/۲۷                | ۳/۲۶                |
| B <sub>2</sub>                | ۶/۱۸             | ۶/۰۴                | ۳/۰۲                |
| SEM                           | ۰/۱۴             | ۰/۱۲                | ۰/۱۲                |
| P-value                       | ۰/۲۲۵            | ۰/۲۱۳               | ۰/۱۹۸               |
| اثرات متقابل                  |                  |                     |                     |
| G <sub>1</sub> B <sub>1</sub> | ۶/۵۵             | ۶/۴۵                | ۳/۳۸                |
| G <sub>1</sub> B <sub>2</sub> | ۶/۳۴             | ۶/۳۴                | ۳/۲۹                |
| G <sub>2</sub> B <sub>1</sub> | ۶/۵۴             | ۶/۳۷                | ۳/۲۹                |
| G <sub>2</sub> B <sub>2</sub> | ۶/۲۶             | ۶/۲۰                | ۳/۱۵                |
| G <sub>3</sub> B <sub>1</sub> | ۶/۱۴             | ۶/۰۲                | ۳/۱۱                |
| G <sub>3</sub> B <sub>2</sub> | ۵/۹۴             | ۵/۵۷                | ۲/۶۱                |
| SEM                           | ۰/۲۴             | ۰/۲۲                | ۰/۲۱                |
| P-value                       | ۰/۳۶۲            | ۰/۰۳۴               | ۰/۰۲۱               |

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵). به ترتیب سطوح صفر، ۵ و ۱۰ درصد کنجاله گوار G<sub>1</sub>، G<sub>2</sub> و G<sub>3</sub> به ترتیب سطوح صفر و ۰/۰۵ درصد آنزیم بتا-ماناناز B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub>\* واحد تشکیل کلنی، بر مبنای لگاریتم ۱۰

### شاخص ایمنی

با توجه به جدول ۴ تیترا آنتی بادی پرندگان در اثرات اصلی و متقابل تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. اوزپاینار و همکاران (۲۲) با بررسی تأثیر مکمل مانان اولیگوساکاریدها (در اثر تجزیه گالاتومانان‌ها توسط آنزیم حاصل می‌شود) بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی گزارش کردند استفاده از مانان اولیگوساکاریدها تأثیر معنی‌داری روی بهبود سیستم ایمنی نداشت. مهری و همکاران (۲۱) گزارش کردند افزودن بتا-ماناناز به مقدار ۷۰۰ و ۹۰۰ گرم در تن در جیره جوجه‌های گوشتی سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی را بهبود بخشید. کوثر و همکاران (۳) و شهباشیدها (۷) گزارش کردند مکمل مانان الیگوساکاریدها جیره‌ای باعث بهبود پاسخ تیترا آنتی بادی در جوجه‌های تخم‌گذار تجاری و مادرگوشتی شد. گوارگام (صمغ گوار)، به عنوان یک پلی‌ساکارید (گالاتومانان) نیز می‌تواند فعالیت‌های ماکروفاژی را افزایش دهد. نشان داده شده است الیگوساکارید مانان که از هیدرولیز

جزیی صمغ گوار ایجاد می‌شود تیترا آنتی بادی را در مرغ‌های مادر گوشتی افزایش داد که این افزایش می‌تواند ناشی از تأثیر الیگوساکارید مانان بر سیستم ایمنی و یا بهبود جذب روده‌ای و همین‌طور جذب موادی مانند مس، روی و سلنیوم باشد (۲۷). نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن ۰/۰۵ درصد مکمل آنزیمی به جیره غذایی تأثیر معنی‌داری روی تیترا آنتی بادی نداشت. زئو و همکاران (۳۳) گزارش دادند افزودن مکمل آنزیمی همی سل (بتا-ماناناز) در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری روی غلظت IgA، IgG سرم نداشت، اما به‌طور معنی‌داری غلظت IgM سرم را در سن ۳ و ۶ هفتگی و نیز تکثیر لنفوسیت T را در سن ۶ هفتگی به طور معنی‌داری بهبود داد. وئو و همکاران (۳۱) گزارش کردند که بتا-مانان موجود در خوراک پس از ورود به مجرای دستگاه گوارش به عنوان سوبسترای آنزیم همی سل عمل کرده و در نتیجه سبب افزایش تحریک ایمنی ذاتی می‌شود، یک دلیل ممکن از اینکه چرا آنزیم بتا-ماناناز (همی‌سل)

می‌تواند سیستم ایمنی را بهبود ببخشد این است که بتا-مانان موجود در خوراک به مانان-اولیگوساکارید تجزیه می‌شود (۳۲). هانگ و همکاران (۱۱) نیز گزارش کردند که بتا-ماناناز، بتا-مانان موجود در کنجاله سویا را به مانان-اولیگوساکارید تجزیه می‌کند، مانان-اولیگوساکارید می‌تواند در سیستم ایمنی موثر باشد.

جدول ۴- اثرات اصلی و متقابل سطوح مختلف کنجاله گوار و آنزیم بر فراسنجه‌های خونی (میلی گرم در دسی لیتر) و ایمنی در پایان آزمایش  
Table 4. The main and interaction effects of different levels of guar meal and Hemicell enzyme on of broiler chicks

| اثرات اصلی                    | گلوکز  | تری گلیسرید | کلسترول | HDL   | VLDL  | LDL   | تیترا آنتی بادی (log2) |
|-------------------------------|--------|-------------|---------|-------|-------|-------|------------------------|
| G <sub>1</sub>                | ۲۰۲/۸۷ | ۹۰/۷۹       | ۱۲۵/۶۴  | ۵۸/۱۲ | ۱۸/۱۶ | ۴۹/۳۶ | ۴/۱۷                   |
| G <sub>2</sub>                | ۱۹۸/۹۶ | ۸۹/۶۲       | ۱۲۳/۶۸  | ۵۹/۰۱ | ۱۷/۹۲ | ۴۶/۷۶ | ۴/۳۳                   |
| G <sub>3</sub>                | ۱۹۶/۸۴ | ۸۷/۶۰       | ۱۲۲/۴۱  | ۵۹/۸۹ | ۱۷/۵۲ | ۴۵/۰۰ | ۴/۵۴                   |
| SEM                           | ۲/۹۳   | ۱/۷۶        | ۱/۴۰    | ۲/۷   | ۰/۳۵  | ۲/۱۷  | ۰/۳۴                   |
| P-value                       | ۰/۸۰   | ۰/۶۸        | ۰/۴۵    | ۰/۱۷  | ۰/۶۵  | ۰/۲۶  | ۰/۱۸                   |
| B <sub>1</sub>                | ۱۹۸/۵۹ | ۸۸/۸۹       | ۱۲۳/۲۸  | ۵۹/۹۰ | ۱۷/۷۸ | ۴۵/۶۰ | ۴/۲۵                   |
| B <sub>2</sub>                | ۲۰۰/۵۳ | ۸۹/۷۷       | ۱۲۴/۵۵  | ۵۸/۱۱ | ۱۷/۹۵ | ۴۸/۴۸ | ۴/۴۴                   |
| SEM                           | ۲/۳۹   | ۱/۴۴        | ۱/۱۴    | ۲/۲۶  | ۰/۲۹  | ۲/۵۹  | ۰/۲۸                   |
| P-value                       | ۰/۳۵   | ۰/۷۵        | ۰/۴۰    | ۰/۲۲  | ۰/۶۰  | ۰/۲۰  | ۰/۱۳                   |
| اثرات متقابل                  |        |             |         |       |       |       |                        |
| G <sub>1</sub> B <sub>1</sub> | ۲۰۲/۰۸ | ۹۰/۳۶       | ۱۲۵/۵۷  | ۵۷/۷۷ | ۱۸/۰۷ | ۴۹/۷۳ | ۴/۰۸                   |
| G <sub>1</sub> B <sub>2</sub> | ۲۰۳/۶۵ | ۹۱/۲۱       | ۱۲۵/۷۱  | ۵۸/۴۸ | ۱۸/۲۴ | ۴۸/۹۹ | ۴/۲۵                   |
| G <sub>2</sub> B <sub>1</sub> | ۱۹۷/۵۳ | ۸۹/۳۳       | ۱۲۲/۹۴  | ۶۰/۱۹ | ۱۷/۸۷ | ۴۴/۹۰ | ۴/۲۵                   |
| G <sub>2</sub> B <sub>2</sub> | ۲۰۰/۳۹ | ۸۹/۹۱       | ۱۲۴/۴۲  | ۵۷/۸۲ | ۱۷/۹۸ | ۴۸/۶۲ | ۴/۴۱                   |
| G <sub>3</sub> B <sub>1</sub> | ۱۹۶/۱۵ | ۸۷/۰۰       | ۱۲۱/۳۲  | ۶۱/۷۵ | ۱۷/۴۰ | ۴۲/۱۷ | ۴/۴۱                   |
| G <sub>3</sub> B <sub>2</sub> | ۱۹۷/۵۳ | ۸۸/۱۹       | ۱۲۳/۵۱  | ۵۸/۰۳ | ۱۷/۴۰ | ۴۷/۸۴ | ۴/۶۷                   |
| SEM                           | ۴/۱۴   | ۲/۴۹        | ۱/۹۸    | ۳/۹۱  | ۰/۴۹  | ۴/۴۸  | ۰/۴۸                   |
| P-value                       | ۰/۷۴   | ۰/۶۰        | ۰/۶۲    | ۰/۳۳  | ۰/۴۹  | ۰/۲۸  | ۰/۱۹                   |

G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> و G<sub>3</sub> به ترتیب سطوح صفر، ۵ و ۱۰ درصد کنجاله گوار  
B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> به ترتیب سطوح صفر و ۰/۵ درصد آنزیم بتا-ماناناز

## فراسنجه‌های خونی

با توجه به جدول ۴ فراسنجه‌های خونی در اثرات اصلی و متقابل تحت تاثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفت. ترکیب اصلی صمغ موجود در کنجاله گوار یک پلی ساکارید محلول در آب (NSP) بنام گالاکتومانان می‌باشد، که مقدار آن بستگی به نوع فراوری کنجاله دارد (۱۴،۲)، این ترکیبات به عنوان NSPهای محلول باعث افزایش چسبندگی روده‌ای می‌شوند (۳۱،۱۸)، محققان زیادی تاثیر صمغ گوار (گوارگام) را روی فراسنجه‌های خونی انسان، موش و طیور بررسی کردند و گزارش کردند که صمغ گوار باعث کاهش فراسنجه های خونی به ویژه کلسترول پلاسما و کبد می‌شود. این محققان دلیل کاهش کلسترول و دیگر فراسنجه‌های خونی را این طور بیان کردند که صمغ گوار به‌عنوان NSP محلول به دلیل تشکیل چسبندگی در محتویات روده و کاهش حرکات روده‌ای، مخلوط شدن شیرابه هضمی را با ترشحات پانکراس و صفرا کاهش می‌دهند، زیرا امولسیونه شدن اسیدهای چرب اشباع و تشکیل میسل را با مشکل مواجه می‌کند، و در نتیجه منجر به افزایش دفع اسیدهای صفراوی و همین‌طور کاهش باز جذب آن می‌شوند که در نتیجه آن کلسترول بیشتری جهت سنتز اسیدهای صفراوی مصرف شده و کلسترول خون کاهش می‌یابد (۲۴،۱۸). مکمل نمودن آنزیم بتا-ماناناز به مقدار ۰/۵ درصد در جیره از نظر عددی باعث افزایش جزیی غلظت فراسنجه‌های خونی (گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول)

شد. جکسون و همکاران (۱۴) گزارش کردند مکمل آنزیم همی سل (بتا-ماناناز) و صمغ گوار تاثیر معنی‌داری روی سطوح هماتوکریت، فسفر، کلسیم، تری گلیسرید و گلوکز سرم نداشت، اما مکمل آنزیمی از نظر عددی باعث افزایش سطوح گلوکز، تری گلیسرید، کلسیم و فسفر شد. قابل ذکر است که استفاده از کنجاله گوار با آنزیم همی سل در جیره روی صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی معنی‌دار بود، بطوریکه استفاده از کنجاله گوار تا سطح ۱۰ درصد بدون افزودن آنزیم باعث کاهش صفات عملکردی، اما افزودن آنزیم همی سل به سطح ۱۰ درصد کنجاله گوار باعث بهبود عملکرد شد. استفاده از سطح ۵ درصد کنجاله گوار در جیره حتی بدون افزودن آنزیم هیچ محدودیتی بر عملکرد نداشت. داده‌های مربوط به صفات عملکردی در این مقاله گزارش نشده است.

نتایج کلی این تحقیق نشان داد که استفاده از ۱۰ درصد کنجاله گوار با مکمل آنزیم بتا-ماناناز در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی باعث کاهش باکتری‌های بی‌هوازی و ای کولای شده اما تأثیر معنی‌داری روی فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی نداشت.

## تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و واحد تحقیق و توسعه شرکت زربال آمل به جهت حمایت و پشتیبانی در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

## منابع

1. Abhijit, M., K.S. Samir, R. Subhasish and H. Sudipto. 2013. Effects of partial replacement of soybean meal with roasted guar korma and supplementation of mannanase on performance and carcass traits of commercial broiler chickens. *Veterinary World*, 6: 693-697.
2. Conner, S. 2002. Characterization of guar meal for use in poultry rations. Ph.D. Thesis, Texas A&M University, 6-7.
3. Cotter, P.F., A. Malzone, B. Paluch, M.S. Lilburn and A.E. Sefton. 2000. Modulation of humoral immunity in commercial laying hens by a dietary prebiotic. *Poultry Science*, 38-79.
4. Duncan, D.B. 1955. Multiple rang and multiple F tests. *Biomet*, 11: 1-20.
5. GAO, F., Y. Jiang, G.H. Zhou and Z.K. Han. 2007. The effects of Xylanase supplementation on performance, characteristics of the gastrointestinal tract, blood parameters and gut microflora in broilers fed on wheat- based diets. *Animal Feed Science Technology*, 142: 173-184.
6. Gheisari, A.A., M. Shavakhizavareh, M. Toghyani and R. Bahadoran. 2011. Application of incremental program, an effective way to optimize dietary inclusion rate of guar meal in broiler chicks. *Livestock Science*, 140: 117-123.
7. Grasman, K.A. 2010. *In vivo* functional test for assessing immunotoxicity in birds (Ed.), *Immunotoxicity testing: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology Humana Press, Product, 387-397.
8. Gutierrez, O., C. Zhang, D.J. Caldwell, J.B. Carey, A.L. Cartwright and C.A. Bailey. 2008. Guar meal diets as an alternative approach to inducing molt and improving *Salmonella* Enteritidis resistance in late-phase laying hens. *Journal of Poultry Science*, 87: 536-540.
9. Hassan, S.M. 2008. Antimicrobial activities of saponin rich guar meal extract. Ph.D. Thesis, Texas A&M University, 32-35.
10. Hassan, S.M., A.K. EL-Gayar, D.J. Cadwell, C.A. Bailey and A.L. Cartwright. 2008. Guar meal ameliorates *Eimeria tenella* infection in broiler chicks. *Veterinary Parasitology*, 157: 133-138.
11. Hassan, S.M., A.U. Haq, J.A. Byrd, M.A. Berhow, A.L. Cartwright and C.A. Baily. 2010. Haemolytic and antimicrobial activities of saponin rich extracts from guar meal. *Food Chemistry*, 119: 600-605.
12. Huang, X.W., X.S. Liu and F.Q. Xu. 2003. The effect of  $\beta$ -mannanase on growth performance of growing pigs. *Feed Research*, 29-31.
13. Ishihara, N., D.C. Chu, S. Akachi and L.R. Juneja. 2000. Preventive effect of partially hydrolyzed guar gum on infection of salmonella enteritidis in young and laying hens. *Poultry Science*, 79: 689-697.
14. Jackson, M.E., K. Geronian, A. Knox, J. McNab and E. McCartney. 2004. A dose-response study with the feed enzyme B-mannanase in broiler provided with corn-soybean meal based diets in the absence of antibiotic. *Poultry science*, 83: 1992-1996.
15. Kamran, M., N.P. Talat, M. Athar and A. Zulfiqar. 2002. Effect of commercial enzyme (Natugrain) supplementation on the nutritive value and inclusion rate of guar meal in broiler rations. *Poultry science*, 6: 167-173.
16. Kim, G.B., Y.M. Seo, C.H. Kim and I.K. Paik. 2011. Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers. *Poultry science*, 90: 75-82.
17. Knarreborg, A., M. A. Simon, R.M. Engberg, B.B. Jensen and G.W. Tannock. 2002. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. *Applied and environmental microbiology*, 68: 5919-5924.
18. Kuo, D.C., S.P. Hsu and C.T. Chien. 2009. Partially hydrolyzed guar gum supplement reduces high-fat diet increased blood lipids and oxidative stress and ameliorates FeCl<sub>3</sub>-induced acute arterial injury in hamsters. *Journal of Biomedical Science*, 16:15.
19. Lee, J.T., C.A. Bailey and A.L. Cartwright. 2009. *In vitro* viscosity as a function of guar meal and  $\beta$ -mannanase content of feeds. *International Journal of Poultry Science*, 8: 715-719.
20. Mathlouthi, N., M.A. Mohamed and M. Larbier. 2003. Effect of enzyme preparation containing xylanase and  $\beta$ -glucanase on performance of laying hens fed wheat/barely or maize/soybean meal-based diets. *British Poultry science*, 44: 62-66.
21. Mehri, M., M. Adibmoradi, A. Samie and M. Shivazad. 2010. Effects of  $\beta$ -mannanase on broiler performance, gut morphology and immune system. *African Journal of Biotechnology*, 9: 6221-6228.
22. Ozpinar, H., M. Erhard, F. Ahrens, C. Kutay and H. Eseceli. 2010. Effects of Vitamin E, Vitamin C and Mannan oligosacchride (Bio-Mos) supplements on performance and Immune System in broiler chicks. 2010. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9: 2647-2654.
23. Panda, A.K., S.V. Rama Rao and M.R. Reddy. 2008. Growth promoters in poultry: novel concepts, 134 pp.
24. Rideout, T.C., Z. Yuan, M. Bakovic, Q. Liu, R.K. Li, Y. Mine and M.Z. Fan. 2007. Guar gum consumption increases hepatic nuclear SREBP2 and LDL receptor expression in pigs fed atherogenic diets. *The Journal of Nutrition*, 137: 568-572.
25. Sallam, K.I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18: 566-575.

26. SAS Institute. 2001. SAS/STAT users Guide. Release 8.02 ed. SAS Institute Inc., Cary Nc. USA.
27. Shashidhara, R.G. and G. Devegowda. 2003. Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. *Poultry Science*, 82: 1319-1325.
28. Spring, P., C. Wenk, K.A. Dawson and K.E. Newman. 2000. The effect of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of bacteria in the ceca of *Salmonella* challenged broiler chicks. *Poultry Science*, 79: 205-211.
29. Warrand, J. 2006. Healthy polysaccharides the next chapter in food products. *Journal Food Technology Biotechnology*, 44: 355-370.
30. World Health Organisation. 2002. Manual on animal influenza diagnosis and surveillance. Geneva.
31. Wu, G., M.M. Bryant, R.A. Voitle and D.A. Roland. 2005. Effect of B-mannanase in corn-soy diets on commercial leghorns in second-cycle hens. *Poultry Science*, 84: 1261 -1267.
32. Zhang, C. 2004. Evaluation of guar meal as a source of prebiotic galactomannans for laying hens. Ph.D. Thesis, Texas A&M University, 13: 14-25.
33. Zou, X.T., X.J. Oiao and Z.R. Xu. 2006. Effect of B-mannanase (Hemicell) on growth performance and immunity of broilers. *Poultry Science*, 85: 2176-2179.

## Effect of Different Levels of Guar Meal With $\beta$ -mannanase Enzyme on Ileal Bacteria Population, Immune Response and Some Blood Parameters in Broiler Chickens

Hasan Nabipour Afrouzi<sup>1</sup>, Mansour Rezaei<sup>2</sup> and Vavid Taghizadeh<sup>3</sup>

1- Graduated M.Sc. Student, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University,

(Corresponding author: afroznab@yahoo.com)

2- Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

3- Research and Development Unit, Zarbal Co., Amol

Received: January 30, 2015

Accepted: May 11, 2016

### Abstract

This experiment was conducted to investigate effects of different levels of Guar meal (0, 5, and 10%) and  $\beta$ -mannanase enzyme (0 and 0/05 percent) on microbial flora in Ileal, immune response and some blood parameters in broiler chickens during grower and finisher stages in 2×3 factorial arrangement with a randomized complete block design. Three hundred sixty Ross 308 male broiler chicks with 6 treatments and 4 replicates, 15 chicks in each experimental unit reared for 42 days. To evaluate the bacterial population in Ileum 42 day-old birds were slaughtered by cervical dislocation and after opening abdominal cavity a portion of Ileum were investigated for bacterial population. To investigate immune response one ml of sheep red blood cells was injected intramuscular to the birds at 35 day-old and blood samples were taken from wing vein at 41 day-old. In order to determine blood parameters from each treatment 4 birds were selected and blood samples for determining some blood parameters transferred to the laboratory. The results of this experiment showed that the lowest anaerobic, *E.coli* population observed in birds fed 10% Guar meal with enzyme supplementation ( $P<0.05$ ), but feeding different levels of Guar meal and enzyme supplementation had no significant affect on immune response and blood parameters of broiler chickens. Geverally, the results of this experiment indicated that supplementation 10% Guar meal in diets with enzyme reduces anaerobic and *E. coli* bacteria, but had no affect on blood parameters and immune response in broiler chickens.

**Keywords:** Bacteria population, Blood parameters, Broiler, Guar meal, Immune response,  $\beta$ -mannanase enzyme