اثر سطوح پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای بر فعالیت آنزیمهای روده‌ای و عملکرد مرغهای تخم گذار

سارا میرزایی[۱]، مجتبی زاغری[۱]، سعید امین‌زاده[۲]* و محمود شیوازاد[۱]

[۱] کرج، دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی

[۲] تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، گروه زیست فناوری دام، طیور و آبزیان

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۳ تاریخ پذیرش: ۹۰/۴/۱۵

چکیده

در این آزمایش اثرات استفاده از رقم زراعی پیشتاز با پلی ساکارید غیرنشاسته‌ای بالا و افزودن آنزیم زایلاناز به خوراک بر صفات عملکردی، قابلیت هضم مواد مغذی و میزان فعالیت آنزیمهای روده‌ای مرغهای تخم گذار ۲۱ تا ۴۷ هفتگی بررسی می‌گردد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت فاکتوریل شامل هشت تیمار (۴ سطح گندم صفر، ۲۳، ۴۶ و ۶۹ درصد که به ترتیب شامل ۱/۸، ۲/۰، ۲/۲ و ۲/۴ درصد زایلوز) و دو سطح آنزیم (بدون و با آنزیم) و ۵ تکرار (۶ قطعه مرغ) در هر تکرار انجام شد. در کل دوره، با افزایش سطح زایلوز در جیره، وزن (P<۰/۰۵) و توده تخم‌مرغ (P<۰/۰۱) کاهش و ضریب تبدیل غذایی افزایش یافت (P<۰/۰۵) ولی خوراک مصرفی و میزان تخم گذاری تحت تأثیر قرار نگرفتند. مکمل نمودن جیره با زایلاناز موجب افزایش میزان تخم گذاری (P<۰/۰۵)، وزن و توده تخم‌مرغ (P<۰/۰۱) و بهبود ضریب تبدیل غذایی گردید (P<۰/۰۱). افزایش سطوح زایلوز، موجب کاهش قابلیت هضم چربی و انرژی قابل متابولیسم جیره گردید (P<۰/۰۵) و همچنین، فعالیت آنزیم آمیلاز را در دئودنوم و آمینوپپتیداز و لیپاز را در دئودنوم و ژژنوم افزایش داد (P<۰/۰۱). با این وجود، افزودن زایلاناز به خوراک فعالیت هیچیک از آنزیمهای روده‌ای را تحت تأثیر قرار نداد. مکمل نمودن جیره با زایلاناز، موجب کاهش ویسکوزیته محتویات ایلئوم (P<۰/۰۱) گردید. افزایش سطح زایلوز در جیره موجب کاهش عملکرد تولیدی مرغهای تخم گذار، افزایش فعالیت آنزیم‌های روده‌ای و کاهش قابلیت هضم چربی و انرژی قابل متابولیسم جیره خواهد شد.

واژه های کلیدی: پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای، عملکرد مرغهای تخم گذار، فعالیت آنزیمهای روده‌ای، قابلیت هضم مواد مغذی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۴۴۵۸۰۴۱۲ ، پست الکترونیکی: aminzade@nigeb.ac.ir

مقدمه

واژه پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای، در برگیرنده دامنه وسیعی از مولکولهای پلی‌ساکاریدی به غیر از آلفا گلوکان (نشاسته) است. این پلی‌ساکاریدها فاقد پیوندهای آلفا-گلیکوزیدی هستند. پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای به همراه لیگنین از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بوده و از آنها به عنوان الیاف جیره تعبیر می‌شود (۲۶). دانه گندم دارای مقادیر زیادی از فاکتورهای ضدتغذیه‌ای به ویژه پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای می‌باشد که داخل اندوسپرم قرار دارند و سطح مصرف آن را در جیره طیور محدود نموده است. دانه گندم شامل زایلوز، آرابینوکسیلانها، بتاگلوکانها، سلولز و آرابینوگالاکتان-پپتیدها می‌باشد (۱۱). پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای از نظر خصوصیات فیزیکو-شیمیایی به دو بخش الیاف محلول در آب و الیاف نامحلول تقسیم می‌شوند. بخش محلول، نقش مهمی در اعمال هضم و جذب در دستگاه گوارش به ویژه در ابتدای آن دارند، در حالی که بخش نامحلول الیاف جیره، بیشتر در

انتهای روده فعال بوده و در افزایش حجم توده مدفوع و همچنین کاهش زمان عبور غذا از دستگاه گوارش عمل می‌کنند (۶). تحقیقات زیادی نشان داده است که افزودن آنزیم زایلاناز تجاری به جیره‌های بر پایه گندم در طیور به مقدار زیادی می‌تواند اثرات نامطلوب پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای را حذف نماید (۷). اثر فیبر محلول و مکمل نمودن جیره با آنزیم روی عملکرد مرغهای تخم گذار به خوبی شناخته شده است ولی نتایج به دست آمده از تحقیقات، بین محققین مختلف متفاوت می‌باشد که دلایل این اختلافات به خوبی مشخص نیست ولی ممکن است به ویژگیهای گندم به کار رفته به خصوص بخش پلی ساکارید غیرنشاسته‌ای آن مربوط باشد. همچنین ویژگیهایی از گندم که توسط آنزیمها بهبود می‌یابد هنوز به طور کامل مشخص نیست. در بین تحقیقات صورت گرفته، هادورن و همکاران (۱۹۹۷) و پن و همکاران (۱۹۹۸) هیچگونه اثری از مکمل نمودن جیره‌های بر پایه گندم و چاودار با آنزیم روی صفات عملکردی مرغهای تخم گذار مشاهده نکردند (۱۲ و ۲۱). برعکس، لازارو و همکاران (۲۰۰۳) میزان تخم گذاری و ضریب تبدیل غذایی بهتر، کاهش ویسکوزیته روده‌ای و افزایش قابلیت هضم ماده خشک، چربی، پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای و انرژی متابولیسم ظاهری را در جیره‌های بر پایه گندم، جو و چاودار در مرغهای تخم گذار مشاهده نمودند (۱۹). بخش پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای دانه‌های غلات پروتئینها، لیپیدها و نشاسته را محافظت می‌کند و دسترسی آنزیمهای هضمی را به آنها محدود می‌کند. در واقع، مرحله نهایی هضم مواد مغذی، با حضور آنزیمهای هضمی تولید شده از غشای اینتروسیت‌ها روی جداره داخلی روده که دارای پرزهای مسواکی هستند انجام می شود (۱۳). تحقیقات کمی در مورد اثرات سطوح پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای و آنزیم زایلاناز در جیره‌های بر پایه گندم روی فعالیت آنزیمهای هضمی در مرغهای تخم گذار صورت گرفته است و از آنجایی که دستگاه گوارش مرغهای تخم گذار بالغ شده است این سؤال مطرح می‌شود که آیا تحت تأثیر اثرات منفی پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای قرار می‌گیرند که در این تحقیق به آن پرداخته می‌شود. بنابراین هدف این مطالعه بررسی اثر سطوح زایلوز و افزودن آنزیم زایلاناز به خوراک روی عملکرد تولیدی، قابلیت هضم مواد مغذی و فعالیت آنزیمهای روده‌ای مرغهای تخم گذار از ۲۱ تا ۴۷ هفتگی می‌باشد.

مواد و روشها

در این تحقیق، مقدار زایلوز وآرابینوکسیلان موجود در رقم زراعی گندم پیشتاز، ذرت، گلوتن ذرت و کنجاله سویا با استفاده از کیت تجاری شرکت مگازیم (Megazyme) International Ireland Ltd اندازه‌گیری و جیره‌های آزمایشی بر اساس مقادیر فوق فرموله شدند. ۲۴۰ قطعه پولت های‌لاین W-۳۶ از یک گله تجاری به دست آمد و به طور تصادفی به گروههای دوتایی در ۱۲۰ قفس اختصاص یافتند. آزمایش فوق از ۲۱ تا ۴۷ هفتگی انجام شد. در ۲۱ هفتگی، همزمان با تیماربندی قفسها به هشت تیمار آزمایشی با پنج تکرار (شش پرنده در هر تکرار) اختصاص یافتند و جیره‌های آزمایشی مربوطه را دریافت نمودند. جیره‌ها به فرم آردی بود و آب و خوراک آزادانه در اختیار آنها قرار گرفت. این تحقیق، در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت فاکتوریل با چهار سطح گندم (صفر، ۲۳، ۴۶ و ۶۹ درصد) شامل سطوح زایلوز (۱/۸، ۲/۰، ۲/۲ و ۲/۴ درصد) و دو سطح آنزیم (با و بدون آنزیم) طراحی گردید. آنزیم تجاری مورد استفاده سافیزیم xp-۲۰ می‌باشد که از *Tricodermalangibrachiatum* به دست آمده و شامل ۷۰۱۰۰ واحد/ گرم زایلوز است که مقدار آنزیم فوق با توجه به توصیه شرکت سازنده آن بر اساس غلظت سوبسترا در جیره‌های آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت. هر واحد فعالیت آنزیم، مقدار آنزیمی است که یک میکرومول از قندهای کاهنده را در pH, ۴/۸ و درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه آزاد می‌کند. ترکیب

مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است. صفات تولیدی مرغهای تخم گذار شامل میزان تخم گذاری و وزن تخم‌مرغ به صورت روزانه رکوردبرداری شد. خوراک مصرفی به صورت هفتگی رکوردبرداری و ضریب تبدیل غذایی بر اساس داده‌های فوق محاسبه گردید.

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی

مواد خوراکی	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
ذرت	۶۶/۰	۴۴/۹۴	۲۴/۷۵	۴/۵۴
گندم	--	۲۳/۰	۴۶/۰	۶۹/۰
کنجاله سویا (پرونئین ۴۴٪)	۲۱/۵۵	۱۸/۶۰	۱۴/۱۶	۹/۷۱
گلوتن ذرت (پرونئین ۶۰٪)	--	۰/۵	۱/۹۰	۳/۳۰
روغن سویا	۱/۱۰	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۵۰
متیونین	۰/۱۴	۰/۱۶	۰/۲۰	۰/۲۵
لیزین	۰/۰۱	۰/۱	۰/۲۳	۰/۳۷
دی کلیسم فسفات	۱/۶۸	۱/۶۶	۱/۶۶	۱/۶۶
پودر صدف	۸/۵۴	۸/۵۵	۸/۵۷	۸/۵۸
نمک	۰/۳۶	۰/۳۵	۰/۳۳	۰/۳۱
آنزیم[1]	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۲۰	۰/۲۸
مکمل معدنی و ویتامینی[2]	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
محاسبه شده				
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری/کیلوگرم)	۲۸۰۰	۲۸۰۰	۲۸۰۰	۲۸۰۰
پروتئین خام (٪)	۱۵/۱۹	۱۵/۱۹	۱۵/۱۹	۱۵/۱۹
لیزین کل (٪)	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶
متیونین کل (٪)	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹
کلسیم (٪)	۳/۸	۳/۸	۳/۸	۳/۸
لینولئیک اسید (٪)	۲/۲	۲/۰	۱/۸	۱/۴
زایلوز (٪)	۱/۸	۲/۰	۲/۲	۲/۴
آرابینوکسیلان (٪)	۳/۰	۳/۳	۳/۶	۳/۹
اندازه‌گیری شده				
ماده خشک (٪)	۹۳/۴۹	۹۳/۴۲	۹۳/۴۳	۹۳/۸۷
پروتئین خام (٪)	۱۶/۰۶	۱۶/۴۵	۱۶/۰	۱۶/۱۹
چربی خام (٪)	۴/۴۹	۴/۴۴	۴/۴۴	۴/۴۰

تیمار ۱= سطح اول NSP، تیمار ۲= سطح دوم NSP، تیمار ۳= سطح سوم NSP، تیمار ۴= سطح چهارم NSP.

۱- جیره‌های فوق حاوی آنزیم می‌باشند و تیمارهای ۵،۶،۷ و ۸ همین جیره ها ولی بدون آنزیم می‌باشند.

۲-آنزیم زایلاناز شامل ۷۰۱۰۰ واحد زایلوز/گرم است. ۲- مکمل معدنی و ویتامینه شامل ویتامین A، IU۷۷۰۰۰۰۰؛ D3، ۱- IU۳۳۰۰۰۰۰؛ E، IU۶۶۰۰؛ K3، mg۵۵۰؛ تیامین، mg۱۵۰۰؛ ریبوفلاوین، mg۴۴۰۰؛ پنتوتنیک اسید، mg۲۲۰۰۰؛ نیاسین، mg۵۵۰۰؛ پریدوکسین، mg۳۰۰۰؛ کولین کلراید، mg۲۷۵۰۰۰؛ فولیک اسید، mg۱۱۰؛ بیوتین، mg۵۵؛ B12، mg۸/۸؛ آنتی اکسیدان، mg۱۰۰۰؛ Mg، mg ۶۶۰۰۰؛ Zn، mg۶۶۰۰۰؛ Fe، mg۳۳۰۰۰؛ Cu، mg۸۸۰۰؛ ید، mg۹۰۰؛

اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی: به منظور اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد مغذی، سه گرم در کیلوگرم اکسیدکروم به عنوان مارکر غیرقابل هضم به مدت یک هفته در جیره‌های آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت. سپس نمونه‌های فضولات به مدت دو روز جمع‌آوری گردید و در آون (۶۰ درجه سانتی گراد، ۷۲ ساعت) خشک، توزین و توسط آسیاب آزمایشگاهی آسیاب شدند. پروتئین‌خام به وسیله دستگاه لکو (Model FP-528, Leco Corporation, St. Joseph, MI) چربی‌خام با استفاده از بالن سوکسله و انرژی‌خام با استفاده از بمب کالریمتری (Model 1356, Parr Instrument Company, Moline, IL) اندازه‌گیری گردید. مواد مغذی فوق به روش AOAC International (۲۰۰۰) اندازه‌گیری گردید (۱). اکسیدکروم به روش گارسیا و همکاران (۲۰۰۸) تعیین گردید(۱۰). قابلیت هضم ظاهری نیتروژن، چربی و انرژی متابولیسم ظاهری با استفاده از داده‌های به دست آمده از آنالیز خوراک و فضولات محاسبه گردید (۱۰).

فعالیت آنزیمهای روده‌ای: در پایان دوره آزمایشی، یک پرنده به طور تصادفی از هر تکرار انتخاب و به قفسهای انفرادی انتقال یافتند. سپس جیره‌های آزمایشی را از ۷ تا ۱۰ صبح تغذیه نمودند و با استفاده از تیوپنتال سدیم بیهوش شدند و حدود ۲/۵ سانتیمتر از قسمتهای میانی دئودنوم و ژژنوم برداشته به صورت طولی شکاف داده شد و با بافر فسفات (pH,۷/۴) روی یخ شستشو داده شد. به منظور جلوگیری از آسیب موکوس و تخریب آنزیمهای موجود، نمونه‌های روده در سراسر آماده‌سازی روی یخ نگهداری شدند. نمونه‌ها برای اندازه‌گیری آزمایشات بیوشیمیایی در فویل آلومینیومی پیچیده شد و در نیتروژن مایع فریز شدند سپس در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شدند (۲۵). فعالیت آنزیمهای جداره داخلی روده، شامل آمیلاز (EC 3.2.1.1)، آمینوپپتیداز (EC 3.4.11.2) و لیپاز (EC 3.1.1.3) به عنوان میکرومول سوبسترای هیدرولیز شده بر میلی‌گرم پروتئین روده بیان می‌شوند. آنزیمهای فوق بر اساس غلظت نسبی سوبستراهای طبیعی (نشاسته، پروتئین‌خام و لیپیدها) در جیره‌های استاندارد طیور انتخاب شدند. فعالیت آنزیم آمیلاز با استفاده از روش برنفلد (۱۹۵۵) اندازه‌گیری گردید (۲). نشاسته یک درصد به عنوان سوبسترا مورد استفاده قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل نمونه شاهد تعیین گردید. هر واحد فعالیت آنزیم آمیلاز، به عنوان هیدرولیز یک میلی‌گرم قند مالتوز در یک دقیقه در ۴۰ درجه تعریف می‌شود. فعالیت آنزیم آمینوپپتیداز با استفاده از روش گال-گاربر و یونی (۲۰۰۰) انجام گرفت (۹). در این روش، L – لیوسین-p-نیتروآنلاید (Sigma L-9125 Chemical Co., St MO Louis, به عنوان سوبسترا مورد استفاده قرار گرفت. p-نیتروآنلاید از طریق رنگ‌آمیزی تعیین و تراکم رنگ آن با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۴۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. هر واحد فعالیت آنزیم آمینوپپتیداز برابر است با هیدرولیز یک میکرومول p- نیتروآنیلین از L- لیوسین-p-نیتروآنلاید در دقیقه. فعالیت آنزیم لیپاز به روش تنگ و زو (۲۰۰۷) اندازه‌گیری شد (۲۷). در این روش، پارا-نیتروفنیل-پالمیتات (Sigma L-9125 Chemical Co., St Louis, MO) به عنوان سوبسترا مورد استفاده قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در ۴۱۰ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد. یک واحد فعالیت آنزیم لیپاز، به عنوان مقدار آنزیمی است که یک میکرومول از p- نیتروفنل را در دقیقه آزاد می‌کند. غلظت پروتئین موجود در بافت روده به روش برادفورد (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد (۴). آلبومین سرم گاوی (Sigma Chemical Co. St Louis) به عنوان استاندارد به کار رفت. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی بر مقدار پروتئین موجود در بافت روده تقسیم شد و فعالیت کل آنزیم به ازای میلی‌گرم پروتئین بافت روده بیان گردید.

اندازه‌گیری pH محتویات قسمتهای مختلف دستگاه-گوارش: پس از بیهوش نمودن پرندگان، یک گرم نمونه از محتویات چینه‌دان، سنگدان، دئودنوم، ژژنوم، ایلئوم و

سکوم وزن شد و با ۹ میلی‌لیتر آب مقطر در یک فالکون به مدت پنج دقیقه به خوبی ورتکس شد و pH محلول فوق با استفاده از الکترود pH متر اندازه‌گیری گردید (۲۲).

اندازه‌گیری ویسکوزیته محتویات ایلئوم: پس ازاتمام نمونه‌گیری برای pH، محتویات ایلئوم جمع‌آوری و بلافاصله در سانتریفیوژ ۳۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. سپس سوپرناتانت حاصل در ویال دو سی‌سی ریخته شد و در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره گردید سپس با استفاده از ویسکوزیمتر دیجیتال (Model DV-II þ LV, Brookfield, Stroughton, MA, USA) ویسکوزیته بر حسب سانتی‌پوآز در ۴۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید (۱۹).

جدول ۲- اثر سطوح زایلوز و افزودن آنزیم زایلاناز به خوراک بر صفات تولیدی مرغهای تخم گذار

اثرات اصلی	خوراک مصرفی (گرم/روز)	میزان تخم گذاری (درصد)	وزن تخم‌مرغ (گرم)	توده تخم‌مرغ (گرم/روز)	ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم)
سطوح زایلوز (٪)					
۱/۸	۹۵/۳	۸۹/۵	۵۸/۵[a]	۵۲/۴[a]	۱/۸۳۲[ab]
۲/۰	۹۴/۸	۸۹/۳	۵۸/۸[a]	۵۲/۶[a]	۱/۸۱۳[b]
۲/۲	۹۴/۲	۸۹/۸	۵۷/۷[ab]	۵۱/۹[ab]	۱/۸۳۱[ab]
۲/۴	۹۳/۶	۸۸/۱	۵۶/۸[b]	۵۰/۱[b]	۱/۸۸۲[a]
خطای استاندارد	۰/۴۶۴	۰/۵۴۴	۰/۴۳۴	۰/۴۳۴	۰/۰۱۴
آنزیم					
- زایلاناز	۹۴/۴	۸۸/۵[b]	۵۷/۷[b]	۵۱/۱[b]	۱/۸۵۹[a]
+ زایلاناز	۹۴/۶	۸۹/۸[a]	۵۸/۸[a]	۵۲/۳[a]	۱/۸۱۹[b]
خطای استاندارد	۰/۳۲۸	۰/۳۸۵	۰/۳۰۷	۰/۳۰۷	۰/۰۱
P-value					
سطوح زایلوز	۰/۰۸۱۴	۰/۱۷۱۹	۰/۰۱۱۴	۰/۰۰۱۲	۰/۰۱۴۲
آنزیم	۰/۶۳۵۶	۰/۰۲۲۶	۰/۰۳۶۵	۰/۰۰۶۴	۰/۰۰۹۷
سطوح زایلوز×آنزیم	۰/۲۲۹۶	۰/۴۷۰۹	۰/۴۵۳۸	۰/۵۲۱۹	۰/۴۶۷۱

میانگین‌ها با حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

نتایج

مقادیر D- زایلوز موجود در گندم پیشتاز، ذرت، گلوتن ذرت و کنجاله سویا به ترتیب ۳/۰، ۲/۳، ۱/۰ و ۱/۳ و آرابینوکسیلان ۴/۹، ۳/۷، ۱/۶ و ۲/۰ بر اساس ماده خشک به دست آمد و جیره‌های آزمایشی بر اساس مقادیر فوق فرموله شدند. در کل دوره آزمایشی، خوراک مصرفی و میزان تخم گذاری تحت تأثیر سطوح زایلوز قرار نگرفتند. با این وجود، با افزایش سطح زایلوز، وزن تخم‌مرغ (P<۰/۰۵) و توده تخم‌مرغ کاهش معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۱). همچنین، بالاترین ضریب تبدیل غذایی برای جیره شامل ۲/۴ درصد زایلوز مشاهده گردید (P<۰/۰۵). آنزیم خارجی، موجب افزایش میزان تخم گذاری (P<۰/۰۵)، وزن و توده تخم‌مرغ و بهبود ضریب تبدیل غذایی گردید (P<۰/۰۱) ولی اثر معنی‌داری را بر میزان خوراک مصرفی نشان نداد. اثر متقابل سطوح زایلوز و آنزیم زایلاناز بر صفات تولیدی مرغهای تخم گذار معنی‌دار نبود (جدول ۲). افزایش سطوح زایلوز موجب کاهش قابلیت هضم چربی و انرژی قابل متابولیسم جیره‌ها گردید. آنزیم اثر معنی‌داری را بر قابلیت هضم مواد مغذی

نشان نداد (جدول ۳). افزایش سطح زایلوز نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز دئودنوم (P<۰/۰۰۱) و آمینوپپتیداز و لیپاز دئودنوم و ژژنوم (P<۰/۰۰۱) گردید. مکمل نمودن جیره با آنزیم زایلاناز، فعالیت هیچ یک از آنزیمهای روده‌ای را تحت تأثیر قرار نداد (جدول ۴). همان گونه که در جدول ۵ ملاحظه می‌شود pH قسمتهای مختلف دستگاه گوارش تحت تأثیر سطوح زایلوز، آنزیم و اثر متقابل آنها قرار نگرفتند. افزایش سطوح زایلوز موجب افزایش ویسکوزیته روده‌ای شد ولی آنزیم زایلاناز ویسکوزیته را به طور معنی‌داری کاهش داد (جدول ۵).

جدول ۳- اثر سطوح زایلوز و افزودن آنزیم زایلاناز به خوراک بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

اثرات اصلی	پروتئین (٪)	چربی (٪)	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم)
سطوح زایلوز (٪)			
۱/۸	۶۷/۷	۷۹/۹[a]	۲۸۸۱[a]
۲/۰	۶۷/۳	۷۹/۱[a]	۲۸۶۰[ab]
۲/۲	۶۶/۸	۷۸/۸[a]	۲۸۳۹[ab]
۲/۴	۶۶/۵	۷۶/۶[b]	۲۸۱۹[b]
خطای استاندارد	۰/۵۱۸	۰/۵۱۳	۱۲/۶۷
آنزیم			
- زایلاناز	۶۷/۰۷	۷۸/۱	۲۸۴۵
+ زایلاناز	۶۶/۹	۷۹/۰	۲۸۵۴
خطای استاندارد	۰/۳۶۶	۰/۳۶۳	۸/۹۶
P-value			
سطوح زایلوز	۰/۳۳۲۷	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۶۳
آنزیم	۰/۸۷۸۰	۰/۰۶۳۹	۰/۴۸۶۶
سطوح زایلوز×آنزیم	۰/۳۱۰۵	۰/۴۹۶۳	۰/۴۱۱۰

میانگین‌ها با حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۴- اثر سطوح زایلوز و افزودن آنزیم زایلاناز به خوراک بر فعالیت آنزیمهای روده‌ای (واحد بازای میلی‌گرم پروتئین بافت روده)

	آمیلاز		آمینوپپتیداز		لیپاز	
اثرات اصلی	دئودنوم	ژژنوم	دئودنوم	ژژنوم	دئودنوم	ژژنوم
سطوح زایلوز (٪)						
۱/۸	۲۴/۱۳[b]	۴۲/۸۳	۱۰/۳۳[b]	۱۳/۶۳[c]	۳/۶۸[c]	۵/۱۴[c]
۲/۰	۲۵/۲۵[b]	۴۳/۵۵	۱۱/۳۷[a]	۱۳/۸۷[cb]	۳/۹۷[bc]	۵/۴۲[c]
۲/۲	۲۶/۵۰[a]	۴۳/۷۴	۱۱/۷۴[a]	۱۴/۶۰[ab]	۴/۱۳[b]	۶/۴۵[b]
۲/۴	۲۷/۲۳[a]	۴۴/۶۱	۱۱/۸۹[a]	۱۴/۸۳[a]	۴/۶۱[a]	۷/۰۹[a]
خطای استاندارد	۰/۳۲	۱/۲۹	۰/۱۷	۰/۲۷	۰/۱۱	۰/۱۵
آنزیم						
- زایلاناز	۲۶/۱۳	۴۳/۲۰	۱۱/۲۴	۱۴/۳۲	۴/۱۵	۶/۱۰
+ زایلاناز	۲۵/۴۲	۴۴/۱۷	۱۱/۴۲	۱۴/۰۳	۴/۰۴	۵/۹۰
خطای استاندارد	۰/۲۲	۰/۹۰	۰/۱۲	۰/۱۹	۰/۰۸	۰/۱۱
P-value						

سطوح زایلوز	<۰/۰۰۰۱	۰/۹۳۸۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۳	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
آنزیم	۰/۲۹۵۰	۰/۴۸۷۲	۰/۲۷۷۸	۰/۳۵۶۰	۰/۳۳۵۱	۰/۲۰۹۱
سطوح زایلوز×آنزیم	۰/۴۷۱۳	۰/۵۰۶۹	۰/۱۰۴۰	۰/۴۱۴۷	۰/۱۳۱۸	۰/۷۶۴۵

میانگین‌ها با حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۵- اثر سطوح زایلوز افزودن آنزیم زایلاناز به خوراک بر pH قسمتهای مختلف دستگاه گوارش و ویسکوزیته محتویات ایلئوم (سانتی‌پوآز)

اثرات اصلی	چینه‌دان	سنگدان	دئودنوم	ژژنوم	ایلئوم	سکوم	ویسکوزیته
سطوح زایلوز (٪)							
۱/۸	۴/۷۰	۳/۳۶	۶/۲۷	۶/۴۸	۷/۲۵	۶/۶۹	۳/۶۶[d]
۲/۰	۴/۶۲	۳/۳۸	۶/۲۱	۶/۵۰	۷/۱۸	۶/۶۰	۴/۲۷[c]
۲/۲	۴/۶۱	۳/۳۲	۶/۱۸	۶/۵۱	۷/۰۰	۶/۶۱	۵/۴۸[b]
۲/۴	۴/۶۷	۳/۳۷	۶/۳۳	۶/۵۰	۷/۰۷	۶/۵۴	۸/۰۴[b]
خطای استاندارد	۰/۰۵۳	۰/۰۴۴	۰/۰۷۸	۰/۰۶۵	۰/۰۸۶	۰/۰۹۵	۰/۰۷۸
آنزیم							
- زایلاناز	۴/۶۲	۳/۳۷	۶/۱۹	۶/۵۱	۷/۱۳	۶/۶۵	۵/۸۸[a]
+ زایلاناز	۴/۶۸	۳/۳۵	۶/۳۱	۶/۴۸	۷/۱۲	۶/۵۷	۴/۸۵[b]
خطای استاندارد	۰/۰۳۷	۰/۰۳۱	۰/۰۵۵	۰/۰۴۶	۰/۰۶۱	۰/۰۶۷	۰/۰۷۸
P-value							
سطوح زایلوز	۰/۶۰۸۴	۰/۷۲۶۴	۰/۵۳۵۱	۰/۹۷۴۱	۰/۱۲۵۱	۰/۶۸۷۷	<۰/۰۰۰۱
آنزیم	۰/۲۶۱۸	۰/۷۴۵۹	۰/۱۱۹۷	۰/۵۴۰۸	۰/۸۲۹۹	۰/۴۷۴۶	<۰/۰۰۰۱
سطوح زایلوز×آنزیم	۰/۳۵۹۵	۰/۲۶۹۸	۰/۶۶۰۶	۰/۸۹۶۷	۰/۴۶۷۲	۰/۷۰۱۹	<۰/۰۰۰۱

میانگین‌ها با حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

بحث

همان گونه که بیان گردید افزایش سطح زایلوز در جیره، موجب کاهش وزن تخم‌مرغ (۱/۷ گرم)، توده تخم‌مرغ (۲/۳ گرم) و افزایش ضریب تبدیل غذایی در کل دوره آزمایش گردید. همچنین، با افزایش سطوح پلی-ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در جیره، ویسکوزیته محتویات ایلئوم افزایش ولی قابلیت هضم چربی و میزان انرژی قابل متابولیسم جیره (به ترتیب ۳/۳ درصد و ۶۲ کیلوکالری) کاهش یافتند. در واقع ویسکوزیته، از طریق افزایش میزان چسبندگی مواد هضمی در روده باریک، سرعت عبور غذا را از دستگاه گوارش کاهش داده و به عنوان سدی تماس بین آنزیمهای هضمی و سوبسترا را ممانعت می‌کند و از تشکیل میسل ممانعت نموده و منجر به کاهش قابلیت هضم چربی جیره و نهایتاً پایین آمدن عملکرد تولیدی پرنده از جمله وزن و توده تخم‌مرغ می‌شود. بنابراین می-توان بیان نمود که افزایش ویسکوزیته محتویات ایلئوم از طریق کاهش قابلیت هضم مواد مغذی منجر به کاهش عملکرد تولیدی مرغهای تخم گذار گردیده است. کیم و همکاران (۱۹۷۶) گزارش نمودند که مرغهای لگهورن سفید که جیره‌های بر پایه ذرت را نسبت به مرغهایی که جیره بر پایه گندم از ۲۱ تا ۴۳ هفتگی تغذیه نمودند میانگین خوراک مصرفی بالاتر و تخم‌مرغهای درشت‌تری را تولید نمودند (۱۷). بر عکس، لازارو و همکاران (۲۰۰۳) و صفا و همکاران (۲۰۰۹) با جایگزینی ۵۰ درصد ذرت با گندم، هیچگونه اختلافی را به ترتیب در عملکرد تولیدی مرغهای تخم گذار سویه های لاین و لوهمن قهوه‌ای مشاهده نکردند (۱۹ و ۲۴). دراین مطالعه، مکمل نمودن

جیره با آنزیم زایلاناز موجب افزایش میزان تخم گذاری، وزن و توده تخم‌مرغ و بهبود ضریب تبدیل غذایی گردید. مکمل نمودن جیره حاوی پلی‌ساکارید بالا با آنزیم زایلاناز عملکرد پرنده را از طریق کاهش ویسکوزیته ایلئوم و تشدید زمان انتقال که موجب افزایش خوراک مصرفی و افزایش قابلیت هضم مواد مغذی می‌شود بهبود می‌بخشد (۱۰ و ۲۰). اطلاعات موجود در مورد اثرات افزایش سطوح پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای یا مکمل نمودن جیره با آنزیم زایلاناز روی pH قسمتهای مختلف دستگاه گوارش در مرغهای تخم گذار محدود است. در آزمایش فوق، سطوح پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای و آنزیم زایلاناز بر pH قسمتهای مختلف دستگاه گوارش اثر نداشت که با نتایج چاکت و همکاران (۱۹۹۹) که هیچ گونه اثری از افزایش سطوح اسیدهای چرب فرار با مکمل نمودن جیره با زایلاناز مشاهده نکردند مطابقت دارد (۵). برعکس انگ‌برگ و همکاران (۲۰۰۴) مشاهده نمودند که مکمل نمودن جیره‌های بر پایه گندم با زایلاناز، pH سنگدان و سکوم را در جوجه‌های گوشتی کاهش داد (۸). در تحقیق حاضر، فعالیت آنزیم آمیلاز در ژژنوم بالاتر از دئودنوم بود. جانسون و همکاران (۱۹۷۷) گزارش نمودند توزیع فعالیت آنزیم آمیلاز موکوس در قسمت ابتدایی نسبت به قسمت انتهایی روده بالاتر است و عمدتاً کمترین فعالیت در قسمت پایینی روده مشاهده می‌شود (۱۶). همچنین برد (۱۹۷۱) گزارش نمود که فعالیت آنزیم آمیلاز در یک چهارم پایینی دئودنوم حداکثر می‌باشد این مشاهده قابل انتظار است زیرا در این قسمت لوله‌های پانکراتیک ترشحاتشان را به درون دئودنوم تخلیه می‌کنند و حداکثر فعالیت آنزیم فوق در ژژنوم مشاهده می‌شود و در واقع ژژنوم مکان اصلی هضم نشاسته در جوجه‌های گوشتی می‌باشد (۳). همچنین فعالیت آنزیمهای آمینوپپتیداز و لیپاز در ژژنوم بالاتر از دئودنوم بود. گال-گاربر و یونی (۲۰۰۰) و کرامر و همکاران (۲۰۰۵) بیان نمودند که فعالیت آنزیم آمینوپپتیداز و بیان پروتئین آن از ابتدا به سمت انتهای روده باریک در جوجه گوشتی و خرگوش افزایش می‌یابد (۹ و ۱۸). در این مطالعه، با افزایش سطح زایلوز، فعالیت آنزیم آمیلاز در دئودنوم و آمینوپپتیداز و لیپاز در دئودنوم و ژژنوم افزایش یافتند. ویسکوزیته ایجاد شده ناشی از حضور پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در جیره، ضخامت لایه‌های موکوس روده را افزایش می‌دهد و به عنوان سدی، تماس بین آنزیم‌های هضمی و سوبسترا را ممانعت می‌کند و موجب افزایش فعالیت آنزیم روده‌ای می‌شود. ایکگامی و همکاران (۱۹۹۰) گزارش کردند که پلی‌ساکاریدهای ویسکوز، ویسکوزیته روده‌ای را افزایش دادند همچنین، بازده عصاره پانکراس و فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز و کیموتریپسین در روده باریک افزایش یافت (۱۴). پیترسون و آمان (۱۹۸۹) بیان نمودند که فعالیت بسیاری از آنزیمهای هضمی روده‌ای ممکن است از طریق متصل شدن آنزیم با پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای و یا از طریق محدودیت فیزیکی دسترسی آنزیم به سوبسترا کاهش یابد (۲۳). در این مطالعه مکمل نمودن جیره با آنزیم زایلاناز هیچ گونه اثر معنی‌داری را بر فعالیت آنزیمهای با منشای داخلی در قسمتهای مختلف روده نشان نداد. برعکس نتایج به دست آمده در این تحقیق، اینبر و همکاران (۱۹۹۳) گزارش نمودند که آنزیمهای با منشای خارجی در جیره‌های بر پایه گندم و جو، فعالیت آنزیم آمیلاز را در روده کوچک کاهش داد. آنها پیشنهاد کردند که اثرات سودمند زایلاناز روی تولید آنزیمهای با منشای داخلی ممکن است نتیجه تجزیه آرابینوکسیلان‌ها همراه با کاهش ویسکوزیته روده کوچک باشد (۱۵). نتایج کلی این مطالعه نشان داد که افزایش سطح پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای به ۲/۴ درصد از طریق افزایش ویسکوزیته محتویات روده، موجب افزایش فعالیت آنزیمهای روده‌ای، کاهش قابلیت هضم مواد مغذی و در نتیجه موجب کاهش عملکرد تولیدی مرغهای تخم گذار می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از گروه علوم دامی دانشگاه تهران و پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، گروه بیوتکنولوژی دام، طیور و آبزیان تقدیر و تشکر به عمل می آید.

منابع

1. AOAC International. 2000. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International, 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
2. Bernfeld, P. 1955. Amylases, α and β. Methods Enzymol. 1: 149-151.
3. Bird, F.H. 1971. Distribution of trypsin and α-amylase activities in the duodenum of the domestic fowl. Br. Poult. Sci. 12:373-378.
4. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.
5. Choct, M., Hughes, R.J., and Bedford, M.R. 1999. Effects of a xylanase on individual bird variation, starch digestion throughout the intestine, and ileal and caecal volatile fatty acid production in chickens fed wheat. Br Poult Sci. 40: 419-422.
6. Choct, M. and Kocher, A. 2001. Non – starch carbohydrates: Digestion and its secondary effects in monogastrics. Available in : www. personal. une. edu. au / m choct / Nutsoc % 20 paper. pdf.
7. Choct, M., Kocher, A., Waters, D.L.E., Pettersson, D. and Ross, G. 2004. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. Br. Poult. Sci. 92:53-61.
8. Engberg, R.M., Hedemann, M.S., Steenfeldt, S. and Jensen, B.B. 2004. Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. Poult. Sci. 83:925-938.
9. Gal-Garber, O. and Uni, Z. 2000. Chicken intestinal aminopeptidase: partial sequence of the gene expression and activity. Poult. Sci. 79:41-45.
10. Garcia, M., Lazaro, R., Latorre, M.A., Gracia, M.I. and Mateos, G.G. 2008. Influence of enzyme supplementation and heat processing of barley on digestive traits and productive performance of broilers. Poult Sci. 87:940-948.
11. Gutierrez-Alamo, A., Perez de Ayala, P., Verstegen, M.W.A., Den Hartog, L.A. and Villamide, M.J. 2008. Variability in wheat: factors affecting its nutritional value. World 's poult. Sci. j. 64:20-39.
12. Hadorn, R., Gloor, A. and Wiedmer, H. 1997. Effect of a carbohydrase in an energy-reduced and wheat-based diet for laying hens. Archivur Geflugelkunde. 61:82-87.
13. Iji, P.A., Saki, A. and Tivey, D.R. 2001. Body intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 2. Development and characteristics of intestinal enzymes. Br. Poult. Sci. 42:514-522.
14. Ikegami, S., Tsuchihashi, F., Harada, H., Tsuchihashi, N., Nishide, E. and Innami, S. 1990. Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic biliary secretion and digestive organs in rats. J. Nutr. 120:353-360.
15. Inborr, J., Schmitz, M. and Ahrens, F. 1993. Effect of adding fiber and starch degrading enzymes to a barley/wheat based diet on performance and nutrient digestibility in different segments of the small intestine of early weaned pigs. Anim. Feed Sci. Technol. 44:113-127.
16. Johnson, A., Hurwitz, R. and Kertchmer, N. 1977. Adaptation of rat pancreatic amylase and chymotrypsinogen to changes in diet. J. Nutr. 107:87-96.
17. Kim, S.M., Patel, M.B., Reddy, S.J. and McGinnis, J. 1976. Effects of different cereal grains in diets for laying hens on production parameters and liver fat content. Poult. Sci. 55:520-530.
18. Kramer, W., Girbig, F., Corsiero, D., Pfenninger, A., Frick, W., Jahne, G., Rhein, M., Wendler, F., Lottspeich, E., Hochleitner, E. and Schmitz, G. 2005. Aminopeptidase N (CD13) is a molecular target of the cholesterol absorption inhibitor ezetimibe in the enterocyte brush border membrane. J. Biol. Chem. 280:1306-1320.
19. Lazaro, R., Garcia, M., Aranibar, M.J. and Mateos, G.G. 2003. Effect of enzyme addition to wheat, barley and rye-based on nutrient digestibility and performance of laying hens. Br. Poult. Sci. 44:256-265.
20. Mateos, G.G., Lazaro, R. and Gracia, M.I. 2002. The feasibility of using nutritional modifications

to replace drugs in poultry feeds. J. Appl. Poult. Res. 11:437–452.

21. Pan, C.F., Ignasan, F.A., Guenter, W. and Marquardt, R.R. 1998. The effects of enzyme and inorganic phosphorus supplements in wheat and rye–based diets on laying hen performance, energy, and phosphorus availability. Poult. Sci. 77: 83-89.

22. Pang, Y. and Applegate, T.J. 2007. Effects of dietary copper supplementation and copper source on digesta pH, calcium, zinc and copper complex size in the gastrointestinal tract of the broiler chicken. Poult. Sci. 86:531-537.

23. Pettersson, D. and Aman, P. 1989. Enzyme supplementation of a poultry diet containing wheat and rye. Br. J. Nutr. 62:139-149.

24. Safaa, H.M., Jimenez-Moreno, E., Valencia, D.G., Frikha, M., Serrano, M.P., and Mateos, G.G. 2009. Effect of main cereal of the diet and particle size of the cereal on productive performance and egg quality of brown egg-laying hens in early phase of production. Poult. Sci. 88:608-614.

25. Shirazi-Beechey, S.P., Smith, M.W., Wang, Y., and James, P.S. 1991. Postnatal development of lamb intestinal digestive enzymes is not regulated by diet. J. Physiol. 437:691-698.

26. Smits, C.H.M. and Annison, G. 1996. Non-Starch plant polysaccharides in broiler nutrition towards a physiologically valid approach to their determination. World 's poult. Sci. j. 52: 203-221.

27. Teng, Y. and Xu, Y. 2007. A modified para-nitrophenyl palmitate assay for lipase synthetic activity determination in organic solvent. Anal. Biochem. 363:297–299.

The effect of the non-starch polysaccharides levels on intestinal enzyme activity and performance of laying hens

Mirzaie S.[1], Zaghari M.[1], Aminzadeh S.[2] and Shivazad M.[1]

[1] Animal Science Dept., Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, I.R. of Iran

[2] Animal and Marine Biotechnology Dept., National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, I.R. of Iran

Abstract

In this investigation, the effects of inclusion of a Pishtaz wheat cultivar with high in non-starch polysaccharide and xylanase supplementation in the diet on productive performance, nutrient digestibility, and intestinal enzymes activity of laying hens was studied from 21 to 47 wk of age. Complete random design in factorial arrangement were modulated in 8 treatments with 4 levels of wheat (0, 23, 46, and 69%) corresponding to a dietary xylose content of 1.8, 2.0, 2.2, and 2.4% with or without XS. Each treatment was replicated 5 times (6 hens per each replicates). For the entire experimental period, egg weight ($P<0.05$) and egg mass ($P<0.01$) were reduced and feed conversion ratio (FCR) was impaired ($P<0.05$) with increased levels of xylose but ADFI and egg production were not affected. Xylanase supplementation improved egg production ($P<0.05$), egg weight and egg mass ($P<0.01$), and FCR ($P<0.01$). Fat digestibility ($P<0.001$) and AMEn content of the diets ($P<0.05$) decreased with increased levels of xylose but nitrogen retention was not affected. Xylose inclusion increased ($P<0.001$) amylase in the duodenum, and aminopeptidase and lipase activity in the duodenum and jejunum. Ileal viscosity increased ($P<0.001$) with level of xylose but decreased ($P<0.001$) with XS. The results of the current experiment show that increasing level of xylose decreased productive performance, fat digestibility and AMEn of the diet and increased endogenous enzyme activity.

Key words: non-starch polysaccharides, laying hen performance, intestinal enzyme activity, nutrient digestibility.