مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۶، شماره۴، ۱۴۰۰، ۴۳۱-۴۲۱
مقاله پژوهشی

بررسی مقایسه‌ای اثرات فیتاز با منابع مختلف بر عملکرد رشد، خصوصیات استخوان درشت‌نی، فراسنجه‌های خونی و خصوصیات لاشه جوجه خروس‌های گوشتی

شقایق رسولی[۱]، حمیدرضا علی‌اکبرپور[۲]، سیدمحمد حسینی[۳]

[۱] دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
[۲] گروه بهداشت و تغذیه دام و طیور، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
[۳] گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

تاریخ دریافت: ۷ مهر ماه ۱۴۰۰، **تاریخ پذیرش:** ۲۸ آذر ماه ۱۴۰۰
10.22059/jvr.2022.326829.3174 20.1001.1.20082525.1400.76.4.5.9

چکیده

زمینهٔ مطالعه: تاکنون فیتازهای متفاوتی از منابع مختلف، شناسایی و برای استفاده در تغذیه طیور معرفی شده است.

هدف: بررسی اثرات دو نوع آنزیم ۶ -فیتاز متفاوت از لحاظ منشأ تولید، روی صفات عملکردی، شاخص‌های بیومتریک، شیمیایی و میزان استحکام استخوان درشت‌نی و همچنین برخی فراسنجه‌های خونی و ترکیب لاشه جوجه‌های گوشتی انجام پذیرفت.

روش‌کار: ۲۱۶ قطعه جوجه خروس سویه راس، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار غذایی و ۶ تکرار و ۱۲ جوجه در هر تکرار، به مدت ۴۲ روز مورد بررسی قرار گرفتند. تیمارهای غذایی شامل ۱ـ جیره بدون آنزیم فیتاز (شاهد)، ۲ـ جیره حاوی ۵۰۰ واحد فعال فیتاز حاصل از قارچ *آسپرژیلوس‌نایجر* (فیتاز قارچی) در هر کیلوگرم ۳ـ جیره حاوی ۵۰۰ واحد فعال فیتاز حاصل از *آسپرژیلوس‌اوریزا* تغییر ژنوتیپ یافته با استفاده از ژن‌های باکتری *سیتروباکتربراکی* (فیتاز ژنوتیپ نوترکیب) در هر کیلوگرم، بود.

نتایج: فسفر خون جوجه‌هایی که فیتاز حاصل از ژنوتیپ نوترکیب دریافت کردند بیشتر از پرندگان شاهد بود ($P<۰/۰۵$). فسفر استخوان این گروه نسبت به فسفر استخوان جوجه‌های دریافت کننده فیتاز قارچی، بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). میزان مقاومت استخوان تحت تأثیر نیروی شکست در جوجه‌های مصرف کننده فیتاز حاصل از ژنوتیپ نوترکیب اگر چه تفاوت معنی‌داری با میزان مقاومت استخوان جوجه‌های دریافت کننده فیتاز قارچی نداشت ولی از میزان مقاومت استخوان پرندگان شاهد بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). اثر تیمارها بر صفات عملکرد، طول، قطر، خاکستر، کلسیم و وزن خشک استخوان، همچنین غلظت HDL، تری‌گلیسرید، کلسترول، کلسیم و آنزیم آلکالین‌فسفاتاز، گلوکز، پروتئین‌تام خون و ترکیب لاشه معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری نهایی: افزودن ۵۰۰ واحد فعال فیتاز حاصل از ژنوتیپ نوترکیب به هر کیلوگرم جیره در مقایسه با فیتاز حاصل از قارچ *آسپرژیلوس‌نایجر*، بدون تغییر عملکرد رشد سبب افزایش میزان فسفر خون، استخوان درشت‌نی و همچنین مقاومت استخوان درشت‌نی جوجه خروس‌های گوشتی شد.

کلمات کلیدی: فیتاز، استخوان، عملکرد، جوجه گوشتی، لاشه

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: حمیدرضا علی‌اکبرپور، گروه بهداشت و تغذیه دام و طیور، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
پست الکترونیکی: hraliakbarpour@gmail.com

مقدمه

فسفر از عناصر پر مصرف برای طیور محسوب می‌شود که علاوه بر نقش آن در رشد و توسعه بافت استخوانی، نقش مهمی در متابولیسم انرژی، سیستم عصبی و تولید تخم مرغ دارد. بخش اعظم جیره‌های غذایی طیور را منابع گیاهی شامل می‌شوند که حدود ۷۰ درصد فسفر موجود در آن‌ها در اتصال با اسید فسفریک و به صورت ترکیبی به نام فیتات (Phytate) یا اسید فایتیک (Phytic acid) است که غیر قابل هضم و جذب می‌باشد (۱۵،۳۰) و می‌تواند به شکل ترکیب با پروتئین، اسیدآمینه، کربوهیدرات و

یا مواد معدنی مانند کلسیم، منیزیم و روی، وجود داشته باشد و آن‌ها را نیز برای پرنده غیرقابل دسترس نماید (۵،۳۷). برای فیتات اثرات ضد تغذیه‌ای نیز مطرح است زیرا روی دینامیک فرایند هضم و جذب دستگاه گوارش تأثیر بازدارنده دارد (۱۳). تجمع زیاد اسید فایتیک در کانال گوارش باعث افزایش ترشح غیرطبیعی موسین می‌شود و مانعی برای تبدیل پپسینوژن معده به شکل فعال خود می‌باشد، این ترکیب به واسطه تمایل به ایجاد کمپلکس‌های معدنی سبب افزایش pH کانال گوارش می‌شود (۳۶) به این ترتیب بخش زیادی از فسفر و برخی مواد مغذی متصل با آن دست نخورده از کانال گوارش حیوان دفع می‌شوند. این رفتار فیتات علاوه بر کاهش ارزش اقتصادی جیره غذایی، موجب آلودگی محیط زیست نیز می‌شود (۵).

اسید فایتیک بیش از یک درصد جیره غذایی طیور را تشکیل می‌دهد (۳۶) که با توجه به مشکلات مطرح شده، نیاز به استفاده از راه حل‌هایی برای کاهش اثرات منفی آن می‌باشد. فیتاز آنزیمی است که قادر به هیدرولیز فیتات می‌باشد. یک واحد فعال فیتاز (FTU) معادل مقدار آنزیمی است که در هر دقیقه موجب آزاد سازی ۱ میکرومول فسفر از سوبسترای سدیم فیتات در یک محلول ۵ میکرومول بر لیتر با دمای ۳۷ درجه سلسیوس و اسیدیته ۵/۵ می‌شود (۲۴). اهمیت آنزیم فیتاز در تغذیه طیور اولین بار در سال ۱۹۶۷ مطرح شد (۵). بررسی‌های به عمل آمده نشان می‌دهد که اگرچه در کنار فیتازی که توسط برخی از میکروارگانیزم‌های روده سنتز می‌شود، سلول‌های انتروسیت ژوژنوم نیز قادر به تولید این آنزیم هستند ولی پرندگان نمی‌توانند فیتات را به طور کامل هیدرولیز نمایند (۱۶). تاکنون محققین توانسته‌اند در منابع متفاوت گیاهی و میکروبی مانند قارچ‌ها و باکتری‌ها، آنزیم‌های فیتاز را شناسایی نمایند. اگرچه محققین روی اثرات مفید آنزیم فیتاز در جیره‌های با کمبود فسفر تأکید دارند ولی نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که استفاده از فیتاز به شکل سرک (over the top) در جیره‌هایی که بر اساس استانداردهای تغذیه‌ای و بدون هیچ‌گونه تغییری در مواد مغذی تنظیم شده است نیز می‌تواند با کاهش دادن اثرات زیان‌بار ضدتغذیه‌ای فیتات، موجب بهبود شرایط اکولوژیک روده، هضم مواد خوراکی و در نهایت افزایش قابلیت استفاده از مواد مغذی جیره شود (۲،۲۰)، زیرا فیتات قادر است به برخی مواد مغذی مهم و آنزیم‌ها در کانال گوارش متصل شده و به ترتیب مانع جذب و کاهش کارآیی آن‌ها شود (۱،۱۳). ولی باید توجه داشت که به واسطه تفاوت خصوصیات فیزیکوشیمیایی میان منابع فیتاز، میزان کارآیی آن‌ها در کانال گوارش حیوان یکسان نیست. فیتاز گیاهی و میکروبی برای این که بتوانند حداکثر فعالیت خود را داشته باشند به ترتیب نیاز دارند تا در محیطی با pH حدود ۵ و ۵/۵-۲/۵ قرار داشته باشند (۳۵). از این‌رو فیتازهای تولید شده بر اساس الگوی ژنوتیپی میکروبی، با شرایط کانال گوارش پرنده بهتر سازگار هستند. فیتازهای میکروبی به دو شکل ۳- فیتاز و ۶- فیتاز موجود هستند که به ترتیب پیوندهای کربن ۳ و ۶ فیتات را هیدرولیز می‌نمایند. به عنوان مثال *اشریشیاکولای* قادر به سنتز ۶- فیتاز و *آسپرژیلوس‌فیکوم* قادر به سنتز ۳ فیتاز می‌باشند (۵). بررسی‌های به عمل آمده نشان می‌دهد کارآیی استفاده از فیتاز بستگی به عوامل مختلفی دارد که منبع تولید فیتاز یکی از آن‌ها است (۳،۲۱،۲۴،۲۵). اگر چه تاکنون بررسی‌های زیادی در خصوص تأثیرات مصرف فیتاز روی عملکرد رشد و شاخص‌های بیولوژیک پرنده به عمل آمده است ولی به دلیل این که امروزه فیتازهای متفاوتی از نظر منشأ تولید و در دسترس می‌باشند، محققین معتقدند در خصوص کارآیی فیتازهای متفاوت از نظر منشأ تولید نیاز به بررسی‌های بیشتر می‌باشد (۵). از این رو هدف از مطالعه حاضر مقایسه اثر استفاده از دو نوع فیتاز متفاوت از نظر منشأ تولید، بر عملکرد و برخی شاخص‌های بیولوژیک (فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، شاخص‌های بیومتریک، شیمیایی و میزان استحکام استخوان و ترکیب لاشه) جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌کار

مطالعه حاضر با ۲۱۶ قطعه جوجه خروس یک‌روزه نژاد گوشتی راس، ۳ تیمار غذایی، ۶ تکرار برای هر تیمار و ۱۲ جوجه گوشتی در هر تکرار، طی مدت ۴۲ روز انجام شد. کلیه برنامه‌های مدیریت براساس راهنمای پرورش جوجه‌های گوشتی نژاد راس (۲۴) در مزرعه آزمایشی شرکت بنیان دانش انجام گرفت. تیمارهای غذایی شامل: ۱ـ جیره بدون آنزیم فیتاز (گروه شاهد)، ۲- جیره حاوی فیتاز قارچ *آسپرژیلوس‌نایجر* (فیتاز قارچی) و ۳- جیره حاوی فیتاز قارچ *آسپرژیلوس‌اوریزا* تغییر ژنوتیپ یافته با استفاده از ژن‌های باکتری *سیتروباکتربراکی* (فیتار ژنوتیپ نوترکیب)، بود. جیره غذایی بر پایه ذرت و کنجاله سویا برای همه گروه‌ها از نظر اجزا و ترکیب شیمیایی مشابه بود و تفاوت میان گروه‌ها فقط در استفاده از نوع آنزیم فیتازی بود که به صورت سرک به جیره اضافه شده بودند. جیره غذایی در سه مرحله تغذیه‌ای شامل، آغازین (از ۱ تا ۱۰روزگی)، رشد (از ۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (از ۲۵ تا ۴۲ روزگی)، در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت.

نوع آنزیم ۶- فیتاز، حاصل از قارچ *آسپرژیلوس‌نایجر* با نام تجاری ناتافوس (شرکت BASF آلمان) و فیتاز حاصل از قارچ *آسپرژیلوس‌اوریزا* تغییر ژنوتیپ یافته با استفاده از ژن‌های *سیتروباکتربراکی* با نام تجاری(GT) Ronozym Hiphos (شرکت Royal DSM هلند) مورد مقایسه قرار گرفتند. بر اساس داده‌های شرکت‌های سازنده، هر گرم محصول فیتاز حاصل از *آسپرژیلوس‌نایجر* و *آسپرژیلوس‌اوریزا* تغییر ژنوتیپ یافته، به ترتیب حاوی ۱۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ واحد فعال آنزیمی بود که برحسب مقادیر توصیه شده کمپانی‌های مربوطه، فیتاز حاصل از *آسیرژیلوس‌نایجر* و *آسپرژیلوس‌اوریزا* تغییر ژنوتیپ یافته به ترتیب در مقادیر ۵۰ و ۵ گرم به هر ۱۰۰ کیلوگرم جیره آزمایشی اضافه شدند. از این‌رو میزان هر یک از آنزیم‌ها بر اساس واحد فعال آنزیمی در هر کیلوگرم خوراک با هم مشابه (۵۰۰ واحد فعال در هر کیلوگرم جیره) بود. در ابتدای ورود جوجه‌ها به داخل سالن پرورش، انفرادی وزن‌کشی شدند و جوجه‌های با وزن مشابه به صورت تصادفی در درون پن‌ها به مساحت ۱ متر مربع قرار گرفتند. در مطالعه حاضر از برنامه نوردهی دائمی و از رول کاغذی به عنوان بستر در درون پن‌ها استفاده شد.

در هنگام تغییر مرحله تغذیه‌ای طی سنین ۱۱، ۲۴ و ۴۲ روزگی (پایان آزمایش) نیز جوجه‌ها به صورت انفرادی وزن‌کشی شدند. رکوردهای مربوط به مصرف خوراک بر اساس هر پن به صورت روزانه در طول دوره آزمایش ثبت گردید. ضریب تبدیل خوراک به صورت میانگین هر قطعه پرنده در طول دوره‌های رکوردگیری محاسبه شد (۲). در انتهای مطالعه (سن ۴۲روزگی) تعداد ۲ قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی (۱۲ پرنده از هر گروه آزمایشی) به طور تصادفی انتخاب و بعد از وزن‌کشی و خون‌گیری از ورید بال، به روش بریدن گردن از ناحیه بین مهره اول و دوم کشتار شدند. خون جمع‌آوری شده از ورید بال به مدت ۶۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار داده و سپس بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه با استفاده از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) طی مدت ۱۵ دقیقه از نمونه‌های خونی، سرم تهیه شد. سرم‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در دمای ۲۴- درجه سلسیوس قرار گرفتند (۷). غلظت گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین‌تام، لیپوپروتئین با چگالی‌بالا، کلسیم، فسفر و آلکالین‌فسفاتاز سرم با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Ra-xt، شرکت تکنیکون-آمریکا) و کیت‌های اختصاصی شرکت پارس آزمون در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل و بنیان دانش قائمشهر اندازه‌گیری شد (۱۶).

پس از کشتار، پرکنی، تخلیه دستگاه گوارش، وزن اجزای مختلف لاشه (ران، سینه، بال و پشت) توسط ترازوی دیجیتال (۰±/۰۱ گرم) اندازه‌گیری و درصد اجزا لاشه محاسبه شد. استخوان درشت‌نی پای چپ دو لاشه از هر تکرار (۱۲ استخوان از هر تیمار) جدا شد و پس از برداشت عضلات و بافت‌های قابل استحصال، قطر دیافیز و همچنین طول استخوان با استفاده از کولیس (±۰/۰۱) اندازه‌گیری شد و بلافاصله درون کیسه‌های پلاستیکی قرار داده و تا زمان اندازه‌گیری خاکستر در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (۲۵). برای اندازه‌گیری خاکستر استخوان، نمونه‌ها ابتدا با استفاده از دی‌اتیل‌اتر و دستگاه سوکسله چربی‌زدایی شدند و در ادامه درون آون با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. وزن ماده خشک بدون چربی استخوان با ترازو دیجیتال (۰±/۰۰۱) اندازه‌گیری شد و در نهایت درون کوره الکتریکی با دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۶ ساعت قرار گرفت (۱۸،۲۵). برای اندازه‌گیری کلسیم و فسفر خاکستر حاصل از استخوان، به ترتیب از روش تیتراسیون و رنگ‌سنجی با معرف مولیبدات‌وانادات در طول موج ۴۲۰ نانومتر استفاده شد (۴). برای اندازه‌گیری میزان مقاومت استخوان از دستگاه مخصوص کشش و فشار (STM_250، شرکت طراحی مهندسی سنتام، ایران) در آزمایشگاه پژوهشکده متالوژی رازی تهران، استفاده شد. استخوان پس از قرارگیری در درون دستگاه، ابتدا در یک موقعیت ثابت قرار گرفت و سپس با وارد آوردن فشار بر نقطه میانی آن با سرعت ۵ میلی‌متر در دقیقه، قدرت مقاومت بر اساس واحد نیوتون توسط دستگاه ثبت گردید (۳۱). نقطه پیک در نمودارهای ۱، ۲ و ۳ نشان دهنده نیروی لازم برای شکست کامل استخوان می‌باشند.

مدل آماری طرح: داده‌های حاصل از مطالعه حاضر با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماری SAS (SAS Institute Inc., 2003) برای مدل ذیل تجزیه شدند. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد.

$$Y_{ij}= \mu+T_i+ e_{ij}$$

در این مدل Y_{ijk}، μ، T_i و e_{ij} به ترتیب مقدار هر مشاهده، میانگین کل جمعیت، اثر فیتاز و خطای آزمایش می‌باشد. قبل از تجزیه داده‌ها، نرمال بودن توزیع آن‌ها با استفاده رویه Univaraite آزمون شد.

جدول ۱. ترکیب و آنالیز شیمیایی جیره آزمایشی.

اجزاء جیره	مقادیر (درصد)		
	آغازین (۰ تا ۱۰ روزگی)	رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی)	پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)
ذرت	۵۳/۸۸	۵۷/۳۳	۶۲/۲۰
سویا	۴۰/۷۸	۳۶/۹۸	۳۱/۸۲
روغن	۱/۱	۱/۸۴	۲/۴۱
کربنات کلسیم	۰/۸۷	۰/۸۱	۰/۷۵
دی‌کلسیم فسفات	۱/۸۷	۱/۶۴	۱/۴۷
نمک طعام	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۳۸
مکمل ویتامینه[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی[2]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ال - HCL- لیزین	۰/۲۲	۰/۱۶	۰/۱۶
دی- ال- متیونین	۰/۳۵	۰/۳۱	۰/۲۸
ال- ترئونین	۰/۳۸	۰/۰۵	۰/۰۳
آنالیز شیمیایی محاسبه شده جیره			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۸۰۰	۲۹۰۰	۳۰۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۴۷	۲۰/۱۱	۱۸/۲۸
لیزین (درصد)	۱/۳۷	۱/۲	۱/۱۱
متیونین (درصد)	۰/۶۶	۰/۶۱	۰/۵۵
متیونین+سیستیین (درصد)	۰/۰۱	۰/۹۳	۰/۸۶
ترئونین (درصد)	۰/۹۰	۰/۸۲	۰/۷۳
کلسیم (درصد)	۰/۹۰	۰/۸۱	۰/۷۵
فسفر (درصد)	۰/۴۰	۰/۳۵	۰/۳۱
DEB (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم)	۲۲۲	۲۱۰	۱۹۰

[1] مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم خوراک شامل: ویتامین‌های A، ۹۰۰۰ واحد بین المللی، B_1، ۱/۸ میلی‌گرم، B_2، ۰/۰۱۵میلی‌گرم، بیوتین ۰/۱ میلی‌گرم، D_3، ۲۰۰۰ واحد بین المللی، E، ۱۸ واحد بین‌المللی، K_3، ۲ میلی‌گرم، کولین‌کلراید ۵۰۰ میلی‌گرم. [2] مکمل معدنی در هر کیلوگرم خوراک شامل: اکسید منگنز ۱۰۰ میلی‌گرم، سولفات آهن ۵۰ میلی‌گرم، اکسیدروی ۱۰۰میلی‌گرم، سولفات مس ۱۰ میلی‌گرم، یدات کلسیم ۱ میلی‌گرم، سدیم سلنیت ۰/۲ میلی‌گرم.

نتایج

صفات عملکردی: جدول ۲ رکوردهای صفات عملکردی ثبت شده در سنین ۱۱، ۲۴ و ۴۲ روزگی را نشان می‌دهد. تفاوتی در وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک و رشد در گروه‌های مختلف آزمایشی در دوره‌های مختلف پرورش مشاهده نشد.

فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون: بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۳ مقدار فسفر خون در جوجه‌های مصرف کننده فیتار ژنوتیپ نوترکیب (گروه ۳) به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بیشتر بود ($P<۰/۰۵$) ولی تفاوتی بین تیمارها از نظر غلظت HDL، تری‌گلیسرید، کلسترول، کلسیم و آنزیم آلکالین‌فسفاتاز، گلوکز، پروتئین‌تام خون مشاهده نشد.

شاخص‌های بیومتریک، شیمیایی و میزان استحکام استخوان: براساس نتایج ارائه شده در جدول ۵، تفاوتی بین تیمارها از نظر طول و قطر استخوان، درصد خاکستر، کلسیم و وزن خشک استخوان مشاهده نشد ولی میزان فسفر استخوان در جوجه‌های مصرف کننده فیتاز ژنوتیپ نوترکیب (گروه ۳) به طور معنی‌داری نسبت به جوجه‌های دریافت کننده فیتاز قارچی (گروه ۲) بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). میزان مقاومت استخوان تحت تأثیر نیروی شکست در جوجه‌های مصرف کننده فیتاز ژنوتیپ نوترکیب (گروه ۳) اگر چه تفاوت معنی‌داری با جوجه‌های دریافت کننده فیتاز قارچی نداشت ولی نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P<۰/۰۵$).

ترکیب لاشه: در مطالعه حاضر اثر تیمارها بر بازده لاشه و وزن نسبی سینه، ران، بال و پشت معنی‌دار نبود (جدول ۵).

جدول ۲. تأثیر فیتاز با منابع مختلف بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در سنین متفاوت (SD ± میانگین).

صفات عملکردی	سن (روز)	گروه آزمایش*			*P* Value
		۱	۲	۳	
مصرف خوراک (گرم)	۱۰-۱	۱۸۳ ± ۸	۱۸۵ ± ۱۳	۱۸۷ ± ۷	۰/۸۲۶
	۲۴-۱۱	۱۰۳۴ ± ۷۷	۱۰۴۸ ± ۶۵	۱۰۶۴ ± ۹۱	۰/۸۰۹
	۴۲-۲۵	۱۹۶۵ ± ۲۳۴	۱۹۹۷ ± ۱۷۲	۲۲۷۴ ± ۲۴۳	۰/۰۵۲
	۴۲-۱	۳۱۸۱ ± ۲۴۸	۳۲۲۹ ± ۲۰۵	۳۵۲۴ ± ۳۱۲	۰/۰۷۶
رشد (گرم)	۱۰-۱	۱۵۴ ± ۱۴	۱۶۲ ± ۱۶	۱۶۱ ± ۷	۰/۴۹۷
	۲۴-۱۱	۶۷۹ ± ۶۳	۶۷۵ ± ۴۴	۶۸۱ ± ۵۸	۰/۹۸۱
	۴۲-۲۵	۹۲۲ ± ۱۶۶	۹۴۵ ± ۱۴۰	۱۰۱۰ ± ۱۳۳	۰/۵۷۲
	۴۲-۱	۱۷۵۵ ± ۱۳۶	۱۷۸۱ ± ۱۸۸	۱۸۵۳ ± ۱۵۵	۰/۵۶۴
ضریب تبدیل خوراک	۱۰-۱	۱/۲۰ ± ۰/۱۰	۱/۱۵ ± ۰/۰۶	۱/۱۶ ± ۰/۰۲	۰/۴۲۷
	۲۴-۱۱	۱/۵۳ ± ۰/۰۵	۱/۵۵ ± ۰/۰۴	۱/۵۶ ± ۰/۰۵	۰/۳۷۴
	۴۲-۲۵	۲/۱۹ ± ۰/۴۸	۲/۱۴ ± ۰/۲۷	۲/۲۷ ± ۰/۲۶	۰/۸۱۷
	۴۲-۱	۱/۸۲ ± ۰/۲۲	۱/۸۲ ± ۰/۱۴	۱/۹۰ ± ۰/۱۲	۰/۶۳۸

*۱- جیره شاهد بدون استفاده از فیتاز (کنترل)، ۲- جیره شاهد همراه با فیتاز قارچی، ۳- جیره شاهد با فیتاز ژنوتیپ نوترکیب.

جدول ۳. تأثیر فیتاز با منابع مختلف بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی‌خون جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی (SD ± میانگین)[۱].

شاخص‌های بیوشیمیایی خون	گروه‌های آزمایشی*			*P* value
	۱	۲	۳	
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۹۷/۸ ± ۱۲/۶	۱۹۵/۸ ± ۱۴/۷	۱۹۰/۹ ± ۱۶/۴	۰/۵۰۹
کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۲۶/۴ ± ۱۴/۸	۱۲۵/۹ ± ۲۲/۱	۱۲۷/۰ ± ۱۶/۳	۰/۹۷۳
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۰۲/۸ ± ۱۱/۷	۱۰۳/۰ ± ۱۰/۹	۹۸/۳۳ ± ۱۰/۳	۰/۵۰۴
HDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۷۵/۸ ± ۵/۳	۷۶/۱ ± ۶/۴	۷۴/۳ ± ۶/۷	۰/۷۶۳
پروتئین تام (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴/۵ ± ۰/۵	۴/۱ ± ۰/۶	۴/۲ ± ۰/۷	۰/۱۴۲
آلکالین‌فسفاتاز (واحد در لیتر)	۱۹۵۵ ± ۱۶۱	۱۹۱۶ ± ۱۹۹	۲۰۰۶ ± ۱۷۴	۰/۵۰۴
کلسیم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۸/۸ ± ۰/۷	۸/۱ ± ۰/۷	۸/۸ ± ۰/۹	۰/۰۷۱
فسفر (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴/۳ ± ۰/۵[b]	۴/۷ ± ۰/۹[ab]	۵/۱ ± ۰/۵[a]	۰/۰۳۰

[۱] نتایج ارائه شده برای هر تیمار، میانگین ۱۲ تکرار می‌باشد. در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P<۰/۰۵$). *۱- جیره شاهد بدون استفاده از فیتاز (کنترل)، ۲- جیره شاهد همراه با فیتاز قارچی، ۳- جیره شاهد با فیتاز ژنوتیپ نوترکیب.

جدول ۴. تأثیر فیتاز با منابع مختلف بر شاخص‌های بیومتریک، شیمیایی و میزان استحکام استخوان درشتنی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی (SD ± میانگین)[۱].

شاخص‌های استخون درشتنی	گروه‌های آزمایشی			*P* value
	۱	۲	۳	
طول دیافیز (میلی‌متر)	۵۴/۶۵ ± ۲/۵۸	۵۵/۷۰ ± ۳/۵۷	۵۶/۲۵ ± ۳/۵۶	۰/۴۹۶
قطر دیافیز (میلی‌متر)	۷/۷۸ ± ۰/۱۴	۷/۷۸ ± ۰/۱۲	۷/۸۲ ± ۰/۱۵	۰/۰۹۹
طول استخوان (میلی‌متر)	۸۹/۸۸ ± ۱/۸۸	۹۰/۴۸ ± ۲/۵۲	۹۰/۲۷ ± ۲/۹۵	۰/۸۵۸
نیرو مقاومت استخوان (نیوتون)	۳۲۴/۹۶ ± ۶۴/۳۵[b]	۳۷۲/۸۸ ± ۶۵/۷۸[ab]	۴۱۳/۵۸ ± ۱۰۴/۵۹[a]	۰/۰۴۹
وزن خشک استخوان (گرم)	۵/۳۴ ± ۰/۴۱	۵/۵۷ ± ۰/۵۳	۵/۴۵ ± ۰/۶۷	۰/۵۹۴
خاکستر (درصد)	۴۰/۶۳ ± ۱/۱۴	۴۱/۲۴ ± ۳/۱۵	۴۰/۳۷ ± ۲/۹۸	۰/۷۰۱
کلسیم (درصد)	۳۱/۴۷ ± ۰/۶۰	۳۱/۲۸ ± ۰/۸۴	۳۰/۷۴ ± ۰/۷۴	۰/۰۷۲
فسفر (درصد)	۲۰/۴۳ ± ۰/۶۴[ab]	۲۰/۰۷ ± ۰/۸۳[b]	۲۱/۳۵ ± ۱/۶۲[a]	۰/۰۲۸

[۱] نتایج ارائه شده برای هر تیمار، میانگین ۱۲ تکرار می‌باشد. در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند ($P<۰/۰۵$). *۱- جیره شاهد بدون استفاده از فیتاز (کنترل)، ۲- جیره شاهد همراه با فیتاز قارچی، ۳- جیره شاهد با فیتاز ژنوتیپ نوترکیب.

جدول ۵. تأثیر فیتاز با منابع مختلف بر بازده لاشه و وزن نسبی (درصدی از وزن لاشه) اجزاء لاشه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲روزگی (SD ± میانگین)[۱].

مشخصات لاشه	گروه آزمایش			*P* Value
	۱	۲	۳	
بازده لاشه (درصد)	۶۶/۲ ± ۱/۸	۶۵/۹ ± ۱/۸	۶۵/۶ ± ۲/۴	۰/۷۶۳
سینه (درصد)	۳۷/۲ ± ۲/۲	۳۷/۵ ± ۱/۲۹	۳۸/۷ ± ۲/۳۱	۰/۱۶۸
ران (درصد)	۲۹/۹ ± ۱/۶	۳۰/۰۰ ± ۱/۱	۲۹/۰۴ ± ۱/۴	۰/۱۹۹
بال و پشت (درصد)	۳۲/۹ ± ۱/۷	۳۲/۶ ± ۱/۳۱	۳۲/۳ ± ۱/۷۵	۰/۶۵۷

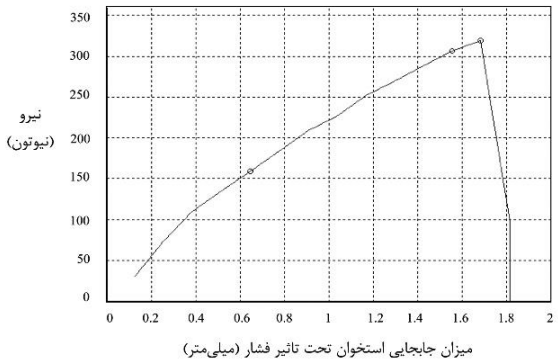
[۱] نتایج ارائه شده برای هر تیمار، میانگین ۱۲ تکرار می‌باشد. *۱- جیره شاهد بدون استفاده از فیتاز (کنترل)، ۲- جیره شاهد همراه با فیتاز قارچی، ۳- جیره شاهد با فیتاز ژنوتیپ نوترکیب.

بحث

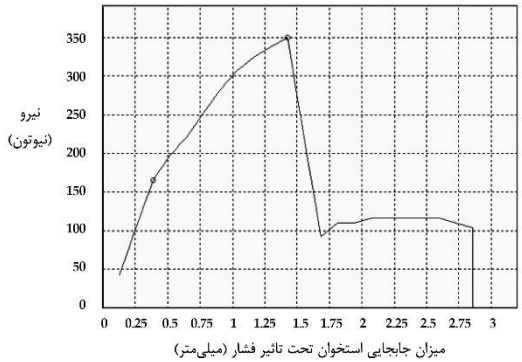
بر اساس نظر برخی محققین آنزیم فیتاز طی هیدرولیز پیوند میان فسفر و اسید فایتیک، باعث افزایش قابلیت دسترسی فسفر و برخی مواد مغذی از جمله آمینواسیدها در لوله گوارش می‌شود و از این رو ممکن است سبب بهبود عملکرد رشد جوجه‌ها نیز شود (۱۰،۱۴،۲۷) ولی با این حال بر اساس نظر برخی دیگر از محققین میزان مصرف فیتاز در جیره یکی از عوامل مهمی است که برای بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی قابل توجه است (۲۱). در مطالعه حاضر با افزودن فیتازهای مورد آزمون، به مقدار ۵۰۰ واحد فعال در هر کیلوگرم جیره، تأثیری روی شاخص‌های عملکردی مشاهده نشد. بر اساس اظهارات برخی از محققین اگر فیتاز به مقدار بیش از ۱۵۰۰ واحد فعال در هرکیلوگرم جیره‌های متعادل استفاده شود، آن وقت می‌توان شاهد بهبود عملکرد پرنده بود (۲۱) که این مقدار معادل بیش از ۳ برابر مقدار آنزیم فعال استفاده شده به ازاء هر کیلوگرم خوراک در این مطالعه می‌باشد. کفایت فسفر جیره مطابق نیاز پرنده، شاید مانعی برای عدم بروز توانایی منابع فیتاز برای بهبود صفات مهمی چون عملکرد باشد. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد طی استفاده از جیره‌هایی که مواد مغذی آن‌ها، مانند فسفر، در حد استاندارد نیاز پرنده بود، فیتاز تغییری در عملکرد حیوان ایجاد ننمود (۱۹،۲۶). در مطالعه حاضر نیز به هنگام تهیه جیره‌های غذایی، نیاز همه مواد مغذی از جمله فسفر، بر حسب توصیه استاندارد محاسبه گردید. لذا مقدار مواد مغذی جیره از عواملی می‌باشد که می‌تواند عملکرد حیوان را با استفاده از فیتاز متأثر نماید. در این رابطه Babatunde و همکاران در سال ۲۰۲۰ طی بررسی با سه نوع فیتاز متفاوت گزارش نمودند در صورتی که میزان کلسیم و فسفر جیره‌های غذایی کمتر از حد نیاز پرنده باشد استفاده از فیتاز موجب افزایش وزن بدن جوجه‌های گوشتی می‌شود. در مطالعه Boney و Moritz در سال ۲۰۱۷ نیز مشاهده شد که افزودن فیتاز به جیره‌هایی که میزان کلسیم و فسفر آن‌ها کمتر از حد توصیه شده بود، سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک شد.

برخی محققین نشان دادند استفاده از فیتاز، افزایش غلظت فسفر خون و احتمال ترسیب فسفر در بافت استخوان را ممکن می‌سازد (۱۰). در مطالعه حاضر نیز افزودن فیتار ژنوتیپ نوترکیب باعث افزایش معنی‌دار میزان فسفر خون نسبت به گروه شاهد شد، هر چند که با استفاده از فیتاز قارچی تغییر معنی‌داری در میزان فسفر خون ایجاد نشد و همچنین گزارش‌هایی نیز موجود است که طی استفاده از فیتاز، تغییری در میزان فسفر خون مشاهده نشد (۲۶،۳۲). بر اساس مطالعات انجام شده استفاده از فیتاز در جیره‌های متعادل از نظر مواد مغذی، بر حسب میزان کارآیی آن، اگر چه باعث افزایش آزاد سازی فسفر اسید فایتیک در روده و افزایش قابلیت دسترسی فسفر می‌شود، ولی در صورتی‌که میزان فسفر خون بیش از نیاز برای ترسیب به همراه کلسیم در استخوان باشد، زمینه‌های دفع بیشتر فسفر از طریق ادرار فراهم می‌آید (۲۶). از این‌رو توصیه می‌شود برای رسیدن به نتیجه کامل‌تر، در مطالعات بعدی میزان فسفر دفعی پرنده نیز اندازه‌گیری شود. همچنین بر اساس یافته‌های محققین اگر میزان کلسیم مصرفی در جیره‌های بر پایه ذرت و سویا برای تأمین نیازهای پرنده کافی باشد استفاده از فیتاز در جیره بر میزان کلسیم خون تأثیری ندارد (۹). در این مطالعه نیز میزان کلسیم خون تحت تأثیر مصرف فیتاز قرار نگرفت. برخی محققین نیز گزارش نمودند که کلسیم خون تحت تأثیر فیتاز جیره قرار نگرفت (۳۳).

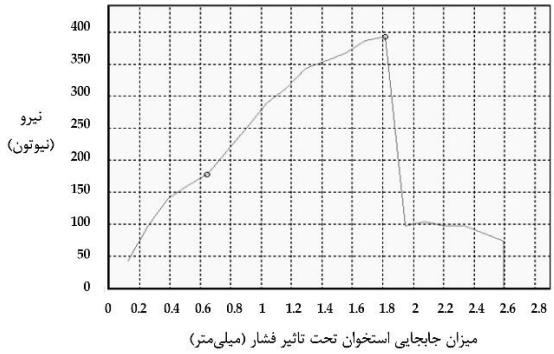
آلکالین‌فسفاتاز اگرچه یکی از آنزیم‌هایی است که برای سنجش آسیب کبد مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد ولی از جمله فسفاتازهای آندوژن بوده که در روده کوچک موجب آزادسازی فسفر از اینوزیتول‌منوفسفات و تولید اینوزیتول می‌شود (۳۶). Daramola در سال ۲۰۱۷ طی مطالعه‌ای گزارش نمود که افزایش



نمودار ۱. میزان مقاومت استخوان درشت‌نی گروه کنترل (شکست کامل استخوان تحت نیروی ۳۱۸ نیوتون بر میلی‌متر).



نمودار ۲. میزان مقاومت استخوان درشت‌نی گروه مصرف کننده فیتاز بر پایه قارچی (شکست کامل استخوان تحت نیرو ۳۴۹ نیوتون بر میلی‌متر).



نمودار ۳. میزان مقاومت استخوان درشت‌نی گروه مصرف کننده فیتاز ژنوتیپ نوترکیب (شکست کامل استخوان تحت نیرو ۳۹۲ نیوتون بر میلی‌متر).

قابلیت دسترسی فسفر طی استفاده از فیتاز ممکن است نیاز پرنده به استفاده از فسفاتازهای آندوژن را کاهش دهد لذا با استفاده از فیتاز میزان آلکالین‌فسفاتاز خون کاهش می‌یابد. اما مطالعاتی نیز در دسترس است که نشان می‌دهد افزودن فیتاز به جیره تأثیر معنی‌داری در غلظت آنزیم آلکالین‌فسفاتاز خون ندارد (۱۰) در این مطالعه نیز مقدار آلکالین‌فسفاتاز خود تحت تأثیر مصرف فیتازهای مورد بررسی قرار نگرفت.

متغیرهای بیوشیمیایی خون در واقع شاخص‌های ناپایداری هستند که تغییرات آن‌ها می‌تواند متأثر از عوامل داخلی و خارجی مانند تغذیه حیوان باشد (۱۰). برخی از محققین نتیجه گرفتند مصرف فیتاز باعث افزایش پروتئین‌تام، گلوکز و HDL خون می‌شود (۱۰،۱۲). ولی در این مطالعه، غلظت پروتئین‌تام، HDL، تری‌گلیسرید، کلسترول و گلوکز خون تحت تأثیر مصرف فیتاز قرار نگرفت. این نتایج مشابه با گزارش‌های برخی محققین می‌باشد (۶،۲۶). بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که تفاوت در نتایج حاصل از مطالعه شاخص‌های بیوشیمیایی خون متأثر از مصرف فیتاز در آزمایش‌های گوناگون، می‌تواند ناشی از تفاوت منبع آنزیم فیتاز، مقدار آنزیم مصرفی، چگونگی افزودن آنزیم به جیره و روش‌های اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون باشد (۱۰،۲۶).

بیش از ۳۰ درصد فسفر جیره (۳۴) و ۸۰ درصد فسفر بدن (۲۲) در استخوان‌ها ذخیره می‌شود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر میزان فسفر استخوان در گروه مصرف کننده فیتار ژنوتیپ نوترکیب (گروه ۳)، به طور معنی‌داری بیشتر از گروه فیتاز قارچی (گروه۲) بود. پیش‌تر نیز محققین نشان دادند قدرت آزادسازی فسفر از مولکول اسید فایتیک به منظور استفاده در بدن، می‌تواند متأثر از نوع آنزیم فیتاز متغیر باشد و فیتازهای حاصل از ژنوتیپ باکتریایی در pH متفاوت قسمت‌های مختلف کانال گوارش، از چینه‌دان تا بخش‌های پایین‌تر، در این رابطه از فعالیت خوبی برخوردار هستند (۵). میزان فسفر استخوان در فرآیند معدنی شدن و مقاومت استخوان در برابر نیروی شکست تأثیر مهمی دارد (۳۶). از این رو میزان استحکام استخوان شاخص مهمی است که می‌تواند معرف میزان آزاد سازی فسفر تحت تأثیر آنزیم فیتاز و استفاده از آن توسط پرنده باشد (۵). نتایج مطالعات محققین نشان داد که با کاهش فسفر غیر آلی جیره غذایی، در برخی شرایط و حتی بدون تغییر عملکرد پرنده، میزان خاکستر و استحکام استخوان کاهش می‌یابد (۱۱،۲۵،۲۶). برخی از محققین گزارش نمودند، با استفاده

از آنزیم فیتاز و افزایش دسترسی فسفر مقاومت استخوان افزایش می‌یابد (۸،۲۱). در این مطالعه نیز میزان مقاومت استخوان تحت تأثیر نیروی شکست در گروه مصرف کننده فیتاز ژنوتیپ نوترکیب (گروه ۳)، که از فسفر بیشتری در خون نیز برخوردار بود، نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. افزایش فسفر خون می‌تواند زمینه‌ساز افزایش مقاومت استخوان باشد (۱۱).

برخی محققین، عنوان نمودند که افزودن فیتاز به جیره باعث افزایش درصد خاکستر، کلسیم و شاخص‌هایی مانند طول و قطر استخوان درشت‌نی می‌شود (۱۳،۲۳). اما در این مطالعه فیتازهای با منشأ متفاوت، تأثیری روی قطر دیافیز، طول استخوان، درصد خاکستر، درصد کلسیم و وزن خشک استخوان نداشت. نتایج این مطالعه مشابه با برخی از محققین می‌باشد (۲۳،۳۵) بر اساس نظر پژوهشگران نوع استخوان مورد آزمون و نژاد جوجه‌های گوشتی نقش مهمی روی نتایج حاصل از فیتاز بر شاخص‌های مورفولوژیک و شیمیایی استخوان دارد (۱۷،۲۵،۲۹). ساختمان استخوان در نژادهای مختلف جوجه‌های گوشتی متفاوت از هم بوده (۸،۱۰) و نشان داده شده است که استفاده از استخوان ران نسبت به دیگر استخوان‌های بدن برای مطالعه در سن ۴۲ روزگی مناسب‌تر از استخوان درشت‌نی است زیرا در این سن هنوز استخوان لگن در مقایسه با دیگر استخوان‌ها در حال مینراله شدن می‌باشد (۲۹).

براساس نتایج مطالعات به عمل آمده، استفاده از فیتاز به واسطه بهبود قابلیت هضم پروتئین و جذب آمینواسیدهای ضروری، خصوصاً لیزین، ممکن است سبب افزایش استحصال گوشت و لاشه جوجه‌های گوشتی شود. طی مطالعه Marchal و همکاران در سال ۲۰۲۰ با استفاده از فیتاز میزان گوشت سینه افزایش یافت. ولی در مطالعات برخی از محققین با استفاده از فیتاز تغییری در شاخص‌های لاشه ایجاد نشد (۱۰،۲۸). در مطالعه حاضر نیز با استفاده از فیتازهای با منشأ متفاوت، تغییری در میزان شاخص‌های اندازه‌گیری شده لاشه مشاهده نشد. با ملاحظه به نتایج حاصل از بررسی‌های مختلف باید توجه داشت که از لحاظ فیزیکی و شیمیایی ارتباطات پیچیده‌ای میان فیتاز، فیتات، مواد معدنی و دیگر مواد مغذی در کانال گوارش وجود دارد (۲۴) و نتایج متفاوت حاصل از مصرف فیتاز در مطالعات محققین مختلف را می‌توان در دو بخش عوامل تغذیه‌ای مانند مقدار، نوع و منشأ فیتاز مصرفی، ترکیب جیره، مقدار کلسیم، فسفر و ویتامین D3 جیره غذایی و عوامل بیولوژیک مانند مقدار فیتاز طبیعی بدن، وضعیت سلامتی و نژاد جوجه‌های گوشتی مورد ارزیابی قرار داد (۳،۵،۱۷،۱۹،۲۱،۲۵).

به طور کلی براساس نتایج مطالعه حاضر افزودن ۵۰۰ واحد فعال فیتاز حاصل از *آسپرژیلوس اوریزا* تغییر ژنوتیپ یافته با ژن‌های باکتری *سیتروباکتربراکی*، به هر کیلوگرم جیره جوجه خروس‌های گوشتی در مقایسه با فیتاز حاصل از قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، می‌تواند سبب افزایش میزان فسفر خون و فسفر استخوان درشت‌نی و همچنین مقاومت استخوان شود ولی تفاوتی بین این دو آنزیم از نظر تأثیرگذاری بر عملکرد جوجه‌های گوشتی وجود ندارد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای دکتر رامشگر مدیریت آزمایشگاه‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل و همکاران مربوطه به جهت همکاری در اجرای مطالعه حاضر تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Abdollahi, M.R., Duangnumsawang, Y., Kwakkel, R.P., Steenfeldt, S., Bootwalla, S.M., Ravindran, V. (2016). Investigation of the interaction between separate calcium feeding and phytase supplementation on growth performance, calcium intake, nutrient digestibility and energy utilisation in broiler starters. Anim Feed Sci Technol, 219, 48-58. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.05.017 PMID: 29786478
2. Al-Harthi, M.A., Attia, Y.A., El-Shafey, A.S., Elgandy, M.F. (2020). Impact of phytase on improving the utilisation of pelleted broiler diets containing olive by-products. Ital J Anim Sci, 19(1), 310-318. https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1740896
3. Alamian, M.A., Khadem A.A., Sharifi S.D. (2012). Effect of natafous and safizyme in rice bran based rations of broilers. J Anim Pro, 14, 1-10. (In Persian)
4. Azartosht, S., Karimi, A., Sadeghi, G. (2017). Effects of dietary anion-cation balance during starter period on performance, small intestine morphology, serum electrolyte level, and tibial mineralization in broiler chicks. Iran J Anim Sci, 48, 19-28. (In Persian) https://doi.org/10.22059/ijas.2017.216280.653470
5. Babatunde, O.O., Jendza, J.A., Ader, P., Xue, P., Adedokun, S.A., Adeola, O. (2020). Response of broiler chickens in the starter and finisher phases to 3 sources of microbial phytase. Poult Sci, 99, 3997-4008. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.05.008 PMID: 32731987

6. Brodacki, A., Batkowska, J., Drabik, K. (2019). The impact of phytase feed supplementation on serum parameters, carcass characteristics and tissue mineral composition in female turkeys. Europ Poult Sci, 8, 31-9.
7. Boney, J.W., Moritz, J.S. (2017). Phytase dose effects in practically formulated diets that vary in ingredient composition on feed manufacturing and broiler performance. J Appl Poult Res, 26, 273-285. http://dx.doi.org/10.3382/japr/pfw071
8. Burton, E.J., Scholey, D.V., Belton, D.J., Bedford, M.R., Perry, C.C. (2020). Efficacy and stability of a novel silica supplementfor improving bone development in broilers. Br Poult Sci, 61(6), 719-724. https://doi.org/10.1080/00071668.2020.1799328 PMID: 32706262
9. Chaves, N.R.B., Nascimento, K.M.R.S., Kiefer, C., Rosa M.S., Feitas, H.B., Paiva, L.L., Silva, T.R., Silva, L.A.R., Aleal, M.V. Souza A.I., Zanoelo F.F. (2020). Phytase and xylanase in diets with nutritional adjustments and their effects on serum biochemistry, morphometry and intestinal health of broilers. An Acad Bras Cienc, 92 (Suppl.1) https://dio.org/10.1590/0001-3765202020190278 PMID: 32638858
10. Ciurescu, G., Vasilachi, A., Grosu, H. (2020). Efficacy of microbial phytase on growth performance, carcass traits, bone mineralization, and blood biochemistry parameters in broiler turkeys fed raw chickpea (*Cicer arietinum L.*, cv. Burnas) diets. J Appl Poult Res, 29, 171-184. https://doi.org/10.1016/j.japr.2019.10.004
11. David, L.S., Abdollahi, M.R., Bedford, M.R., Ravindran, V. (2021). True ileal calcium digestibility in soybean meal and canola meal, and true ileal phosphorous digestibility in maize-soybean meal and maizecanola meal diets, without and with microbial phytase, for broiler growers and finishers. Bri poul Sci, 62, 293-303. https://doi.org/10.1080/00071668.2020.1849559 PMID: 33196290
12. Daramola, O.T. (2017). Haematological parameters, serum metabolites and enzyme activities of broiler chicken fed with or without phytase. Asia J Adv in Agri Res, 2(4), 1-7.
13. Dersjant-Li, Y, Belloa, A., Esteve-Garcia, E. Creus, C.R., Marchal, L. (2021). A novel consensus bacterial 6-phytase variant totally replaced supplemental inorganic phosphate from one day of age in both male and female broilers. Bri poul Sci. 63, 166-171. https://doi.org/10.1080/00071668.2021.1929841 PMID: 33988059
14. Ghaly, K.A., Osman, A.M.A., Abd EL-Latif, S.A., Mohammed, Kh.A., Abd El-Latif, M.A. (2017). Effect of phytase and enzymes mixture supplementation on some physiological responses of broiler chicks. Egypt Poult Sci, 37 (2), 379-390.
15. Gautier, A.E., Walk , C.L., Dilger, R.N. (2018). Effects of a high level of phytase on broiler performance, bone ash, phosphorus utilization, and phytate dephosphorylation to inositol. Poult Sci, 97(1), 211-218. https://doi.org/10.3382/ps/pex291 PMID: 29077957
16. Gonzalez-Uarquin, F., Molano, E., Heinrich, F., Sommerfeld, V., Rodehutscord, M., Hube K. (2020). Research note: Jejunum phosphatases and systemic myo-inositol in broiler chickens fed without or with supplemented phytase. Poult Sci, 99, 5972-5976. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.045 PMID: 33142514
17. Kasraei, M., Sariri, R., Hesabi-Namaghi, A.R., Nasiri, M.R., Asodeh, A. (2019). Effect of recombinant fungal and bacterial phytase enzymes alon with commercial sample on performance and bone and serum calcium and phosphorus concentrations in broiler chicks. Anim Prod Res, 8, 79-90. (In Persian) https://doi.org/10.22124/ar.2019.12430.1381
18. Khorshidi, F., Karimi –Torshizi, M.A., Ahmadi, H., Arak, H., Mojgani, N. (2020). The efficiency of probiotic and toxin binders (Organic and Inorganic) in amelioration of aflatoxin impact on performance, serum biochemistry and tibia characteristics in broiler chickens. J Vet Res, 75(3), 431-441. (In Persian) https://doi.org/10.22059/JVR.2019.273836.2888
19. Lee, S.A., Dunne, J., Febery, E., Wilcock, P., Mottram, T., Bedford , M.R. (2018). Superdosing phytase reduces real-time gastric pH in broilers and weaned piglets. Br Poult Sci, 59(3), 330-339. https://doi.org/10.1080/00071668.2018.1440379 PMID: 29432032
20. Lima, G. S., Lima, M.R., Gomes, G.A., Cavalcante, D.T., Guerra, R.R., da Silva, J. H.V., Costa, F.G.P. (2021). Superdosing of bacterial phytase (EC 3.1. 3.26) in broiler diets with reduced levels of digestible amino acids. Livest Sci, 253, 104714. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104714
21. Liu, Y.F., Zhang, y K.Y., Zhang, Y., Bai, S.P., Ding, X.M., Wang, J.P., Peng, H.W., Xuan, Y., Su, Z.W., Zeng, Q.F. (2020). Effects of graded levels of phytase supplementation on growth performance, serum biochemistry, tibia mineralization, and nutrient utilization in Pekin ducks. Poul Sci, 99, 4845-4852. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.047 PMID: 32988521
22. Malayeri, F., Modirsanei, M., Mohsen Farkhoy, M., Rezaeiyan, M., Hashemzadeh, M., Jila Honarzad, J. (2020). Evaluation of calcium and phosphorus digestibility in di-calcium phosphate samples produced in Iran in male broilers with ileal and total gastro-intestinal tract methods. J Vet Res, 75(3), 452-462. (In Persian) https://doi.org/10.22059/JVR.2019.259902.2808
23. Manobhavan, M., Elangovan، A.V., Sridhar, M.,Shet, D.,Ajith, S., Pal, D.T., Gowda, N. K.S. (2016). Effect of super dosing of phytase on growth performance, ileal digestibility and bone characteristics in broilers fed corn-soya-based diets. J Anim Physiol Anim Nutr, 100(1), 93-100. https://doi.org/10.1111/jpn.12341 PMID: 25916327
24. Marchal, L., Bello, A., Sobotik, E.B., Archer, G., Dersjant-Li, Y. (2021). A novel consensus bacterial 6-phytase variant completely replaced inorganic phosphate in broiler diets, maintaining growth performance and bone quality: data from two independent trials. Poult Sci, 100, 100962. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.059 PMID: 33652522
25. Mohammed, A.A., Zaki, R.S., Negm, E.A., Mahmoud, M.A., Chen, H.W. (2021). Effects of dietary supplementation of a probiotic (Bacillus subtilis) on bone mass and meat quality ofbroiler chickens. Poul Sci, 100, 1-11. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.11.073 PMID: 33518351
26. Momeneh, T., Karimi, A., Sadeghi, G., Vaziry, A., Bedford, M.K. (2018). Evaluation of dietary Calcium level and source of phytase on growth performance, serum metabolits and ileum mineral contents in broiler chicks adequate phosphorus diet form one to 28 days of age. Poult Sci, 97, 1283-1289. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex432 PMID: 29365161
27. Moss, A.,F., Chrystal, P.V., Dersjant-Li, Y., Liu, S.Y, Selle, P.H. (2019). The ranked importance of dietary factors influencing the performance of broiler chickens offered phytase-supplemented diets by the Plackett-Burman screening design. Br Poult Sci, 60(4), 439-448. https://doi.org/10.1080/00071668.2019.1605154 PMID: 30966791

28. Poernama, F., Wibowo, T.A., Liu, Y.G. (2021). The effect of feeding phytase alone or in combination with nonstarch polysaccharides-degrading enzymes on broiler performance, bone mineralization, and carcass traits. J Appl Poult Res, 30, 100134. https://doi.org/10.1016/j.japr.2020.100134
29. Scholey, D.V., Burton, E.J. (2017). The effect of bone choice on quantification of mineralization in broiler chickens up to 6 weeks of age. J Appl Poult Res, 26, 485-490. http://dx.doi.org/10.3382/japr/pfx020
30. Sens, R.F., Bassi, L.S., Almeida, L.M., Rosso, D.F., Teixeira, L.V., Maiorka, A. (2021). Effect of different doses of phytase and protein content of soybean meal on growth performance, nutrient digestibility, and bone characteristics of broilers. Poul Sci, 100, 100917. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.015 PMID: 33518330
31. Shaw, A.L., Blake, P.J., Moran, E.T. (2010). Effects of flesh attachment in bone breaking and phosphorus concentration on performance of broilers hatched from young and old flocks Poult Sci, 89(2), 295- 302. https://doi.org/10.3382/ps.2009-00402 PMID: 20075282
32. Sommerfeld, V., K¨unzel, S., Schollenberger, M., Kuhn, I., Rodehutscord, M. (2018). Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. Poult Sci, 97, 920-929. http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex390 PMID: 29300969
33. Sousa, J.P.L.D., Albino, L.F.T., Vaz, R.G.M.V., Rodrigues, K.F., Silva, G.F.D.A, Renno, L. N., Barros, V.R.S.M., Kaneko, I.N. (2015). The effect of dietary phytase on broiler performance and digestive and blood biochemistry characteristics. Poult Sci, 17, 69-76. https://doi.org/10.1590/1516-635x170169-76
34. Wang, J., Patterson, R., Kim, W.K. (2021). Effects of phytase and multicarbohydrase on growth performance, bone mineralization, and nutrient digestibility in broilers fed a nutritionally reduced diet. J Appl Poult Res, 30, 100146. https://doi.org/10.1016/j.japr.2021.100146
35. Weremko, D., Fandrejewski, H., Raj, S., Skiba, G. (2001). Enzymatic efficiency of plant and microbial phytase in cereal-rapeseed diets for growing pigs. J Anim Feed Sci, 10, 649-660. https://doi.org/10.22358/jafs/68017/2001
36. Zanu, H.K., Kheravii, S.K., Morgan, N. K., Bedford, M.R., Swick, R.A. (2020). Interactive effect of dietary calcium and phytase on broilerschallenged with subclinical necrotic enteritis: part 2. Gut permeability, phytate ester concentrations, jejunal gene expression, and intestinal morphology. Poult Sci, 99, 4914-4928. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.030 PMID: 32988528
37. Zarei M.A., Mohammadi R. (2019). Screening for wheat phytase, inhibitory or activating effect, among methanol extract of some kurdistan province native plants. J Vet Res, 74(4), 554-62. (In Persian) https://10.22059/jvr.2018.250154.2750