Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 15, Issue 3, 2024 p: 96-107

OPEN ACCESS

Research Paper

Effect of Phytase Enzyme and Diet Type based on Corn or Wheat on Physical Pellet Quality, Growth Performance, Intestinal Morphology and Tibia Characteristics in Broiler Chicks

Mojgan Salmanian[1], Mahmoud Shams Shargh[2], Ahad Yamchi[3] and Mohammad Hossein Mohammadi Ghasem Abadi[4]

1- Ph. D. In Poultry Nutrition, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran
2- Associate Professor, Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran, (Corresponding author: m_shams196 @yahoo.com)
3- Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran
4- Ph. D. In Poultry Nutrition, Faculty of Animal Science, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 29 January, 2024 Accepted: 7 May, 2024

Extended Abstract

Background: It is very important to choose the right host for the production of phytase enzyme. Commercial phytase enzymes are produced in bacterial and fungal hosts that can be contaminated with toxic host metabolites. Therefore, to solve this problem, it is recommended to use probiotics as a host. Yeast Saccharomyces boulardi probiotic is a non-pathogenic yeast that does not have the ability to permanently settle in the intestine. The aim of this study was to investigate the effects of two types of commercial phytase (histidine phosphatase group) and recombinant phytase enzymes obtained from Saccharomyces boulardi yeast (purple acid phosphatase group) in corn and or wheat-based diets on pellet physical quality, growth performance, intestinal morphology and tibia characteristics of broiler chicks.

Methods: First, the activity level of two types of phytase enzymes was measured and compared by t-test. Then, an experiment was conducted with 4 dietary treatments in the form of a completely randomized design with a factorial arrangement of 2x2, including two types of phytase enzymes (purple acid phosphatase and histidine phosphatase) and two types of diets based on corn or wheat. In this experiment, 336 one-day-old chicks of the Hubbard Flex strain were used in 6 replications (14 birds per each pen). The average body weight gain, feed consumption, feed conversion ratio and European production efficiency factor of experimental treatments were recorded at the age of 10, 24 and 41 days. At the end of the experiment, after starvation and final weighing (41 days old), two male chickens from each experimental unit that had the closest weight to the average of their group were killed to measure the morphological intestine and tibia characteristics. The pellet strength of the final diets of the experimental treatments was also measured by the Holman method. The data were statistically analyzed by Minitab statistical software (version 18) and general linear model procedure. Means compared byTukey's test at 5 percent probability level.

Results: The production of recombinant phytase enzyme in the yeast Saccharomyces boulardi probiotic in the fermenter showed that the production efficiency was 400 and 150 grams per liter, respectively, for wet and dry yeast precipitation. Also, measuring phytase enzyme activity showed that the phytase activity in histidine phosphatase was about 2 times higher than of purple acid phosphatase ($p\leq 0.05$). The effect of the type of diet, the type of phytase enzyme and the interaction between them during different rearing periods in terms of body weight gain (except at the age of ten days), feed consumption, feed conversion ratio and percentage of the European production efficiency index of the whole period, no significant difference was observed. Until the age of ten days, chicks fed by corn-based diet containing histidine phosphatase had the lowest body weight gain compared to chicks fed with corn-based diet containing purple acid phosphatase and wheat-based diet containing histidine phosphatase. The interaction between enzyme and diet type (corn and or wheat) were significant for intestinal morphological characteristics ($p\leq 0.05$). So, chicks fed corn-based diet with purple acid phosphatase addition had the highest villus surface area and the lowest number of goblet cells in the duodenum and jejunum compared to other experimental treatments ($p\leq 0.05$). The highest villus length and the ratio of villus length to crypt depth and the lowest crypt depth were observed in the duodenum area of chicks fed corn or wheat-based diets containing purple acid phosphatase compared to other experimental treatments ($p\leq 0.05$). No statisticall significant difference was observed for the crypt depth in the duodenum and jejunum between the chickens fed by corn or wheat based diet containing purple acid phosphatase. Compared to other experimental treatments, the highest

Copyright ©2024 Salmanian et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

crypt depth in the duodenum and jejunum belonged to the chickens fed corn or wheat based diet and wheat based diet containing histidine phosphatase ($p\leq 0.05$).
Although the ash content of tibia in the treatment of purple acid phosphatase was lower than that of histidine phosphatase enzyme ($p\leq 0.05$), there was no difference between the two types of phytase enzyme in the percentage of dry matter, bone density and bone strength. The interaction of the type of phytase enzyme and the diet type on the pellet strength of finisher diet was significant ($p\leq 0.05$). Compared to other experimental treatments, wheat-based finisher diets had higher pellet strength than corn-based diet ($p\leq 0.05$).
Conclusion: This research was the first report on the production of recombinant phytase enzyme of purple acid phosphatase group in yeast Saccharomyces boulardi and its interaction compared to commercial histidine phosphatase group in corn and wheat based diets in broiler chickens as an additive in poultry diet. The results of this research showed that the types of phytase enzymes had no significant effect on the growth performance. However, the effect of recombinant phytase enzyme on intestinal morphological traits and the effect of commercial phytase enzyme on the percentage of tibia bone ash were different. According to the results presented about the effect of the type of grain used on the growth performance of broiler chickens, no significant difference was observed. Also, the effect of wheat in increasing the strength of the pellet, cultivated Iranian wheat can be a suitable alternative to corn for feeding chickens. Therefore, based on all the characteristics investigated in this study, the recombinant phytase enzyme had the ability to compete with coated commercial enzyme.

Keywords: Broiler, Corn, Phytase enzyme, Probiotic, Wheat

How to Cite This Article: Salmanian, M., Shams Shargh, M., Yamchi, A., & Hohammadi Ghasem Abadi, M. (2024). Effect of Phytase Enzyme and Diet Type based on Corn or Wheat on Physical Pellet Quality, Growth Performance, Intestinal Morphology and Tibia Characteristics in Broiler Chicks. *Res Anim Prod,* 15(3), 96-107. DOI: 10.61186/rap.15.3.96

مقاله پژوهشی

تأثیر نوع آنزیم فیتاز و نوع جیرهٔ غذایی بر پایهٔ ذرت و یا گندم بر کیفیت فیزیکی پلت، عملکرد رشد، ریخت‌شناسی روده و خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی

مژگان سلمانیان[۱]، محمود شمس شرق[۲]، احد یامچی[۳] و محمد حسین محمدی قاسم‌آبادی[۴]

۱- دانش آموخته دکتری تغذیه طیور، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲- دانشیار، گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، (نویسنده مسوول: m_shams196 @yahoo.com)
۳- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۴- دانش‌آموخته دکتری تغذیه طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸
صفحه: ۹۶ تا ۱۰۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: برای تولید آنزیم فیتاز انتخاب میزبان مناسب بسیار مهم است. آنزیم‌های تجاری فیتاز در میزبان‌های باکتریایی و قارچی تولید می‌شوند که می‌توانند آلوده به متابولیت‌های سمی میزبان باشند. لذا جهت برطرف کردن این مشکل، استفاده از پروبیوتیک به‌عنوان میزبان توصیه می‌شود. مخمر پروبیوتیک ساکارومایسس بولاردی یک مخمر غیر بیماری‌زا است که توانایی استقرار دائمی در روده را ندارد. هدف این مطالعه بررسی تاثیر دو نوع آنزیم فیتاز تجاری (گروه هستیدین فسفاتاز) و فیتاز نوترکیب حاصل از مخمر ساکارومایسس بولاردی (گروه اسید فسفاتاز بنفش) در جیره‌های بر پایه ذرت و یا گندم بر کیفیت فیزیکی پلت، عملکرد رشد، ریخت‌شناسی روده و خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها: ابتدا میزان فعالیت دو نوع آنزیم فیتاز با آزمون t سنجش و مورد مقایسه قرارگرفت. سپس، یک آزمایش با ۴ تیمار آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲ شامل دو نوع آنزیم فیتاز (اسید فسفاتاز بنفش و هیستیدین فسفاتاز) و دو نوع جیره برپایه ذرت و یا گندم انجام شد. در این آزمایش از ۳۳۶ قطعه جوجه یک‌روزه سویه هوبارد فلکس در ۶ تکرار (حاوی ۱۴ پرنده در هر پن آزمایشی) استفاده شد. میانگین افزایش وزن، خوراک مصرفی، ضریب تبدیل غذایی و درصد شاخص بازده تولید اروپایی تیمارهای آزمایشی در سن ۱۰، ۲۴ و ۴۱ روزگی ثبت گردید. در پایان آزمایش پس از اعمال گرسنگی و وزن‌کشی پایانی (۴۱ روزگی) دو قطعه جوجه نر از هر واحد آزمایشی که نزدیک‌ترین وزن به میانگین گروه خود را داشتند، انتخاب و برای اندازه‌گیری خصوصیات ریخت‌شناسی روده و استخوان درشت‌نی پا کشتار شدند. استحکام پلت جیره پایانی تیمارهای آزمایشی نیز به‌روش هولمن گزارش شد. داده‌های این مطالعه با نرم‌افزار آماری مینی‌تب (نسخه ۱۸) و رویه مدل خطی عمومی مورد تجزیه آماری قرار گرفت. سپس، میانگین هریک از صفات براساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد.

یافته‌ها: تولید آنزیم فیتاز نوترکیب در مخمر پروبیوتیک ساکارومایسس بولاردی در فرمانتور نشان داد که میزان بازدهی تولید شامل ۴۰۰ و ۱۵۰ گرم در لیتر به‌ترتیب برای رسوب مخمر خیس و خشک بود. همچنین سنجش فعالیت آنزیم فیتاز نشان داد که میزان فعالیت آنزیمی در فیتاز تجاری حدود ۲ برابر فیتاز نوترکیب بود ($p \leq ۰/۰۵$). اثر نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز و اثر متقابل بین آن‌ها در طی دوره‌های مختلف پرورش به‌لحاظ افزایش وزن بدن (به‌جز در سن ده روزگی)، مصرف خوراک، ضریب تبدیل غذایی و درصد شاخص بازده تولید اروپایی کل دوره اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تا سن ده روزگی جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت حاوی هیستیدین فسفاتاز کمترین افزایش وزن را در مقایسه با جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت حاوی اسید فسفاتاز بنفش و جیره برپایه گندم حاوی هیستیدین فسفاتاز را داشتند. اثر متقابل بین نوع آنزیم و نوع جیره (ذرت و یا گندم) برای خصوصیات ریخت‌شناسی روده معنی‌دار بود ($p \leq ۰/۰۵$). به‌نحوی‌که، جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت حاوی اسید فسفاتاز بنفش بیشترین مساحت پرز و کمترین تعداد سلول گابلت را در ناحیه دئودنوم و ژژنوم در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی داشتند ($p \leq ۰/۰۵$). بیشترین طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت و کمترین عمق کریپت در ناحیه دئودنوم جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت و یا گندم حاوی اسید فسفاتاز بنفش در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی مشاهده شد ($p \leq ۰/۰۵$). برای عمق کریپت در ناحیه دئودنوم و ژژنوم بین جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت و یا گندم حاوی اسید فسفاتاز بنفش تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین عمق کریپت در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی در ناحیه دئودنوم و ژژنوم به‌ترتیب متعلق به جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت و یا گندم و جیره برپایه گندم حاوی هیستیدین فسفاتاز بود ($p \leq ۰/۰۵$). اگرچه میزان خاکستر درشت نی در تیمار آنزیم اسید فسفاتاز بنفش کمتر از آنزیم هیستیدین فسفاتاز بود ($p \leq ۰/۰۵$)، اما بین دو نوع آنزیم فیتاز تفاوتی در درصد ماده خشک، چگالی استخوان و مقاومت استخوان مشاهده نشد. اثر متقابل نوع آنزیم فیتاز و نوع جیره (ذرت و یا گندم) بر استحکام پلت جیره پایانی به‌روش هولمن معنی‌دار بود ($p \leq ۰/۰۵$). در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی جیره‌های پایانی برپایه گندم نسبت به ذرت استحکام پلت بالاتری داشتند ($p \leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: این پژوهش اولین گزارش تولید آنزیم فیتاز نوترکیب گروه اسید فسفاتاز بنفش در مخمر ساکارومایسس بولاردی و بررسی اثرات متقابل آن در مقایسه با گروه هیستیدین فسفاتاز تجاری در جیره‌های بر پایه ذرت و گندم در جوجه‌های گوشتی به‌عنوان افزودنی در جیره طیور بود. یافته‌های این تحقیق نشان داد که دو نوع آنزیم فیتاز در نتایج عملکرد رشد تفاوتی چندانی با هم ندارند. اگرچه تأثیر آنزیم فیتاز نوترکیب در صفات ریخت‌شناسی روده و تأثیر آنزیم فیتاز تجاری در درصد خاکستر استخوان درشت‌نی معنی‌دار بود. با توجه به نتایج ارائه شده در مورد اثر نوع غله مورد استفاده بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. همچنین تأثیر گندم در افزایش استحکام پلت، گندم داخلی می‌تواند جایگزین مناسبی به‌جای ذرت برای تغذیه جوجه‌های گوشتی باشد. بنابراین، براساس کلیه صفات مورد بررسی در این مطالعه آنزیم فیتاز نوترکیب قابلیت رقابت با آنزیم تجاری پوشینه دار را داشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم فیتاز، پروبیوتیک، جوجه گوشتی، ذرت، گندم

مقدمه

حدود ۶۶ درصد از فسفر غلات به شکل فسفر فیتاته می‌باشد که قابلیت استفاده آنها در حیوانات تک‌معده‌ای کم است. این امر می‌تواند باعث بروز آلودگی ناشی از فسفر در مناطق با واحدهای پرورش متراکم طیور گردد (Bhuiyan, 2011). فیتازها گروه متنوعی از آنزیم‌ها هستند که باعث دفسفریلاسیون فیتات موجود در منابع غذایی گیاهی می‌شوند. با توجه به اینکه غلظت آنزیم فیتازهای گیاهی متفاوت و pH فعالیت آن‌ها مناسب با دستگاه گوارش حیوانات نیست، افزودن آنزیم فیتاز خارجی به جیره غذایی حیوانات تک‌معده‌ای ضروری به‌نظر می‌رسد (Bajaj & Wani, 2015). برای تولید آنزیم فیتاز، انتخاب میزبان مناسب بسیار

مهم است. در گذشته از میزبان‌های باکتریایی ای‌کلای[1]، مخمری ساکارومایسس سرویزیه[2]، پیکیا پاستوریس[3] و قارچی آسپرژیلوس نایجر[4] برای تولید تجاری پروتئین نوترکیب فیتاز استفاده شده است.

همچنین در تمامی موارد دو ژن کد کننده فیتاز شامل ژن appA با منشأ باکتریایی و ژن phyA با منشأ قارچی برای تولید آنزیم فیتاز به‌کار گرفته شده است (Lei & Stahl, 2001). هر دو نوع این فیتازها مربوط به گروه هیستیدین اسید فسفاتازها می‌باشند (Greiner *et al.*, 1993). تولید پروتئین نوترکیب در میزبان‌های فوق‌الذکر با متابولیت‌های سمی حاصل از میزبان همراه است (Kaźmierczak-Siedlecka *et al.*, 2020). بنابراین جهت برطرف کردن این مشکل، سازمان‌های مرتبط با غذا و دارو استفاده از پروبیوتیک به‌عنوان میزبان را توصیه می‌کنند. مخمر پروبیوتیک ساکارومایسس بولاردی یک مخمر غیر بیماری‌زا است که توانایی استقرار دائمی در روده را ندارد (Moré & Vandenplas, 2018). مکانیسم عمل این مخمر از طریق جلوگیری از فعالیت عوامل بیماری‌زا و سموم میکروبی روده و تحریک تولید ایمونوگلوبولین‌ها است (Da Silva & Srikrishnan, 2012). مطالعه اخیر نشان داده است که استفاده از مخمر پروبیوتیک ساکارومایسس بولاردی در جیره جوجه‌های گوشتی به‌تنهایی یا به‌همراه اسید بوتیریک اثرات مفیدی بر جمعیت میکروبی روده، ریخت‌شناسی ژژنوم و بهبود سیستم ایمنی داشته است (Nari *et al.*, 2020).

وجود مطالعات فراوان مبنی بر اثرات منفی پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول گندم بر عملکرد پرنده (Peng *et al.*, 2003) و (Akter *et al.*, 2017) سبب ایجاد نگرش منفی نسبت به استفاده از گندم در جیره در بین متخصصین تغذیه طیور در ایران شده است. بررسی‌های میرزایی و همکاران (Mirzaie *et al.*, 2012) و اسمیت و همکاران (Smeets *et al.*, 2015) نشان دادند که گندم‌های تولید ایران نسبت به گندم‌های خارجی از مقادیر کمتری زایلوز و آرابینوزایلان برخوردار است که همین امر موجب استفاده بیشتر از گندم داخلی در جیره طیور خواهد شد. علاوه بر این به‌کارگیری گندم در جیره غذایی باعث افزایش استحکام خوراک پلت می‌شود (Moradi *et al.*, 2018). بررسی‌های محمدی قاسم آبادی و همکاران (Mohammadi Ghasem Abadi *et al.*, 2014) نشان داد که بدون اضافه نمودن هرگونه افزودنی خوراکی در جیره آردی، می‌توان از گندم ایرانی به‌جای ذرت در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده نمود.

لذا، در این تحقیق برای اولین بار از آنزیم اسید فسفاتاز بنفش جهت تجزیه فیتات گیاهی استفاده شد (Ghorbani Nasrabadi *et al.*, 2018). بنابراین، هدف اولیه از انجام این مطالعه در ابتدا بررسی سنجش فعالیت آنزیمی دو نوع آنزیم فیتاز با منشا متفاوت (اسید فسفاتاز بنفش و هیستیدین فسفاتاز) بود. همچنین، هدف دیگر این مطالعه بررسی تأثیر دو نوع آنزیم فیتاز در جیرهٔ غذایی بر پایهٔ ذرت و یا گندم بر کیفیت پلت، عملکرد رشد، ریخت‌شناسی روده و خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

هدف این مطالعه در مرحله اول سنجش فعالیت آنزیمی دو نوع آنزیم فیتاز (اسید فسفاتاز بنفش و هیستیدین فسفاتاز) و در مرحله دوم بررسی اثرات دو نوع آنزیم فیتاز در دو نوع جیره برپایه ذرت و یا گندم بر کیفیت پلت، عملکرد رشد، ریخت‌شناسی روده و خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی به‌مدت ۴۱ روز بود. به‌طور خلاصه، ژن کدکننده آنزیم اسید فسفاتاز بنفش از باکتری کرم کست خاکی *Sphingobium* sp به‌روش سنگر و همکاران (Sanger *et al.*, 1977) تعیین توالی و در وکتور بیانی مخمر pD1218 همسانه‌سازی شد. وکتور نوترکیب به‌روش الکتروپوریشن به سلول مستعد مخمر ساکارومایسس بولاردی منتقل شد. بیان آنزیم نوترکیب در مخمر، از طریق الکتروفورز SDS-PAGE و زیموگرام تأیید گردید. سپس به‌منظور استفاده از مقادیر یکسان آنزیم در جیره‌ها، میزان غلظت آنزیم بر حسب واحد فعالیت آنزیم[5] (FTU) به‌روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۳۵۵ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت (Heinonen & Lahti, 1981) بدین‌منظور، ۲۵۰ میکرولیتر بافر استات سدیم۱۰۰ میلی‌مولار با pH=4، ۳/۶ میکرولیتر نمک فیتات سدیم ۱۰ میلی‌مولار و ۷۰ میکرولیتر سولفات کلسیم ۱۰ میلی‌مولار در یک لوله آزمایش استریل باهم ترکیب شدند. سپس لوله آزمایش در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ده دقیقه در بن‌ماری قرار گرفت. در ادامه ۱۰ میکرولیتر از آنزیم فیتاز نوترکیب استخراج شده به لوله آزمایش اضافه و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. پس از آن به‌میزان ۱/۵ میلی‌لیتر بافر میکس شامل اسیدسولفوریک ۲/۵ مولار، آمونیوم هپتامولیبدات ۱۰ میلی‌مولار و استن ۱۰۰ درصد به‌ترتیب با نسبت‌های (۲:۱:۱) به لوله آزمایش اضافه و برای خاتمه واکنش ۱۰۰ میکرولیتر اسیدسیتریک یک مولار اضافه شد. برای نمونه کنترل منفی مانند مراحل فوق، عمل شد. با این تفاوت که آنزیم فیتاز پس از اضافه شدن محلول اسیدسیتریک به واکنش اضافه شد. لوله‌آزمایش به‌مدت ۵ دقیقه در دور g ۱۳۰۰۰ سانتریفوژ شد و در ادامه از آب دو بار تقطیر به‌عنوان بلنک[6] و از بخش روشناور[7] در نمونه کنترل منفی و نمونه مثبت حاوی آنزیم فیتاز جهت خوانش در طول موج ۳۵۵ نانومتر استفاده گردید. جهت به‌دست آوردن یونیت آنزیم از خوانش‌های به‌دست آمده از اسپکتروفتومتر از منحنی استاندارد روش رنگ‌سنجی (ISO 30024:2009) استفاده شد. میزان فعالیت دو نوع آنزیم فیتاز با سه تکرار انجام شد و جهت مقایسه میزان فعالیت دو نوع آنزیم فیتاز از آزمون t-test در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد.

گام دوم این مطالعه با ۳۳۶ قطعه جوجه یکروزه (مخلوط برابر دو جنس نر و ماده) سویه هوبارد فلکس (تعیین جنسیت شده از روی پر بال) با چهار تیمار آزمایشی و شش تکرار (هر تکرار حاوی ۱۴ قطعه پرنده) در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل (۲×۲) شامل دو نوع آنزیم (اسید فسفاتاز بنفش و هیستیدین فسفاتاز هریک به‌میزان ۵۰۰ واحد) و دو نوع جیره (ذرت و یا گندم) انجام شد. ابعاد پن آزمایشی ۱/۲۵× ۱/۲۵ متر بود. ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز هیستیدین

1- *E. coli* 2- Sacharomyces cerevisiae 3- Picha pastoris 4- Aspergillus niger 5- Unit 6- Blank
7- Supernatante

فسفاتاز با افزودن ۵۰ گرم آنزیم در تن خوراک با اعمال ماتریکس ولیو تأمین شد. در این پژوهش، از مخمر نوترکیب ساکارومایسس بولاردی مولد آنزیم فیتاز (محصول شرکت دانش‌بنیان آسیا فرا ژن) پس از تکثیر در فرمانتور New Brunswick (ساخت آمریکا) برای مقایسه بازدهی آنزیم با فیتاز هیستیدین فسفاتاز استفاده شد. از آنزیم فیتاز اسید فسفاتاز بنفش به‌مقدار ۳۰۰ گرم در تن جیره (معادل ۱/۸۳ ×۱۰^{۱۲} کلونی) پس از سنجش مقدار یونیت آنزیمی (جهت تأمین ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز در جیره) استفاده گردید و ماتریکس ولیو لحاظ شده برای اسید فسفاتاز بنفش معادل ماتریکس ولیو آنزیم هیستیدین فسفاتاز بود. ساخت فرمول آزمایشی این مطالعه در کارخانه خوراک و بر اساس فرمول متوازن شده برای سویه فلکس (کاتالوگ ۲۰۱۶ مقادیر مندرج در راهنما سویه سریع‌الرشد) در سه دوره آغازین ۱ تا۱۰ روزگی، رشد ۱۱ تا ۲۴ روزگی و پایانی ۲۵ تا ۴۱ روزگی) با استفاده از نرم‌افزار آمینوفید انجام شد (جدول ۱). دمای فرآوری خوراک‌های آزمایشی ۶۰ درجه سلسیوس و شکل فیزیکی خوراک پلت به‌ترتیب برای دوره آغازین، رشد و پایانی ۲ میلی‌متر، کرامبل حاصل از دای ۴ میلی‌متر و پلت با قطر ۴ میلی‌متر بود. عملکرد جوجه‌ها از قبیل افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک و شاخص بازده تولید اروپایی در انتهای هر دوره تغذیه‌ای اندازه‌گیری شد (Nollet *et al.*, 2008).

$$\text{شاخص بازده تولید اروپایی} = \frac{\text{قدرت زنده مانی} * \text{وزن زنده (Kg)}}{\text{سن (روز)} * \text{ضریب تبدیل}} \times 100$$

در پایان آزمایش پس از اعمال گرسنگی و وزن‌کشی پایانی (۴۱ روزگی) دو قطعه جوجه نر از هر واحد آزمایشی که نزدیک‌ترین وزن به میانگین گروه خود را داشتند، انتخاب و با برچسب پا شماره‌گذاری شدند. پس از کشتار بخش‌هایی از دئودنوم و ژژنوم پس از شستشو با محلول سرم فیزیولوژی به ظروف حاوی فرمالین ۱۰ درصد منتقل شدند. محلول فرمالین ۱۰ درصد حاوی ظرف نمونه پس از ۲۴ ساعت تعویض شد. برای اندازه‌گیری خصوصیات ریخت‌شناسی روده پس از طی مراحل آب‌گیری از بافت توسط رقت‌های مختلف الکل و قالب‌گیری نمونه با پارافین و شماره‌گذاری هر بخش روده، دو قطعه سالم از بافت برش خورده روی هر لام قرار گرفت. سپس نمونه بافت‌ها با هماتوکسیلین–ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. پس از قرار دادن یک قطره چسب انتلان[1] روی برش رنگ شده، نمونه‌ها توسط میکروسکوپ الیمپوس[2] مجهز به یک کراتیکول چشمی با بزرگنمایی 40X عکس‌برداری شدند. ارتفاع پرز، عرض پرز، عمق کریپت و تعداد سلول‌های گابلت در هر 500×500 میکرومتر مربع در ۱۰ نقطه مختلف با نرم‌افزار Olysia (نسخه ۳/۲) دارای خط‌کش مندرج قرائت و ثبت شد (Iji *et al.*, 2001).

خصوصیات استخوان درشت‌نی پس از جداسازی بافت غیر استخوانی از نمونه استخوان درشت‌نی پای راست مورد ارزیابی راست شامل ماده خشک، درصد خاکستر استخوان و چگالی به‌روش کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2004) بود. خاکستر استخوان در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد. چگالی استخوان تر به‌روش غوطه‌وری در آب و با سنجش وزن استخوان در هوا تعیین گردید. پیش از تعیین درصد خاکستر استخوان پای راست نمونه‌ها، استخوان درشت‌نی پای راست خشک‌شده برای سنجش مقاومت استخوان برحسب واحد نیوتن از دستگاه یونیورسال کشش کومیتک (تایوان مدل B1-E) با سرعت ۱۰ میلی‌متر بر دقیقه و فاصله دو تکیه‌گاه ۷ سانتی‌متر استفاده شد (Sanni, 2017).

در این آزمایش استحکام پلت جیره پایانی تیمارهای آزمایشی به‌روش هولمن گزارش شد (ASAE, 1997). چهار تکرار ۱۰۰ گرمی پلت کامل (الک شده) به‌مدت ۶۰ ثانیه در معرض فشار هوای ۶۸ میلی‌بار در دستگاه هولمن NHP-100 قرار داده شد. پس از اتمام زمان فوق محتویات داخل دستگاه الک شدند تا وزن پلت کامل پس از ۶۰ ثانیه محاسبه شود. قطر روزنه الک مورد استفاده ۸۰ درصد قطر پلت بود. برای محاسبه شاخص استحکام پلت از رابطه زیر استفاده شد.

$$\text{PDI} = \frac{\text{گرم پلت کامل پس از یک دقیقه}}{\text{صد گرم}} \times 100$$

تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار مینی‌تب نسخه ۱۸ انجام شد. برای آنالیز داده‌های آزمایش از رویه GLM استفاده شد. میانگین تیمارها بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۰/۰۵ مورد مقایسه قرار گرفتند. مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود.

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

(A_i: اثر نوع جیره؛ B_j: اثر آنزیم؛ AB_{ij}: اثر متقابل نوع جیره و آنزیم؛ e_{ijk} : اثر اشتباه آزمایشی؛ μ: میانگین جامعه)

نتایج و بحث

تولید آنزیم اسید فسفاتاز بنفش در مخمر پروبیوتیک ساکارومایسس بولاردی در فرمانتور نشان داد که میزان بازدهی تولید شامل ۴۰۰ و ۱۵۰ گرم در لیتر به‌ترتیب برای رسوب مخمر خیس و خشک بود. نتایج میزان فعالیت آنزیم فیتاز بین هیستیدین فسفاتاز و اسید فسفاتاز بنفش حاصل از مخمر پروبیوتیک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۲). میزان فعالیت آنزیم برحسب FTU در هر گرم از هر دو منبع به‌ترتیب ۱۰۷۷۰ و ۵۳۵۷ می‌باشد که اختلاف میانگین‌ها در سطح ($p \leq$ ۰/۰۵) معنی‌دار بود. این آزمایش نشان داد که میزان فعالیت آنزیم فیتاز در هر گرم از دو منبع، در فیتاز تجاری از نوع هیستیدین فسفاتاز حدود ۲ برابر اسید فسفاتاز بنفش حاصل از مخمر نوترکیب می‌باشد. با این‌وجود، تولید آنزیم اسید فسفاتاز بنفش نوترکیب در مخمر پروبیوتیک بولاردی نسبت به سایر میزبان‌های تجاری دیگر مانند قارچ آسپرژیلوس و یا مخمر پیکیا که تولیدکننده متابولیت‌های سمی برای انسان و حیوان هستند، به‌لحاظ فنی ارجحیت دارد (Kaźmierczak-Siedlecka *et al.*, 2020; Haraldsson *et al.*, 2005).

1- Enthelan 2- Olympus

جدول ۱- ترکیب و آنالیز شیمیایی جیره مراحل آغازین، رشد و پایانی (درصد هوا خشک)

Table 1. Composition and chemical analysis of diet in starter, grower and finisher Phases (Dry air percentage)

جیره (diet)	آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی) Starter (1-10days)		رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) Grower (11-24days)		پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) Finisher (25-42days)	
اقلام خوراکی	برپایه ذرت corn-based	برپایه گندم wheat-based	برپایه ذرت corn-based	برپایه گندم wheat-based	برپایه ذرت corn-based	برپایه گندم wheat-based
ذرت (CP= ۷/۵) Corn	56.57	–	62.74	–	65.21	–
گندم (CP=۱۰/۵) Wheat	–	62.84	–	69.69	–	72.56
کنجاله سویا (CP=۴۲/۵) Soybean meal	37.83	30.71	31.96	24.06	28.14	19.92
روغن کلزا Canola oil	1.62	2.31	1.57	2.32	2.11	2.89
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	1.36	1.23	1.18	1.04	0.79	0.64
کربنات کلسیم Calcium carbonate	0.97	1.02	0.97	1.02	1.08	1.13
نمک Salt	0.22	0.12	0.14	0.04	0.14	0.03
جوش‌شیرین Baking soda	0.21	0.35	0.27	0.43	0.32	0.39
مکمل معدنی و ویتامینی[1] Mineral and vitamin supplement	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
ال-لیزین هیدروکلراید L-lysine hydrochloride	0.21	0.36	0.21	0.38	0.24	0.41
دی ال-متیونین DL-methionine	0.34	0.33	0.29	0.29	0.28	0.28
ال-ترئونین L-threonine	0.09	0.15	0.09	0.15	0.11	0.17
کوکسیدیواستات Coccidiostat	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
مجموع آنزیم فیتاز و بنتونیت[2]	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
نشانگر خارجی سیلیس External indicator of silica	-	-	-	-	1	1
انرژی قابل سوخت و ساز Metabolizable energy (Kcal/kg)	2943	2943	3008	3008	3057	3057
پروتئین خام(%) Crude protein (%)	22.07	22.07	19.85	19.85	18.34	18.34
لیزین قابل هضم Digestible lysine (%)	1.24	1.24	1.11	1.11	1.03	1.03
متیونین+سیستین قابل هضم (%) Digestible methionine + cystine (%)	0.93	0.93	0.84	0.84	0.81	0.81
ترئونین قابل هضم Digestible threonine (%)	0.81	0.81	0.73	0.73	0.69	0.69
کلسیم(٪) Calcium (%)	0.96	0.96	0.91	0.91	0.84	0.84
فسفر فراهم (٪) Phosphorus available (%)	0.47	0.47	0.43	0.43	0.36	0.36
سدیم (٪) Sodium (%)	0.18	0.18	0.17	0.17	0.16	0.16
کلر (٪) Chlorine (%)	0.22	0.22	0.18	0.18	0.18	0.18
تعادل الکترولیت (میلی‌اکی‌والان/کیلوگرم) Electrolyte balance (milliequivalents/kg)	238	234	221	217	200	194

۱- مقدار ویتامین‌ها و مواد معدنی در هر کیلوگرم جیره به‌ترتیب جیره آغازین، رشد و پایانی برای ویتامین A:۱۵۰۰۰، ۱۲۵۰۰و ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله‌کلسیفرول: ۳۰۰۰، ۲۵۰۰ و۲۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E: ۷۰، ۵۰ و۵۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین B_{12}: ۰/۰۲، ۰/۰۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم؛ فولاسین: ۱/۵، ۱ و۱ میلی‌گرم؛ نیاسین: ۶۰، ۴۰ و۴۰ میلی‌گرم؛ اسید پانتوتنیک، ۱۵، ۱۰ و ۱۰ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین: ۴، ۳ و ۳ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین: ۸، ۶ و ۶ میلی‌گرم؛ تیامین: ۳، ۲ و۲ میلی‌گرم؛ کولین: ۴۰۰، ۳۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم و آنتی‌اکسیدان: ۰/۵، ۰/۵ و ۰/۵ میلی‌گرم؛ مس (سولفات مس): ۱۰، ۱۰ و ۱۰ میلی‌گرم؛ ید (یدات کلسیم): ۱، ۱ و ۱ میلی‌گرم؛ آهن (سولفات آهن): ۲۰، ۲۰ و ۲۰ میلی‌گرم؛ منگنز (اکسید منگنز): ۸۰، ۸۰ و ۸۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم (سلنات سدیم): ۰/۲، ۰/۲ و ۰/۲ میلی‌گرم و روی (اکسید روی): ۸۰، ۸۰ و ۸۰ میلی‌گرم.

۲- جهت تامین ۵۰۰ واحد فیتاز در جیره تیمارهای واجد هیستیدین فسفاتاز حاوی ۰/۰۰۵ درصد آنزیم فیتاز (۵۰ گرم از آنزیم فیتاز ۱۰ هزار در هر تن خوراک) و مابقی ۰/۰۲۵ درصد بنتونیت بودند. همچنین تیمارهای واجد اسید فسفاتاز بنفش حاوی ۰/۰۳ درصد آنزیم فیتاز بودند.

1-The amount of vitamins and minerals per kilogram of ration, respectively, for the starter, growth and finisher rations for vitamin A: 15,000, 12,500 and 10,000 international units; Cholecalciferol: 3000, 2500 and 2000 international units; Vitamin E: 70, 50 and 50 international units; Vitamin B12: 0.02, 0.01 and 0.01 mg; Folacin: 1.5, 1 and 1 mg; Niacin: 60, 40 and 40 mg; pantothenic acid, 15, 10 and 10 mg; Pyridoxine: 4, 3 and 3 mg; Riboflavin: 8, 6 and 6 mg; Thiamine: 3, 2 and 2 mg; Choline: 400, 300 and 200 mg and antioxidant: 0.5, 0.5 and 0.5 mg; Copper (copper sulfate): 10, 10 and 10 mg; Iodine (calcium iodate): 1, 1 and 1 mg; Iron (ferrous sulfate): 20, 20 and 20 mg; Manganese (manganese oxide): 80, 80 and 80 mg; Selenium (sodium selenate): 0.2, 0.2 and 0.2 mg and zinc (zinc oxide): 80, 80 and 80 mg.

2-In order to provide 500 FTU in diets histidine phosphatase treatments had 0.005 % phytase (50 g from 10000 FTU-phytase per Ton feed) pluse 0.025 % Bentonite. In addition, purple acid phosphatase treatments had 0.03 % phytase.

جدول۲- میزان فعالیت دو نوع آنزیم فیتاز برحسب FTU در هر گرم

Table 2. Phytase activity of two types of phytase based on FTU per gram

نوع آنزیم Type of enzyme	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	اشتباه استاندارد میانگین (SEM)	سطح معنی‌داری (*p*-Value)
میزان فعالیت آنزیم برحسب FTU در هر گرم	10770[a]	5357[b]	50	0.0001

[a, b] در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

[a b:] In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level.

نتایج حاصل از تأثیر نوع دانه جیره، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آن‌ها بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جداول ۳ و ۴ نشان داده شده است. نتایج بیانگر وجود اثر متقابل معنی‌دار بین نوع جیره و اثر آنزیم فیتاز بر افزایش وزن در دوره آغازین بود ($p\leq$۰/۰۵). به‌عبارت‌دیگر، تا سن ده روزگی جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت حاوی هیستیدین فسفاتاز کمترین افزایش وزن را در مقایسه با جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت حاوی اسید فسفاتاز بنفش و جیره برپایه گندم حاوی هیستیدین فسفاتاز را داشتند.

اثر نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز و اثر متقابل بین آن‌ها برافزایش وزن بدن در دوره‌های رشد و پایانی معنی‌دار نبود ($p\geq$۰/۰۵). عمده مزیت خوراک پلت بر عملکرد پرنده ناشی از افزایش خوراک مصرفی پرنده به‌خاطر کیفیت فیزیکی پلت (کیفیت ساختار ماکرو پلت) به‌عبارتی وجود خاکه کمتر در خوراک پلت است. چراکه افزایش خاکه پلت سبب تغییر الگوی مصرف خوراک و کاهش وزن پرنده می‌شود (Lemons & Moritz, 2016).

به‌عبارت دیگر، جوجه‌های تغذیه‌شده با استحکام پلت بیشتر در تیمارهای گندم حاوی هیستیدین فسفاتاز و ذرت حاوی اسید فسفاتاز بنفش بیشترین افزایش وزن بدن (به‌لحاظ آماری) را در سن ۱۰ روزگی داشتند. دلایل افزایش وزن بدن ممکن است به‌دلیل افزایش قابلیت هضم، کاهش تفکیک مواد، کاهش انرژی در حین مصرف و طعم بهتر باشد. اما باید توجه داشت که کیفیت استحکام پلت‌ها نیز عامل مهم دیگری است (Behnke, 2001). از طرفی، در پژوهش حاضر، تفاوت معنی‌داری در افزایش وزن بدن (۱-۴۱ روزگی) بین جوجه‌های تغذیه شده با جیره گندم در مقایسه با ذرت مشاهده نشد که هم‌راستا با یافته‌های سایر محققان بود (Mohammadi Ghasem Abadi *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2004). لذا، گندم ایرانی می‌تواند جایگزین مناسبی برای ذرت باشد. زیرا مطالعه میرزایی و همکاران (Mirzaie *et al.*, 2012)، بیانگر مقادیر اندک زایلان در این غله بود

تأثیر نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز و اثر متقابل بین آن‌ها بر مقدار خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در جدول ۳ و ۴ گزارش شده است. در دوره‌های مختلف پرورش اثر نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز و اثر متقابل بین آنها بر خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی معنی‌دار نبود که هم‌راستا با نتایج سعیدی اول نوقابی (Saeedi Aval Noughabi *et al.*, 2015) می‌باشد. همچنین در این پژوهش، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های غذایی بر پایه ذرت یا گندم اختلافی نداشتند. در مطالعه موس (Moss., 2020) نیز هیچ اختلاف معنی‌داری در مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره بر پایه ذرت نسبت به جیره بر پایه گندم گزارش نشد. همچنین، اثر نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز و اثر متقابل بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری را در نتایج شاخص بازده تولید اروپایی نشان ندادند (جدول ۴).

جدول ۳- تاثیر نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز و اثر متقابل آنها بر افزایش وزن بدن و مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی

Table 3. The effect of diet type, phytase enzyme and their interaction on body weight gain and feed intake of broiler chicks

اثر نوع جیره Effect of diet type	اثر نوع آنزیم فیتاز Effect of phytase enzyme	افزایش وزن (گرم) Wight gain (gr)				مصرف خوراک (گرم) Feed intake (gr)			
		۱۰-۱روزگی 1-10 d	۲۴-۱۱روزگی 11-24d	۴۱-۲۵روزگی 25-41d	۴۱-۱ روزگی 1-41 d	۱۰-۱روزگی 1-10 d	۲۴-۱۱روزگی 11-24d	۴۱-۲۵روزگی 25-41d	۴۱-۱ روزگی 1-41 d
ذرت Corn	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	218[b]	867	1710	2841	260	1257	3128	4647
	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	241[a]	900	1757	2943	278	1291	3196	4766
گندم Wheat	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	239[a]	902	1715	2902	283	1292	3299	4875
	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	234[ab]	874	1689	2844	272	1241	3120	4634
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		4	21	40	39	6	18	46	43
ذرت corn		229	883	1733	2892	269	1274	3220	4707
گندم Wheat		236	888	1702	2873	277	1266	3264	4755
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		3	15	28	55	4	12	33	61
هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase		228	885	1713	2872	272	1275	3214	4761
اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase		237	887	1723	2893	275	1266	3158	4700
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		3	15	28	55	4	12	33	61
سطح معنی‌داری (*p*-value)									
نوع جیره Diet type		0.13	0.82	0.46	0.73	0.26	0.67	0.33	0.45
نوع آنزیم فیتاز Phytase enzyme type		0.06	0.91	0.8	0.70	0.63	0.63	0.26	0.34
نوع جیره × نوع آنزیم فیتاز Diet type × Phytase enzyme type		0.01	0.18	0.39	0.18	0.15	0.14	0.12	0.13

[a-b] در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

[a-b]: In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level.

جدول ۴- تأثیر نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز و اثر متقابل آنها بر ضریب تبدیل غذایی و شاخص بازده تولید اروپایی جوجه‌های گوشتی

Table 4. The effect of diet type, phytase enzyme and their interaction on feed conversion ratio and European production efficiency factor of broiler chicks

اثر نوع جیره Effect of diet type	اثر نوع آنزیم فیتاز Effect of phytase enzyme	ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم) Feed conversion ratio(gr/gr)				شاخص بازده تولید اروپایی European production efficiency factor
		۱۰-۱روزگی 1-10 d	۲۴-۱۱روزگی 11-24d	۴۱-۲۵روزگی 25-41d	۴۱-۱ روزگی 1-41 d	۴۱-۱ روزگی 1-41 d
ذرت Corn	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	1.19	1.45	1.83	1.64	409
	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	1.15	1.44	1.82	1.62	420
گندم Wheat	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	1.18	1.43	1.92	1.68	414
	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	1.16	1.42	1.85	1.63	418
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		0.02	0.02	0.04	0.02	20
ذرت corn		1.17	1.44	1.82	1.63	415
گندم Wheat		1.17	1.42	1.89	1.66	416.5
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		0.01	0.01	0.03	0.03	14
هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase		1.19	1.44	1.88	1.66	412
اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase		1.16	1.42	1.83	1.63	419
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		0.01	0.01	0.03	0.03	14
سطح معنی‌داری (*p*-value)						
نوع جیره Diet type		0.87	0.49	0.2	0.40	0.94
نوع آنزیم فیتاز Phytase enzyme type		0.18	0.59	0.37	0.31	0.73
نوع جیره × نوع آنزیم فیتاز Diet type × Phytase enzyme type		0.79	0.96	0.48	0.56	0.85

تأثیر نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز و اثر متقابل بین آن‌ها بر ریخت‌شناسی روده در جداول ۵ و ۶ نشان داده شده است. نتایج این مطالعه بیانگر معنی‌دار بودن اثر نوع آنزیم فیتاز بود. به‌نحوی که، جوجه‌های تغذیه شده با جیره بر پایه ذرت حاوی اسید فسفاتاز بنفش بیشترین مساحت پرز و کمترین تعداد سلول گابلت را در ناحیه دئودنوم و ژژنوم در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی داشتند ($p \leq ۰/۰۵$). بیشترین طول پرز و نسبت طول پرز به عمق کریپت و کمترین عمق کریپت در ناحیه دئودنوم جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت و یا گندم حاوی اسید فسفاتاز بنفش در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی مشاهده شد ($p \leq ۰/۰۵$). برای عمق کریپت در ناحیه دئودنوم و ژژنوم بین جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت و یا گندم حاوی اسید فسفاتاز بنفش تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین عمق کریپت در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی در ناحیه دئودنوم و ژژنوم به‌ترتیب متعلق به جوجه‌های تغذیه شده با جیره برپایه ذرت و یا گندم و جیره برپایه گندم حاوی هیستیدین فسفاتاز بود ($p \leq ۰/۰۵$).

فیتات با اتصال به پروتئین‌ها، عناصر (فسفر، کلسیم، منیزیوم و آهن) و آنزیم‌هایی مانند تریپسین و آلفا-آمیلاز و مهار فعالیت آن‌ها می‌تواند سبب کاهش قابلیت هضم و زیست‌فراهمی آن‌ها شود (Lu *et al.*, 2019). نقش فیتاز بر روی میکروفلور روده مرتبط با خصوصیات بافرینگ و در دسترس قرار دادن کلسیم و فسفر برای تخمیر میکروبی می‌باشد. کلسیم و فسفر آزاد شده توسط فیتاز، سبب تکثیر باکتری‌های اسید لاکتیک، کاهش پاتوژن‌ها و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره و در نتیجه منجر به بهبود سلامت روده و قابلیت هضم مواد مغذی می‌شود (Ptak *et al.*, 2015؛ Mancabelli *et al.*, 2016). مطالعات قبلی نشان داده است که تغذیه جوجه‌ها با جیره‌های دارای کمبود فسفر سبب کاهش ارتفاع پرز در ژژنوم شده و افزودن فیتاز به جیره سبب بهبود ارتفاع پرز، مساحت جذبی پرز روده و همچنین نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت شده است (Wu *et al.*, 2004). تغییرات در ریخت‌شناسی روده مانند پرزهای کوتاه‌تر و کریپت‌های عمیق‌تر دلیلی بر حضور توکسین‌های مترشحه از پاتوژن‌های مستقر در دستگاه گوارش می‌باشد. کوتاه شدن پرزها، سبب کاهش سطح جذب مواد مغذی می‌شود (Emami *et al.*, 2013). در مطالعه مویتا و همکاران (Moita *et al.*, 2021) افزودن مکمل فیتاز سبب افزایش طول و عرض پرز روده شد. این امر را می‌توان ناشی از تأثیر مثبت آنزیم فیتاز بر میکروفلور روده در جهت کاهش تنش در لایه موکوسی و کاهش تعداد باکتری‌ها و توکسین‌های مترشحه در لومن روده دانست.

جدول ۵- تأثیر نوع دانه جیره، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آنها بر ریخت‌شناسی دئودنوم جوجه‌های گوشتی

Table 5. The effect of diet type, phytase enzyme and their interaction on duodenum histomorphology of broiler chicks

نوع جیره Effect of diet type	نوع آنزیم فیتاز Effect of phytase enzyme	طول پرز Villi length (µm)	عرض پرز Villi width (µm)	عمق کریپت Crypt depth (µm)	طول پرز به عمق کریپت Villi length/crept depth ratio (%)	مساحت پرز Area of villi (µm²)	سلول‌های گابلت Gublet Number
ذرت Corn	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	1178[b]	110[d]	66[a]	17.7[b]	409753[c]	16[a]
ذرت Corn	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	1325[a]	274[a]	58[b]	22.7[a]	1143596[a]	9[c]
گندم Wheat	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	1069[b]	144[c]	72[a]	14.9[b]	485848[c]	8[d]
گندم Wheat	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	1347[a]	160[b]	53[b]	24.9[a]	678001[b]	14[b]
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		29	2.6	1.8	0.71	20	0.17
ذرت corn		1252	192[a]	62	20.2	776675[a]	12[a]
گندم Wheat		1208	152[b]	63	19.9	581925[b]	11[b]
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		20	1.8	1.3	0.50	14	0.12
هیستیدین فسفاتازHistidine phosphtase		1124[b]	127[b]	69[a]	16.3[b]	447801[b]	12
اسید فسفاتاز بنفشPurple acid phosphtase		13367[a]	217[a]	56[b]	23.8[a]	910799[a]	11
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		20	1.8	1.31	0.50	14	0.12
سطح معنی‌داری (P-value)							
نوع جیره Diet type		0.166	0.001	0.741	0.643	0.0001	0.0001
نوع آنزیم فیتاز Phytase enzyme type		0.001	0.001	0.001	0.0001	0.0001	0.051
نوع جیره × نوع آنزیم فیتاز Diet type × Phytase enzyme type		0.048	0.001	0.022	0.004	0.0001	0.0001

[a, b, c,d] در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

a b c d: In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level.

جدول ۶- تاثیر نوع دانه جیره، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آنها بر ریخت شناسی ژژنوم جوجه‌های گوشتی

Table 6. The effect of diet type, phytase enzyme and their interaction on jejunum histomorphology of broiler chicks

نوع جیره Effect of diet type	نوع آنزیم فیتاز Effect of phytase enzyme	طول پرز Villi length (µm)	عرض پرز Villi width (µm)	عمق کریپت Crypt (µm)depth	طول پرز به عمق کریپت Villi length/crept depth ratio (%)	مساحت پرز Area of villi (µm²)	سلول‌های گابلت Gublet Number
ذرت Corn	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	939[c]	124[d]	37[c]	25.3[a]	365931[d]	18[a]
ذرت Corn	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	1094[b]	182[a]	45[b]	23.9[a]	626227[a]	12[b]
گندم Wheat	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	1138[ab]	134[c]	65[a]	17.3[b]	480383[c]	18[a]
گندم Wheat	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	1215[a]	152[b]	47[b]	25.8[a]	582674[b]	18[a]
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		18	1.8	1.3	0.83	9	0.2
ذرت corn		1176[a]	153[a]	41[b]	24.6[a]	496079[b]	15[b]
گندم Wheat		1017[b]	143[b]	56[a]	21.5[b]	531528[a]	18[a]
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		13	1.3	0.97	0.59	6	0.14
هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase		1039[b]	129[b]	51[a]	21.3[b]	423157[b]	18[a]
اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase		1154[a]	167[a]	46[b]	24.8[a]	604450[a]	15[b]
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		13	1.3	0.97	0.59	6	0.14
سطح معنی‌داری (*p*-value)							
نوع جیره Diet type		0.001	0.001	0.001	0.003	0.003	0.0001
نوع آنزیم فیتاز Phytase enzyme type		0.001	0.001	0.004	0.001	0.0001	0.0001
نوع جیره × نوع آنزیم فیتاز Diet type × Phytase enzyme type		0.04	0.001	0.001	0.0001	0.0001	0.0001

[a, b, c,d] در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

a b c d: In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level.

تأثیر نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز و اثر متقابل بین آن‌ها بر خصوصیات استخوان درشت‌نی در جدول ۷ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اثر آنزیم فیتاز بر درصد خاکستر استخوان معنی‌دار بود ($p \leq$ ۰/۰۵) و میزان خاکستر استخوان آنزیم هیستیدین فسفاتاز بیشتر از آنزیم اسید فسفاتاز بنفش بود. از طرفی، تفاوت معنی‌داری در میزان مقاومت استخوان بین این دو آنزیم مشاهده نشد. دلیل بروز این پدیده، وجود کنیتیک فعالیت آنزیمی متفاوت بین اسید فسفاتاز بنفش و هیستیدین اسید فسفاتاز در دستگاه گوارش پرنده می‌باشد (Ghorbani Nasrabadi *et al.*, 2018). گزارش شده است که فیتاز میکروبی باعث بهبود ذخیره کلسیم و ذخیره مواد معدنی در استخوان می‌شود (Rutherfurd *et al.*, 2012). در زمان استفاده از مقادیر مختلف آنزیم ناتافوس (بین صفر تا ۶۰۰ واحد) یک افزایش خطی در ابقای عناصر کلسیم، فسفر و روی رخ می‌دهد. افزودن آنزیم‌های هایفوس، رونوزایم یا فیزایم به جیره‌های حاوی مقادیر کم فسفر قابل دسترس

موجب افزایش درصد خاکستر استخوان و متعاقباً استحکام درشت‌نی گردید (Shaw *et al.*, 2011). علاوه بر این، فونتس و همکاران (Fuentes *et al.*, 2013) نیز گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش محتوای خاکستر استخوان درشت‌نی، کلسیم و فسفر می‌شود. در آزمایش امامی و همکاران (Emami *et al.*, 2013) مقدار خاکستر استخوان درشت‌نی در گروه کنترل منفی حاوی آنزیم فیتاز بهبود یافت. این نتیجه هم‌راستا با یافته سلمانیان و همکاران (Salmanian *et al.*, 2022) بود. زیرا افزودن آنزیم فیتاز به جیره از طریق بهبود در قابلیت هضم مواد مغذی منجر به افزایش درصد خاکستر استخوان درشت‌نی می‌شود (Rutherfurd *et al.*, 2012).

جدول ۷- تأثیر نوع جیره، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آنها بر خصوصیات استخوان درشت‌نی در جوجه‌های گوشتی

Table 7. The effect of diet type, phytase enzyme and their interaction on tibia characteristics in broiler chicks

اثر نوع جیره Effect of diet type	اثر نوع آنزیم فیتاز Effect of phytase enzyme	درصد ماده خشک Dry matter (%)	درصد خاکستر Ash (%)	چگالی (گرم/سانتی‌مترمکعب) (Density(g/cubic cm	مقاومت استخوان (نیوتن) Bone strength (N)
ذرت Corn	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	47.7	41.7	0.995	235
ذرت Corn	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	47.2	37.6	0.989	217
گندم Wheat	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	46.9	40.4	0.996	249
گندم Wheat	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	47.2	37.5	0.994	205
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		1.06	0.89	0.002	21
ذرت corn		48.5	39.7	0.992	226
گندم Wheat		47.8	39/0	0.995	227
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		0.53	0.63	0.001	15
هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase		47.3	41.1[a]	0.995	242
اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase		47.2	37.6[b]	0.991	211
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		0.75	0.63	0.001	15
سطح معنی‌داری (*p*-value)					
نوع جیره Diet type		0.35	0.46	0.15	0.97
نوع آنزیم فیتاز Phytase enzyme type		0.12	0.0001	0.36	0.18
نوع جیره × نوع آنزیم فیتاز Diet type × Phytase enzyme type		0.41	0.21	0.76	0.57

[a, b] در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

[a b]: In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level.

اثر متقابل بین نوع جیره، نوع آنزیم فیتاز در استحکام پلت به روش هولمن (جدول ۸) در جیره پایانی معنی‌دار بود. به‌عبارتی دیگر جیره‌های بر پایه گندم نسبت به ذرت استحکام پلت بالاتری داشتند ($p \leq$ ۰/۰۵). زیمونجا و همکاران (Zimonja *et al.*, 2007) گزارش کردند که افزودن ۲۰ درصد گندم در جیره‌های با پروتئین یکسان سبب بهبود معنی‌دار کیفیت فیزیکی پلت می‌شود که دلیل آن وجود پروتئین گلوتن در گندم و فرآورده‌های جانبی گندم در ایجاد قابلیت خمیری شکل است. همچنین، مرادی و همکاران (Moradi *et al.*, 2018) افزایش معنی‌دار استحکام پلت جیره‌های حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد گندم را نسبت به جیره برپایه ذرت مشاهده کردند.

جدول ۸- تاثیر نوع جیره، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آنها بر کیفیت فیزیکی پلت جیره پایانی

Table 8. The effect of diet type, phytase enzyme and their interaction on physical pellet quality of finisher diet

اثر نوع جیره Effect of diet type	اثر نوع آنزیم فیتاز Effect of phytase enzyme	استحکام پلت با روش هولمن (درصد) Pellet durability index by Holman method (%)
ذرت Corn	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	97.7[c]
ذرت Corn	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	97.9[bc]
گندم Wheat	هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase	99.2[a]
گندم Wheat	اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase	98.5[ab]
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		0.19
ذرت corn		97.8[b]
گندم Wheat		98.9[a]
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		0.14
هیستیدین فسفاتاز Histidine phosphtase		98.4
اسید فسفاتاز بنفش Purple acid phosphtase		98.2
اشتباه استاندارد میانگین (SEM)		0.14
سطح معنی‌داری (P-value)		
نوع جیره Diet type		0.0001
نوع آنزیم فیتاز Phytase enzyme type		0.27
نوع جیره × نوع آنزیم فیتاز Diet type × Phytase enzyme type		0.04

[a, b, c] در هر ردیف، میانگین‌هایی که حرف لاتین مشترک ندارند، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

a b: In each row, the averages that do not have a common Latin letter have a significant difference at the 0.05 level.

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش اولین گزارش تولید آنزیم فیتاز نوترکیب گروه اسید فسفاتاز بنفش در مخمر ساکارومایسس بولاردی و بررسی اثرات متقابل آن در مقایسه با هیستیدین فسفاتاز در جیره‌های بر پایه ذرت و گندم در جوجه‌های گوشتی به‌عنوان افزودنی در جیره طیور بود. یافته‌های این تحقیق نشان داد که اگرچه بین دو آنزیم اسید فسفاتاز بنفش و هیستیدین فسفاتاز در نتایج عملکرد تفاوتی وجود نداشت، اما در مورفولوژی روده تفاوت‌هایی وجود داشت. همچنین شایان‌ذکر است که آنزیم اسید فسفاتاز بنفش مطالعه حاضر در عملکرد نتایجی نزدیک به آنزیم فیتاز هیستیدین فسفاتاز پوشینه‌دار تجاری را نشان داد. با توجه به نتایج ارائه شده در مورد اثر نوع غله مورد استفاده بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. همچنین تأثیر گندم در افزایش استحکام پلت، گندم داخلی در صورت کمبود ذرت می‌تواند جایگزین مناسبی برای آن باشد. استفاده از مخمر بولاردی نوترکیب مولد آنزیم اسید فسفاتاز بنفش و اعمال ماتریکس ولیو آن، سبب بهبود بافت روده در این آزمایش شد که انجام تحقیقات بیشتر بر روی فیتاز نوترکیب حاصل از مخمر پروبیوتیک را توجیه می‌کند.

References

Akter, Y., Hutchison, C., Liu, S., & O'SHEA, C. J. (2017, February). Comparison of wheat and maize-based diets on growth performance and meat quality of broiler chickens. In *28th Annual Australian Poultry Science Symposium* (p. 233).

ASAE. (1997). Cubes, Pellets, and Crumbles-Definitions and Methods for Determining Density, Durability, and Moisture Content.

Bajaj, B. K., & Wani, M. A. (2015). Purification and characterization of a novel phytase from Nocardia sp. MB 36. *Biocatalysis and Biotransformation*, 33(3), 141-149.

Behnke, K. C. (2001). Factors influencing pellet quality. *Feed Technology*, 5(4), 19-22.

Bhuiyan, M. (2011). Variation in Quality of Maize Grain Due to Source, Moisture Content and Processing. Ph.D. Thesis, University of New England. AUS.

Da Silva, N. A., & Srikrishnan, S. (2012). Introduction and expression of genes for metabolic engineering applications in Saccharomyces cerevisiae. *FEMS Yeast Research*, 12(2), 197-214.

Emami, N. K., Naeini, S. Z., & Ruiz-Feria, C. (2013). Growth performance, digestibility, immune response and intestinal morphology of male broilers fed phosphorus deficient diets supplemented with microbial phytase and organic acids. *Livestock Science*, 157(2-3), 506-513.

Fuentes, C., Orozco, L., Vicente, J., Velasco, X., & Menconi, A. (2013). Effect of a lactic acid bacteria based probiotic, Floramax-B11®, on performance, bone qualities, and morphometric analysis of broiler chickens: an economic analysis. *Biological Systems*, 2(113), 2.

Ghorbani Nasrabadi, R., Greiner, R., Yamchi, A., & Nourzadeh Roshan, E. (2018). A novel purple acid phytase from an earthworm cast bacterium. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(10), 3667-3674.

Greiner, R., Konietzny, U., & Jany, K.-D. (1993). Purification and characterization of two phytases from Escherichia coli. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 303(1), 107-113.

Haraldsson, A.-K., Veide, J., Andlid, T., Alminger, M. L., & Sandberg, A.-S. (2005). Degradation of phytate by high-phytase Saccharomyces cerevisiae strains during simulated gastrointestinal digestion. *Journal of AGricultural and Food Chemistry*, 53(13), 5438-5444.

Heinonen, J. K., & Lahti, R. J. (1981). A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its application to the assay of inorganic pyrophosphatase. *Analytical Biochemistry*, 113(2), 313-317.

Iji, P., Hughes, R. J., Choct, M., & Tivey, D. (2001). Intestinal structure and function of broiler chickens on wheat-based diets supplemented with a microbial enzyme. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(1), 54-60.

ISO, E. (2020). *30024. Animal feeding stuffs—Determination of phytase activity. 2009*.

Kaźmierczak-Siedlecka, K., Ruszkowski, J., Fic, M., Folwarski, M., & Makarewicz, W. (2020). Saccharomyces boulardii CNCM I-745: A non-bacterial microorganism used as probiotic agent in supporting treatment of selected diseases. *Current Microbiology*, 77, 1987-1996.

Kim, W., Donalson, L., Herrera, P., Woodward, C., Kubena, L., Nisbet, D., & Ricke, S. (2004). Research note: Effects of different bone preparation methods (fresh, dry, and fat-free dry) on bone parameters and the correlations between bone breaking strength and the other bone parameters. *Poultry Science*, 83(10), 1663-1666.

Lei, X., & Stahl, C. (2001). Biotechnological development of effective phytases for mineral nutrition and environmental protection. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57, 474-481.

Lemons, M., & Moritz, J. (2016). The effect of feeder space access and crumble-or pellet-to-fine ratio on 38-day-old broiler performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 25(1), 12-20.

Lu, H., Kühn, I., Bedford, M. R., Whitfield, H., Brearley, C., Adeola, O., & Ajuwon, K. M. (2019). Effect of phytase on intestinal phytate breakdown, plasma inositol concentrations, and glucose transporter type 4 abundance in muscle membranes of weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 97(9), 3907-3919.

Mancabelli, L., Ferrario, C., Milani, C., Mangifesta, M., Turroni, F., Duranti, S., & Ventura, M. (2016). Insights into the biodiversity of the gut microbiota of broiler chickens. *Environmental Microbiology*, 18(12), 4727-4738.

Mirzaie, S., Zaghari, M., Aminzadeh, S., & Shivazad, M. (2012). The effects of non-starch polysaccharides content of wheat and xylanase supplementation on the intestinal amylase, aminopeptidase and lipase activities, ileal viscosity and fat digestibility in layer diet. *Iranian Journal of Biotechnology*, 10(3), 208-214.

Mohammadi, Ghasem Abadi, M., Riahi, M., Shivazad, M., Zali, A., & Adibmoradi, M. (2014). Efficacy of wheat based vs. corn based diet formulated based on digestible amino acid method on performances, carcass traits, blood parameters, immunity response, jejunum histomorphology, cecal microflora and excreta moisture in broiler chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4(1), 105-110.

Moita, V. H. C., Duarte, M. E., & Kim, S. W. (2021). Supplemental effects of phytase on modulation of mucosa-associated microbiota in the jejunum and the impacts on nutrient digestibility, intestinal morphology, and bone parameters in broiler chickens. *Animals*, 11(12), 3351.

Moradi, A., Moradi, S., & Abdollahi, M. R. (2018). Influence of feed ingredients with pellet-binding properties on physical pellet quality, growth performance, carcass characteristics and nutrient retention in broiler chickens. *Animal Production Science*, 59(1), 73-81.

Moré, M. I., & Vandenplas, Y. (2018). Saccharomyces boulardii CNCM I-745 improves intestinal enzyme function: a trophic effects review. Clinical Medicine Insights: *Gastroenterology*, 11, 1179552217752679.

Moss, A. F. (2020). Review of the nutrient content of Australian feed ingredients.

Nari, N., Ghasemi, H., Hajkhodadadi, I., & Farahani, A. K. (2020). Intestinal microbial ecology, immune response, stress indicators, and gut morphology of male broiler chickens fed low-phosphorus diets supplemented with phytase, butyric acid, or Saccharomyces boulardii. *Livestock Science*, 234, 103975.

Nollet, L., Huyghebaert, G., & Spring, P. (2008). Effect of different levels of dietary organic (Bioplex) trace minerals on live performance of broiler chickens by growth phases. *Journal of Applied Poultry Research*, 17(1), 109-115.

Peng, Y., Guo, Y., & Yuan, J. (2003). Effects of microbial phytase replacing partial inorganic phosphorus supplementation and xylanase on the growth performance and nutrient digestibility in broilers fed wheat-based diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16(2), 239-247.

Ptak, A., Bedford, M. R., Świątkiewicz, S., Żyła, K., & Jozefiak, D. (2015). Phytase modulates ileal microbiota and enhances growth performance of the broiler chickens. *PLoS One*, 10(3), e0119770.

Rutherfurd, S., Chung, T., Thomas, D., Zou, M., & Moughan, P. (2012). Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for broilers. *Poultry Science*, 91(5), 1118-1127.

Saeedi Aval Noughabi, K., Hassnabadi, A., Nasiri Moghaddam, H., & Pournia, K. (2015). A Comparison Between the First Iranian Commercial Phytase and an Imported Phytas on the Performance, Blood Parameters and Nutrient Digestibility of Male Broiler Chicken Fed Different Dietary Phosphorous Levels. *Research on Animal Production*, 6(11), 60-70. [In Persian]

Salmanian, M., Shams Shargh, M., Yamchi, A., & Mohammadi Ghasem Abadi, M. H. (2022). Effect of Grain Type and Phytase Enzyme on Growth Performance, Cecum Microbial Population, Carcass and Bone Characteristics of Broiler Chickens. *Research on Animal Production*, 13(38), 8-18. [In Persian]

Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463-5467.

Sanni, C. O. (2017). Evaluation of techniques for improving phosphorus utilisation in meat poultry. Nottingham Trent University (United Kingdom).

Shaw, A., Hess, J., Blake, J., & Ward, N. (2011). Assessment of an experimental phytase enzyme product on live performance, bone mineralization, and phosphorus excretion in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 20(4), 561-566.

Smeets, N., Nuyens, F., Van Campenhout, L., Delezie, E., Pannecoucque, J., & Niewold, T. (2015). Relationship between wheat characteristics and nutrient digestibility in broilers: comparison between total collection and marker (titanium dioxide) technique. *Poultry Science*, 94(7), 1584-1591.

Wu, Y., Ravindran, V., Thomas, D., Birtles, M., & Hendriks, W. (2004). Influence of phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers fed wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. *British poultry science*, 45(1), 76-84.

Zimonja, O., Stevnebø, A., & Svihus, B. (2007). Nutritional value of diets for broiler chickens as affected by fat source, amylose level and diet processing. *Canadian Journal of Animal Science*, 87(4), 553-562.