



تاثیر یک پروبیوتیک نو ترکیب با توانایی ترشح آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم فسفر فیتاته، عملکرد استخوان و محتوی پلاسمای خون جوجه‌های گوشتی

مسعود محمدی زیارت^۱، دکتر حسن کرمانشاهی^۲، دکتر حسن نصیری مقدم^۲، دکتر رضا مجید زاده هروی^۲

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه طیور، دانشگاه فردوسی مشهد

^۲هیئت علمی دانشگاه فردوسی مشهد

ایمیل نویسنده مسئول: rmajidzadeh@um.ac.ir

چکیده

آزمایشی به منظور بررسی تاثیر پروبیوتیک نو ترکیب لاکتوکوکوس لاکتیس با قابلیت ترشح آنزیم فیتاز به تنهایی و یا به صورت مخلوط با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس سالیاریوس بر قابلیت هضم فسفر فیتاته، محتوی پلاسمای خون و شاخص‌های استخوان جوجه‌های گوشتی انجام شد. در این آزمایش از تعداد ۳۶۰ عدد جوجه خروس گوشتی سویه کاب ۵۰۰ با ۶ تیمار، ۶ تکرار و در هر تکرار ۱۰ عدد پرنده استفاده گردید. تیمارهای آزمایشی شامل: تیمار تغذیه شده با سطح توصیه شده از فسفر قابل دسترس (کنترل مثبت)، جیره کمبود فسفر حاوی سطوح فسفر قابل دسترس ۰/۳۳، ۰/۳۰ و ۰/۲۷ به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی (کنترل منفی)، جیره کمبود به همراه پروبیوتیک نو ترکیب لاکتوکوکوس لاکتیس (RLL)، جیره کمبود به همراه مخلوط پروبیوتیکی لاکتوکوکوس لاکتیس و لاکتوباسیلوس سالیاریوس (RLL+LBS)، جیره کمبود به همراه پروبیوتیک سویه وحشی لاکتوکوکوس لاکتیس (WLL) و جیره کمبود به همراه سطح ۵۰۰ FTU از آنزیم فیتاز تجاری هوستازایم پی مقایسه شد. نتایج نشان داد که کاهش سطح فسفر قابل دسترس در تیمار کنترل منفی سبب کاهش طول، کاهش نیروی شکافتن استخوان، کاهش درصد کلسیم و فسفر و افزایش نسبت کلسیم به فسفر خاکستر استخوان درشت نی و افزایش مقدار کلسیم پلاسمای خون به نسبت تیمار کنترل مثبت گردید. تیمارهای حاوی آنزیم فیتاز تجاری، پروبیوتیک RLL و مخلوط پروبیوتیکی RLL+LBS توانستند سبب افزایش طول، نیروی شکافتن استخوان و درصد کلسیم خاکستر استخوان درشت نی نسبت به تیمار کنترل منفی شوند و قابلیت هضم فسفر فیتاته را نسبت به هر دو تیمار کنترل مثبت و منفی افزایش دهند. تیمار حاوی مخلوط پروبیوتیکی RLL+LBS و فیتاز تجاری توانستند سبب کاهش نسبت کلسیم به فسفر خاکستر استخوان درشت نی نسبت به تیمار کنترل منفی شوند. علاوه بر این‌ها وزن خشک عاری از چربی و درصد فسفر خاکستر استخوان درشت نی در تیمار حاوی آنزیم فیتاز تجاری نسبت به تیمار کنترل منفی بهبود نشان داد. هیچ‌کدام از تیمارها توانایی تغییر مقدار کلسیم و فسفر پلاسمای خون را نداشتند. نتایج موید این بود که پروبیوتیک RLL قادر به ترشح فیتاز خارج سلولی در شرایط مزرعه‌ای بوده و چنانچه به صورت یک مخلوط پروبیوتیکی مورد استفاده قرار گیرد توانایی رقابت با فیتازهای تجاری مرسوم در بازار را دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، جوجه‌های گوشتی، فسفر قابل دسترس، فیتات، فیتاز

مقدمه

بخش قابل توجهی از فسفر گیاهان به علت اتصال به فیتات برای حیوانات تک‌معدده‌ای غیرقابل هضم بوده و افزودن منابع فسفاتی به جیره سبب گران شدن آن و آلودگی محیط زیست می‌شود (ناهام، ۲۰۰۷). فیتاز آنزیمی است که مولکول فیتات را هیدرولیز نموده و سبب آزاد شدن فسفر و سایر مواد مغذی متصل به آن می‌شود (کامدن و همکاران، ۲۰۰۱). با توسعه روش‌های انتقال ژن به میکروارگانیسم‌ها که ذاتا فاقد ترشح آنزیم فیتاز هستند می‌توان این ژن را در آنها بیان نمود، از جمله



بیان ژن فیتاز در پروبیوتیک‌ها که بهبود عملکرد به علت فواید پروبیوتیک را نیز در پی دارد. دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در سنین ابتدایی بسیار مستعد آلودگی به عوامل میکروبی که دارای جایگاه‌های مختلف اتصال در روده هستند می‌باشد. بنابراین استفاده از یک مخلوط پروبیوتیکی که دارای اثر گذاری در قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش باشد نیز ضروری به نظر می‌رسد. یون و همکاران (۲۰۱۱) با انتقال ژن AppA از باکتری *اشیریشیا کلای*^۱ به نوعی جلبک (*کلامیدوموناس رینهاردتی*)^۲ فیتاز نو ترکیبی ایجاد نمودند که بعد از افزودن به جیره سبب کاهش دفع فسفر فیتاته به میزان ۴۳٪ کمتر از جوجه‌های تغذیه شده با جیره پایه شد. در آزمایشی دیگر در سال ۲۰۱۳ اسکلسون و همکاران، اثر باکتری نو ترکیب لاکتوباسیلوس تولید کننده آنزیم فیتاز را بر روی جوجه‌های گوشتی بررسی کرد و نتایج نشان داد که پروبیوتیک نو ترکیب سبب افزایش وزن بیشتری در مقایسه با گروه شاهد شد. هدف از این تحقیق مقایسه پروبیوتیک نو ترکیب لاکتوکوکوس لاکتیس (به تنهایی و یا به صورت مخلوط با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *سالیاریوس* با آنزیم فیتاز تجاری *هوستازایم پی* (*Hostazym® P*) در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی کمبود فسفر بود.

مواد و روش‌ها

باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس سویه وحشی (شرکت موبی‌تک)، لاکتوباسیلوس *سالیاریوس* (مجیدزاده و همکاران، ۱۳۹۰) و پروبیوتیک نو ترکیب لاکتوکوکوس لاکتیس با قابلیت تولید آنزیم فیتاز با منشاء *اشیریشیا کلای* (پاک‌باطن و همکاران، ۲۰۱۸) در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمایش تعداد ۳۶۰ قطعه جوجه خروس سویه کاب Cobb 500 به ۶ تیمار و ۶ تکرار و در هر تکرار ۱۰ پرند تقسیم شدند. شرایط پرورش بر طبق راهنمای پرورش سویه کاب ۵۰۰ صورت گرفت. تیمارها شامل: ۱- جیره حاوی سطح فسفر قابل دسترس توصیه شده سویه کاب ۵۰۰ (کنترل مثبت)، ۲- تیمار کنترل منفی (حاوی سطح فسفر قابل دسترس ۰/۳۳، ۰/۳۰ و ۰/۲۷ درصد به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی)، ۳- جیره کمبود حاوی پروبیوتیک نو ترکیب لاکتوکوکوس لاکتیس مولد آنزیم فیتاز (RLL)، ۴- جیره کمبود حاوی مخلوط پروبیوتیک نو ترکیب لاکتوکوکوس لاکتیس و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *سالیاریوس* (RLL+LBS)، ۵- جیره کمبود حاوی پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس سویه وحشی (WLL)، ۶- جیره کمبود حاوی آنزیم فیتاز تجاری *هوستازایم پی* (۵۰۰ واحد در کیلوگرم).

جدول ۱. اقلام خوراکی (g/kg) جیره غذایی

اجزای جیره غذایی (%)	۱-۱۰ روزگی (آغازین)		۱۱-۲۲ روزگی (رشد)		۲۳-۴۲ روزگی (پایانی)	
	جیره کمبود	جیره نرمال	جیره کمبود	جیره نرمال	جیره کمبود	جیره نرمال
ذرت	۶۰	۶۰	۶۳/۶۵	۶۳/۶۵	۶۶/۳۳	۶۶/۳۳
سویا	۳۴/۰۲	۳۳/۶۵	۲۹/۵۸	۲۹/۵۸	۲۶/۵۸	۲۶/۵۸
روغن	۲/۱۱	۲/۲۰	۲/۸۳	۲/۸۳	۳/۵۹	۳/۵۹
ماسه	۰	۰	۰/۲۵	۰	۰/۲۸	۰
نمک	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۴	۰/۳۴
دی کلسیم فسفات	۱/۱۷	۱/۷۸	۱/۱۸	۱/۸۳	۰/۹۸	۱/۶۲
کربنات کلسیم	۱/۱۵	۰/۸۰	۱/۰۳	۰/۶۳	۰/۹۴	۰/۵۸
دی ال متیونین	۰/۳۳	۰/۳۳	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۲۴	۰/۲۴
ال لایزین هیدروکلراید	۰/۲۷	۰/۲۹	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۱۸	۰/۱۸
ال ترئونین	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۷	۰/۰۴	۰/۰۴

^۱ *Escherichia coli*

^۲ *chlamydomonas reinhardtii*



۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	مکمل معدنی ^۱ و ویتامینه ^۲
						ترکیبات محاسبه شده مواد مغذی
۳۱۶۷	۳۱۶۷	۳۰۹۳	۳۰۹۳	۳۰۰۸	۳۰۰۸	انرژی قابل سوخت و ساز (kcal /kg)
۱۸/۰۰	۱۸/۰۰	۱۹/۷۴	۱۹/۷۴	۲۱/۰۰	۲۱/۱۶	پروتئین خام (%)
۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۸۴	۰/۸۴	۰/۹۰	۰/۹۰	کلسیم (%)
۰/۳۸	۰/۲۷	۰/۴۲	۰/۳۱	۰/۴۵	۰/۳۴	فسفر قابل دسترس (%)
۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲۳	فسفر فیتاته (%)

- هر کیلو گرم مکمل ویتامینه حاوی: IU ۳۶۰۰۰۰۰ ویتامین A، IU ۸۰۰۰۰۰ ویتامین D3، IU ۱۴۴۰۰ ویتامین E، mg ۸۰۰ ویتامین k، mg ۷۰۰ ویتامین B1، mg ۲۶۴۰ ویتامین B2، mg ۳۹۲۰ ویتامین B3، mg ۱۱۸۶۰ ویتامین B5، mg ۱۱۷۶ ویتامین B6، mg ۴۰۰ ویتامین B9، mg ۴۰ ویتامین H2، mg ۶ ویتامین B12، mg ۱۰۰۰۰۰ کولین کلراید ۰/۶۰٪، mg ۴۰۰ آنتی اکسیدان بود.

^۲- هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی: mg ۳۹۶۸۰ منگنز، mg ۲۰۰۰۰ آهن، mg ۳۳۸۸۰ روی، mg ۴۰۰۰ مس، mg ۳۹۶۰۰ ید، mg ۱۰۰۰۰۰ کولین کلراید، mg ۸۰ سلنیوم و g ۱۰۰۰ کریر (سبوس گندم و کربنات کلسیم) بود.

اندازه‌گیری قابلیت هضم فسفر فیتاته

آزمایش قابلیت هضم پرندگان در روزهای ۱۶ تا ۲۱ به روش جمع آوری کل فضولات انجام شد و بعد از تعیین ماده خشک، میزان قابلیت هضم فسفر فیتاته به روش تصحیح شده گائو و همکاران (۲۰۰۷) تعیین شد.

فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده در پلاسمای خون

خونگیری از سیاهرگ بال درون لوله‌های حاوی مواد ضد انعقاد انجام سپس پلاسما بوسیله سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت. مقادیر فسفر معدنی پلاسما با استفاده از روش رنگ سنجی و برای قرائت مقادیر جذب نوری نمونه‌های مورد نظر از دستگاه اسپکتروفوتومتر (model Epoch Biotech) استفاده گردید و مقادیر کلسیم پلاسما با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (model Biosystem A15) انجام گرفت.

اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و درصد عناصر استخوان درشت‌نی

به منظور اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و درصد عناصر استخوان درشت‌نی، در ۳۵ روزگی بعد از کشتار پرندگان، پای چپ پرندگان به فریزر ۲۰- منتقل شد، بافت‌های متصل به استخوان جدا گردیدند، نمونه‌ها بعد از توزین بوسیله آون با دمای ۱۰۵ درجه سلیسیوس خشک و مجدداً وزن گیری شدند. به منظور آب‌گیری درون الکل اتیلیک ۹۸٪ به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. سپس جهت چربی‌گیری درون محلول دی اتیل اتر به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. نمونه‌ها مجدداً وزن شدند و دوباره درون آون با دمای ۱۰۵ جهت خشک شدن قرار گرفتند. وزن خشک و خصوصیات فیزیکی ثبت شد. برای تعیین خصوصیات مکانیکی شامل: نیروی شکاف نهایی، حداکثر خمش قبل از شکستن و سختی (تانژانت زاویه آلفا) از دستگاه اینسترون (model H5K5, Tinius Olsen Company) استفاده گردید، سپس نمونه‌ها جهت تعیین درصد خاکستر درون کوره با دمای ۶۰۰ درجه سلیسیوس به مدت ۱۶ ساعت قرار گرفتند، سپس مقدار هر یک از عناصر خاکستر استخوان توسط دستگاه جذب اتمی (ICP) تعیین شد.



نتایج و بحث

قابلیت هضم فسفر فیتاته و میزان کلسیم و فسفر خون

نتایج مرتبط با قابلیت هضم فسفر فیتاته و میزان کلسیم و فسفر خون در جدول ۲ نشان داده شده است. تیمارهای حاوی آنزیم فیتاز تجاری، پروبیوتیک RLL و مخلوط پروبیوتیکی RLL+LBS قادر بودند که فسفر فیتاته را نسبت به تیمارهای کنترل و پروبیوتیک WLL بیشتر هیدرولیز نموده، بدین صورت که بیشترین قابلیت هضم مربوط به آنزیم فیتاز تجاری بوده و در مرحله بعد مخلوط پروبیوتیکی RLL+LBS و پروبیوتیک RLL توانستند سبب بهبود قابلیت هضم فسفر فیتاته نسبت به هر دو تیمار کنترل مثبت و منفی و پروبیوتیک WLL شوند. راویندران و همکاران (۲۰۰۰) جیره غذایی مرغان گوشتی با سطح پایین فسفر قابل دسترس و سطوح مختلف اسیدفایتیک را با آنزیم فیتاز مکمل سازی کردند. این پژوهشگران گزارش کردند افزودن آنزیم فیتاز بسته به سطح فسفر قابل دسترس جیره و سطح فسفر فیتاته آن توانایی هیدرولیز فسفر فیتاته را دارا می‌باشد. الشربینی و همکاران (۲۰۱۰) با افزودن آنزیم فیتاز شاهد کاهش فسفر دفعی از طریق فضولات بود که با نتایج ما تطابق دارد.

مقدار کلسیم پلاسما در تیمارهای دارای کمبود فسفر نسبت به تیمار کنترل مثبت به طور معنی‌داری افزایش یافت اما مقدار فسفر پلاسما در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد. شیرلی و ادواردز (۲۰۰۳) نیز با کاهش سطح فسفر جیره از ۰/۴۶ به ۰/۲۷ درصد، میزان کلسیم پلاسما افزایش یافته و میزان فسفر آن کاهش یافت که این پدیده علاوه بر ایجاد ریکتر سبب کاهش مصرف خوراک و وزن بدن می‌شود در تحقیق آنها افزودن ۱۲۰۰ واحد آنزیم فیتاز سبب برطرف شدن کامل سطح پایین فسفر پلاسما و تعدیل نسبت کلسیم به فسفر پلاسما گردید. افزایش میزان کلسیم پلاسما در تیمارهای دارای کمبود فسفر می‌تواند به علت برداشت بدن از فسفر ذخیره شده در بافت‌های استخوانی برای جبران این کمبود باشد که در نتیجه آن کلسیم نیز از بافت‌های هیدروکسی آپاتیت استخوان آزاد می‌شود.

عملکرد استخوان

کاهش فسفر قابل دسترس در تیمار کنترل منفی سبب کاهش طول، کاهش نیروی شکافتن، کاهش درصد کلسیم و فسفر و افزایش در نسبت کلسیم به فسفر خاکستر استخوان درشت‌نی نسبت به تیمار کنترل مثبت شد. تیمارهای حاوی آنزیم فیتاز تجاری، پروبیوتیک RLL و مخلوط پروبیوتیکی RLL+LBS توانستند سبب افزایش طول، افزایش نیروی شکافتن و افزایش درصد کلسیم استخوان درشت‌نی نسبت به تیمار کنترل منفی شوند. علاوه بر این‌ها وزن خشک عاری از چربی و درصد فسفر خاکستر استخوان درشت‌نی در تیمار حاوی آنزیم فیتاز تجاری نسبت به تیمار کنترل منفی بهبود نشان داد (جدول ۳). کاهش فسفر قابل دسترس در آزمایش‌های الشربینی و همکاران (۲۰۱۰) تأثیری بر وزن، طول و عرض استخوان درشت‌نی نداشت ولی مقاومت استخوان با کاهش فسفر کاهش یافته و افزودن فیتاز سبب بهبود مقاومت آن و افزایش درصد کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی شد. شاو و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که با کاهش فسفر قابل دسترس مقاومت استخوان و درصد خاکستر آن کاهش می‌یابد که با نتایج ما مغایرت داشته که می‌تواند به علت تفاوت سطح کاهش فسفر جیره باشد



جدول ۲- مقایسه تاثیر افزودن لاکتوکوکوس لاکتیس نوترکیب مولد آنزیم فیتاز (به تنهایی یا همراه با لاکتوباسیلوس سالیواریوس) بر درصد قابلیت هضم فسفر فیتاته فضولات و میزان کلسیم و فسفر پلاسمای خون (mg/dl) جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های کمبود فسفر

P value	SEM**	Phytas- CON ⁻	WLL- CON ⁻	RLL+LBS- CON ⁻	RLL-CON ⁻	CON ⁻	CON ⁺	تیمارهای آزمایشی*
<0/001	1/84	57/64 ^a	37/61 ^c	49/37 ^b	49/74 ^b	32/94 ^c	36/59 ^c	قابلیت هضم فسفر فیتاته فضولات
p<0/01	0/28	6/77 ^a	7/13 ^a	7/08 ^a	7/37 ^a	7/33 ^a	5/78 ^b	میزان کلسیم (mg/dl)
0/39	1/10	5/85	4/11	4/35	5/24	3/82	6/97	میزان فسفر (mg/dl)

* CON⁺: جیره کنترل مثبت حاوی سطح استاندارد فسفر غیرفیتانه؛ CON⁻: جیره کنترل منفی حاوی سطح فسفر قابل دسترس 0/33، 0/30 و 0/27 به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی؛ RLL-CON⁻: جیره کنترل منفی حاوی پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس نوترکیب مولد آنزیم فیتاز؛ RLL+LBS-CON⁻: جیره کنترل منفی حاوی پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس سوبیه وحشی؛ Phytas-CON⁻: جیره کنترل منفی حاوی آنزیم فیتاز تجاری هوستازایم پی

** خطای معیار میانگین
a-b-c میانگین‌های دارای بالانویس‌های غیرمشترک در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند (P<0/05)



جدول ۲- مقایسه تاثیر افزودن لاکتوکوکوس لاکتیس نو ترکیب مولد آنزیم فیتاز (به تنهایی یا همراه با لاکتوباسیلوس سالیواریوس) بر خصوصیات فیزیکی و مکانیکی و درصد عناصر معدنی استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های کمبود فسفر

تیمارهای آزمایشی*	وزن تر (g) طول (mm)	عرض دیافیز (mm)	درصد ماده خشک	وزن استخوان چربی گیری شده (گرم)	خصوصیات مکانیکی			میزان عناصر خاکستر استخوان (%)					
					نیروی شکاف (نیوتون)	سختی (نیوتون/میلی‌متر)	خمش شکستن (میلی‌متر)	نسبت کلسیم به فسفر	کلسیم				
CON ⁺	۱۰/۰۳	۸۶/۸۳ ^a	۸/۰۳	۴۹/۹۶	۴/۵۰ ^b	۲۲۳/۸۸ ^a	۸۰/۱۰	۳/۸۵	۲۶/۶۹ ^{bc}	۱۳/۲۰ ^b	۲/۰۳ ^{dc}	۰/۰۰۰۴۱	۰/۰۲۶
CON ⁻	۸/۸۶	۷۸/۴۹ ^b	۷/۷۳	۴۸/۳۲	۴/۰۴ ^b	۱۶۵/۴۵ ^b	۶۰/۷۲	۳/۴۳	۲۵/۱۹ ^c	۱۲/۴۹ ^b	۲/۱۰ ^a	۰/۰۰۰۵۶	۰/۰۲۸
RLL-CON ⁻	۹/۷۳	۸۶/۳۶ ^a	۸/۱۸	۴۸/۵۲	۴/۳۲ ^b	۲۱۴/۲۲ ^a	۸۳/۶۵	۴/۰۴	۲۸/۲۸ ^{ab}	۱۳/۵۵ ^b	۲/۰۷ ^{abc}	۰/۰۰۰۵۳	۰/۰۲۵
RLL+LBS-CON ⁻	۹/۳۴	۸۴/۸۴ ^a	۸/۰۰	۴۸/۵۶	۴/۴۶ ^b	۲۰۷/۸۸ ^a	۶۵/۴۰	۳/۱۹	۲۷/۳۳ ^b	۱۳/۴۶ ^b	۲/۰۳ ^{bdc}	۰/۰۰۰۵۷	۰/۰۲۸
WLL-CON ⁻	۹/۳۸	۸۲/۱۶ ^{ab}	۸/۱۷	۴۸/۸۸	۴/۳۰ ^b	۱۹۸/۹۰ ^{ab}	۶۹/۹۰	۳/۲۱	۲۷/۸۵ ^{ab}	۱۳/۲۹ ^b	۲/۰۸ ^{ab}	۰/۰۰۰۷۹	۰/۰۳۲
Phytas- CON ⁻	۹/۹۸	۸۷/۲۵ ^a	۸/۳۹	۴۸/۵۸	۵/۰۳ ^a	۲۳۴/۰۰ ^a	۷۰/۷۲	۳/۷۷	۲۹/۷۵ ^a	۱۴/۸۵ ^a	۲/۰۰ ^d	۰/۰۰۰۴۶	۰/۰۲۲
SEM**	۰/۳۶	۱/۶۱	۰/۲۲	۰/۰۲	۰/۱۸	۱۱/۳۱	۵/۹۸	۰/۲۴	۰/۵۷	۰/۳۳	۰/۰۲	۰/۰۰۰۰۷	۰/۰۰۳
P value	۰/۲۳	۰/۰۰۴	۰/۴۸	۰/۷۹	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۱۱	۰/۲۹	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۶	۰/۴۶

* CON⁺: جیره کنترل مثبت حاوی سطح استاندارد فسفر غیر فیتانه؛ CON⁻: جیره کنترل منفی حاوی سطح فسفر قابل دسترس ۰/۳۳، ۰/۳۰ و ۰/۲۷ به ترتیب برای دوره‌های آغازین، رشد و پایانی؛ RLL-CON⁻: جیره کنترل منفی حاوی پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس نو ترکیب مولد آنزیم فیتاز؛ RLL+LBS-CON⁻: جیره کنترل منفی حاوی پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس نو ترکیب مولد آنزیم فیتاز به همراه لاکتوباسیلوس سالیواریوس؛ WLL-CON⁻: جیره کنترل منفی حاوی پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس سویه وحشی؛ Phytas-CON⁻: جیره کنترل منفی حاوی آنزیم فیتاز تجاری هوستازایم بی

** خطای معیار میانگین

^{a-b-c-d} میانگین‌های دارای بالانویس‌های غیر مشترک در هر ستون دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند (P<۰/۰۵).



منابع

- Askelson, T. E., Campasino, A., Lee, J. T., & Duong, T. (2014). Evaluation of phytate-degrading *Lactobacillus* culture administration to broiler chickens. *Applied and environmental microbiology*, 80(3), 943-950.
- Camden, B. J., Morel, P. C. H., Thomas, D. V., Ravindran, V., & Bedford, M. R. (2001). Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize-soybean meal diets for broilers. *Animal Science*, 73(2), 289-297.
- El-Sherbiny, A. E., Hassan, H. M. A., Abd-Elsamee, M. O., Samy, A., & Mohamed, M. A. (2010). Performance, bone parameters and phosphorus excretion of broilers fed low phosphorus diets supplemented with phytase from 23 to 40 days of age. *International Journal of Poultry Science*, 9(10), 972-977.
- Gao, Y., Shang, C., Maroof, M. A., Biyashev, R. M., Grabau, E. A., Kwanyuen, P. ... & Buss, G. R. (2007). A modified colorimetric method for phytic acid analysis in soybean. *Crop science*, 47(5), 1797-1803.
- Nahm, K. H. (2007). Efficient phosphorus utilization in poultry feeding to lessen the environmental impact of excreta. *World's Poultry Science Journal*, 63(4), 625-654.
- Ravindran, V., Cabahug, S., Ravindran, G., Selle, P. H., & Bryden, W. L. (2000). Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorous levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. *British poultry science*, 41(2), 193-200.
- Shaw, A. L., Hess, J. B., Blake, J. P., & Ward, N. E. (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.
- Shirley, R. B., & Edwards Jr, H. M. (2003). Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. *Poultry Science*, 82(4), 671-680.
- Yoon, S. M., Kim, S. Y., Li, K. F., Yoon, B. H., Choe, S., & Kuo, M. M. C. (2011). Transgenic microalgae expressing *Escherichia coli* AppA phytase as feed additive to reduce phytate excretion in the manure of young broiler chicks. *Applied microbiology and biotechnology*, 91(3), 553-563.



Abstract

An experiment was conducted to investigate the effect of recombinant probiotic *Lactococcus lactis* capable to secretion phytase enzyme (alone or in combination with probiotic *lactobacillus salivarius*) on digestibility of P-phytate, Ca and P blood plasma and bone parameter of broiler chicks. In this experiment, 360 Cobb male broiler were divided into 6 treatment, 6 replicate and 10 bird per replicate. Treatments include: 1-positive control diet fed adequate of available phosphorus (PC), 2-negative control fed reduced available phosphorus (NC), 3-Negative Control diet containing probiotic recombinant *lactococcus lactis* (NC-RLL), 4-Negative Control diet containing probiotic mixture of recombinant *lactococcus lactis* with *lactobacillus salivarius* (NC-RLL+LBS), 5-Negative Control diet containing probiotic wild strain of *lactococcus lactis* (NC-WLL), 6-Negative Control diet containing commercial Phytase enzyme (NC+ phytase). The results showed that reduction of available phosphorus in negative control treatment reduced the length, bone strength, calcium and phosphorus percentage of tibia, and increased the ratio of calcium to phosphorus in tibia and levels of calcium in plasma compared to positive control. The treatments containing commercial phytase enzyme, probiotic RLL and mixture of probiotic RLL + LBS could increase the length, bone strength and calcium percentage in tibia compared to negative control treatment and enhance the digestibility P- phytate compare to both positive and negative control treatments. The treatments containing mixtures of probiotic RLL+ LBS and commercial phytase could reduce the ratio of calcium to phosphorus tibia compare to negative control treatment. In addition, dry weight of free fat tibia and phosphorus percentage of tibia improved in commercial Phytase enzyme treatment compared to negative control treatment. None of the treatments did not effect on the amount of calcium and phosphorus in the blood plasma compare to positive control. The results confirmed that RLL probiotic was able to secrete extracellular phytase *in vivo* conditions and, if this probiotic used as a mixture probiotic (with probiotics that origin from bird's intestines such as *lactobacillus salivarius*) could compete to commercial phytase enzyme.

Key words: Probiotics, Broiler chickens, P available, Phytate, Phytase,