نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۰۷، تابستان ۱۳۹٤
ص‌ص: ۲۵۳~۲٦۸

اثر کربوهیدرات‌های دیواره سلولی سبوس و دانه گندم در جیره های همراه و بدون آنزیم بر فعالیت آنزیم‌های سرم و روده، اسیدهای چرب فرار، ریخت‌شناسی و جمعیت باکتریایی روده جوجه‌های گوشتی

- **اکبر یعقوبفر**(نویسنده مسئول)

استاد و عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.

- **نیما ایلاء**

استادیار ووعضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

- **مینا دهقان**

دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

- **علی کوچکی**

کارشناس ازمایشگاه تغذیه دام و طیور موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.

تاریخ دریافت : آذر ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش : بهمن ۱۳۹۳

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۲۰۸۲۰۵۳

Email: yaghobfar@yahoo.com

چکیده

آزمایشی با استفاده از ۷۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه (سویه راس ۳۰۸) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵ تکرار با ۳۰ قطعه در هر تکرار برای بررسی اثرات کربوهیدرات غیر نشاسته ای گندم و سبوس گندم بر فراسنجه های فیزیولوژیکی، شمارش جمعیت میکروبی و اسیدهای چرب فرار روده باریک اجرا گردید. تیمار های آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد، ۲- جیره حاوی گندم، ۳- جیره حاوی سبوس گندم، ٤- جیره حاوی گندم مکمل شده با آنزیم و ۵- جیره حاوی سبوس گندم مکمل شده با آنزیم بودند. تاثیر کربوهیدرات غیر نشاسته ای (گندم و سبوس گندم) در تغییر جمعیت باکتریایی روده باریک جوجه های گوشتی، معنی‌دار بود. کمترین جمعیت باکتری های گرم منفی، کلی فرم و کلستریدیوم و بیشترین جمعیت لاکتوباسیل و بیفیدوباکتری در گروه شاهد و تیمارهای مکمل شده با آنزیم مشاهده شدند. کمترین و بیشترین مقدار اسیدیته (pH) به ترتیب مربوط به جیره های حاوی گندم و سبوس گندم با آنزیم بود. بیشترین مقدار گران روی (ویسکوزیته) در جیره حاوی سبوس گندم و کمترین آن در گروه شاهد مشاهده شد. تاثیر جیره های حاوی کربوهیدرات غیر نشاسته ای بر فعالیت آنزیمی لوزالمعده و غلظت آنزیمی سرم خون جوجه‌ها افزایش معنی‌داری داشت. استفاده از گندم باعث کاهش ارتفاع پرز و افزایش عمق کریپت گردید، اما مکمل نمودن با آنزیم باعث افزایش طول پرز و کاهش عمق کریپت گردید. بیشترین ارتفاع پرز ایلئوم به تیمار گندم+آنزیم تعلق داشت. در کل استفاده از گندم و سبوس گندم در جیره های غذایی جوجه‌های گوشتی تاثیر نامطلوبی در صفات فیزیولوژی جوجه های گوشتی داشت، ولی استفاده از آنزیم باعث بهبود اثرات نامطلوب گردید

واژه‌های کلیدی: گندم، سبوس گندم، کربوهیدرات غیر نشاسته ای، جمعیت باکتریایی ، اسیدهای چرب فرار، جوجه گوشتی .

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 107 pp: 253-268

Determination of the effects of carbohydrates in the cell walls of wheat bran and wheat containing diets with and without enzyme on intestinal and blood enzyme activity, VFA, viscosity, bacteria and PH parameters of broilers

Akbar Yaghobfar*1 , Nima Ila2, Mina Dehghan3, Ali Reza Koocheki4
1: Ph.D and Prof. of poultry Nutrition
Animal Science Research Institute, Karaj, Iran. Tel: +989122082053, E-mail: yaghobfar@yahoo.com.
Corresponding author: Akbar Yaghobfar
2:Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
3:M.Sc. student of Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Karaj Branch, Islamic Azad .University, Karaj, Iran
4:Animal Science Research Institute, karaj, Iran

Received: December 2014 **Accepted: February 2015**

A total number of 750 one day old Ross-308 broiler chickens were allocated randomly to 5 treatments with 5 replicates using a CRD statistical design. An experiment was conducted to evaluate the effects of diets content of NSP wheat and wheat bran sources with and without exogenous enzymes on gut microbial population and physiological characteristics of broilers. Treatments were control, wheat, wheat bran, wheat+ enzyme, and wheat bran+ enzyme. Effects of different treatments and supplemented enzymes groups on the intestinal microbial population were significant. The least population of gram negative, coliforms and clostridiums and the highest population of lactic acid and bifidobacteria were existed in control and enzyme supplemented groups.Maximum digesta pH was belonged to wheat and wheat bran groups. The highest and least digesta viscosity was observed in wheat bran and control treatments respectively. Control had the least and highest pancreatic amylase and lipase enzyme activity respectively. Using of wheat diets decreased the villus length but increased the cript depth. However, supplementation of those diets with exogenous enzymes restored the situation.The highest and least villus length at deudenum, jejenum and ilium were belonged to wheat+ enzyme wheat bran groups respectively. In conclusion, using of wheat and wheat bran in broiler had negative effects on productive and physiological characteristics but supplementation of its with exogenous enzymes restored the situation.

Key words: wheat, bran wheat, non-starch polysaccharide, gut microbial, VF, brolier.

مقدمه

پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول در دستگاه گوارش و عمل متقابل آن‌ها با باکتری های موجود در محیط روده باریک، در فعالیت فیزیولوژیکی و بافت روده نقش بسزایی دارند. مکانیسم های ایجاد کننده این تغییرات شامل افزایش زمان عبور مواد هضمی از روده، تغییر و تبدیل در تولید و ترشح موکوس روده و ایجاد تغییرات فاحش در تنظیمات هورمونی روده به دلیل تغییر در درجه و میزان جذب مواد مغذی از روده می‌باشد (Choct، ۱۹۹۷). دردیواره سلولی آندوسپرم دانه‌های غلات، بخشی از کربوهیدرات‌های ساختمانی وجود دارند (اغلب آرابینوزایلان در گندم) که هر دو در روده کوچک طیور محلولند و وزن مولکولی بالایی دارند. ترکیب دو ویژگی آن‌ها سبب می شود که در یک محلول، برای آزادی حرکت مواد حل شده تداخل بوجود آید. از آن‌جا که هضم، یک فرآیند دینامیکی است که به انتشار آنزیم‌ها، سوبستراها و محصولات وابسته است، با هر گونه تداخلی در تحرک آزاد مولکولی بی شک بازده همه مراحل کاهش خواهد یافت. پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول با جذب آب، توده-ای چسبنده در دستگاه گوارش طیور ایجاد می‌کنند که سرانجام منجر به تشکیل کیموس[1] می‌شوند و برای قابل استفاده شدن مواد مغذی مانند نشاسته توسط طیور، نقش مهم و تعیین کننده‌ای را ایفا می کنند (یعقوبفر ۱۳۹۰).

[1] Chyme

پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول به میزان زیادی با گلایکوکالیکس[2] که کربوهیدرات موجود در غشای سلولی مرز مسواکی روده می باشد، وارد واکنش متقابل شده و نهایتاً منجر به ایجاد ضخامت بیشتر در لایه ساکن آب مجاور موکوس پوششی روده شده که این امر به میزان زیادی از کارآیی جذب مواد مغذی در خلال دیواره پوششی روده، می کاهد (Choct، ۱۹۹۲a، ۱۹۹۹). افزایش میزان ویسکوزیته محتویات روده، سبب کاهش انتقال گلوکز و سدیم، کاهش میزان آزادسازی آنزیم‌های پانکراس، کاهش میزان انتشار سوبسترا و آنزیم‌های گوارشی و ممانعت از ایجاد تماس مخاط روده با مواد غذایی می شود. از نظر تئوریکی سه ساز وکار برای افزایش گران روی(ویسکوزیته) محتویات روده متاثر از پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای دانه غلات (گندم) بیان شده است: ۱- ایجاد پیوندهای متقابل تحت تأثیر اکسیداسیون و تولید ژل غیرقابل برگشت. ۲- ایجاد پیوندهای غیرکووالانسی بین نقاطی از زنجیره آرابینوزایلان که فاقد شاخه است، شبیه پلیمرهایی که در قسمت سبوس گندم وجود دارند. ۳- از به هم پیوستن پلی ساکاریدهای غیر نشاسته، پلیمرهایی با وزن مولکولی بالا و شبکه‌های وسیع ایجاد می‌شود، که با پرکردن فضای روده و احاطه مواد غذایی، مانع جذب ترکیبات مغذی می‌شوند. این نوع مولکول‌ها در قسمت اندوسپرم و آلورون دانه فراوان هستند (یعقوبفر ۱۳۹۰).

حرکت آهسته مواد هضمی با فشار پائین اکسیژن در روده کوچک، محیط مناسبی را برای میکروارگانیسم‌های تخمیر کننده فراهم می‌کند. هرچند تصور می‌شد که افزایش تولید اسیدهای چرب فرار باعث افزایش استفاده از انرژی خوراک می شود، اما اکنون مشخص شده است که از طریق تغییرات شدید در اکوسیستم دستگاه گوارش، سبب کاهش عملکرد طیور می‌شوند. پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای سبب ایجاد تغییرات در ترشح آب، پروتئین، الکترولیت‌ها و چربی‌های با منشاء داخلی می‌شوند که باعث تغییراتی در اعمال دستگاه گوارش پرنده می‌گردند. بزرگ شدن اندام‌های گوارشی و افزایش ترشح شیره‌های گوارشی، همراه با کاهش هضم مواد مغذی از تغییرات حاصله در اثر پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول می‌باشند. پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول، ترشح اسیدهای صفراوی را افزایش می‌دهند و باعث افزایش دفع آن‌ها در مدفوع می‌گردند (یعقوبفر ۱۳۹۰). جذب اسیدهای چرب و مونوآسیل گلیسرول‌ها منوط است به عبور آن‌ها از عرض لایه آبی ساکن، که سطح موکوس روده را می پوشاند. ترشح مایع غلیظ موکوسی از سلول های گابلت موجب تشکیل لایه آبی ساکن می‌شود و از آن جایی‌که فیبرهای محلول می‌توانند باعث ترشح موکوس گردند، مصرف پکتین‌های تولید کننده ژل می‌تواند با افزایش ضخامت لایه آبی ساکن همراه باشد. بخش فیبر خوراکی[3]، به وسیله میکروفلور به اسید چرب با زنجیره کوتاه عملکردی، آمونیاک، دی اکسیدکربن و متان تخمیر می شود (Jomroz- و همکاران ۱۹۹۸؛ Marounek و همکاران ۱۹۹۹؛ Jomroz و همکاران ۲۰۰۲). در مقایسه با دیگر حیوانات غیر نشخوارکننده، جوجه‌ها کمتر قادر به تخمیر بخش فیبر خوراکی می باشند (Carre و همکاران ۱۹۹۰؛ Jorgensen ۱۹۹۶). به علاوه، Langhout و Schutte (۱۹۹۶) نشان دادند که نه تنها مقدار بلکه نوع فیبر خوراکی نیز نقش محتوی پکتین را بازی می کند و می تواند کارایی جوجه و تخمیر سکومی را به علت درجه استریفیه شدن، تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین، آزمایش به منظور بررسی تعیین اثرات پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای دانه و سبوس گندم به عنوان منابع خوراکی در تغذیه جوجه‌های گوشتی بر فعالیت آنزیمی روده باریک و خون، اسیدهای چرب فرار، ویسکوزیته، جمعیت باکتریایی و اسیدیته (pH) با ریخت شناسی روده صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از ۵ تیمار آزمایشی با ۵ تکرار و تعداد ۳۰ قطعه در هر تکرار جمعاً ۷۵۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸ به مدت ۴۲ روز انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل : جیره شاهد، جیره حاوی۲۰ درصد گندم، جیره حاوی ۲۰ درصد سبوس گندم بودند (جدول ۱). مقدار کربوهیدرات های غیر نشاسته‌ای مواد خوراکی و جیره‌های غذایی مورد استفاده در آزمایش در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است

[2] Glicocalyx
[3] Dietary Fiber

(یعقوبفر ۱۳۹۰ و میرزایی و همکاران ۲۰۱۲).

جدول ۱- ترکیب جیره های آزمایشی از ۲۱ تا ۴۲ روزگی

اقلام مواد خوراکی (درصد)	جیره شاهد	جیره حاوی گندم	جیره حاوی سبوس گندم
ذرت	۵۹	۴۰	۴۳/۷
کنجاله سویا	۳۳	۳۲	۲۶/۲
روغن سویا	۲/۹	۲/۸۵	۶
گندم	–	۲۰	–
سبوس گندم	–	–	۲۰
دی کلسیم فسفات	۲/۵	۲/۵	۱/۷
پودر صدف	۱/۳۵	۱/۳۵	۱/۲
کلرید سدیم	۰/۳	۰/۳	۰/۳
کربنات پتاسیم	۰/۱	۰/۱	۰/۱
DL- متیونین	۰/۲۵	۰/۳۰	۰/۲۳
L- لیزین HCl	۰/۱	۰/۱	۰/۰۷
پیش مخلوط ویتامینی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
پیش مخلوط معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
مقادیر محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۹۵۰	۲۹۵۰	۲۹۵۰
پروتئین	۱۹	۱۹	۱۹
متیونین + سیستین	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۴
لیزین	۱/۲	۱/۲	۱/۱۰
کلسیم	۱/۰۳	۱/۰۲	۰/۹۵
فسفر قابل دسترس	۰/۶۵	۰/۶۲	۰/۵۳
سدیم	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
کلر	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲۲
پتاسیم	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۴
Na+K-Cl (meq/kg)	۲۳۱/۷۸	۲۳۱/۱۵	۲۳۰/۵۰

* مکمل آنزیم مورد استفاده در سطح ۰/۱ درصد جیره به ازای هر گرم دارای ۱۰۰۰ واحد فعال آنزیم فیتاز و ۱۸۰ واحد فعال مولتی گلایکاناز بوده است.

* مکمل مورد استفاده در ترکیب جیره ها در هرکیلوگرم، دارای مواد زیر بوده است: ویتامین ها شامل: ۴۴۰۰۰ واحد بین المللی آ، ۷۲۰۰ واحد جهانی د- ۳، ۴۴۰ میلی گرم ای، ۴۰ میلی گرم کا ، ۷۰ میلی گرم کوبالامین، ۶۵ میلی گرم تیامین، ۳۲۰ میلی گرم ریبوفلاوین، ۲۹۰ میلی گرم اسید پانتوتنیک ، ۱۲۲۰ میلی گرم نیاسین ، ۶۵ میلی گرم پیریدوکسین ، ۲۲ میلی گرم بیوتین و ۲۷۰ میلی گرم کولین کلراید. مواد معدنی شامل :۹۵۰ میلی گرم منگنز، ۴۵۰ میلی گرم روی، ۳۲۰ میلی گرم آهن،۱۰۰ میلی گرم مس، ۶۵ میلی گرم سلنیوم، ۶۸ میلی گرم ید و ۴۵ میلی گرم کبالت.

جدول۲ - سلولز، همی سلولز، پلی ساکارید غیر نشاسته‌ای محلول، نامحلول و کل، کل فیبر جیره‌ای و کربوهیدرات‌های غیر فیبری گندم و سبوس گندم مورد استفاده در آزمایش (درصد)

نمونه	سلولز[1]	همی سلولز[2]	کل فیبر جیره[3]	کل فیبر محلول جیره	کل فیبر نامحلول جیره	پلی ساکاریدهای غیرنشاسته[3]	NFC[4]
گندم	۱/۸	۱۰/۴	۱۷/۲۲	۱/۰۱	۱۶/۲۱	۱۸/۸	۶۹/۲
سبوس گندم ۶	۹/	۳۱/۶۰	۳۷/۴۰	۲/۹۰	۳۵/۹	۴۴/۹	۳۲/۵۳

سلولز[1] : Acid Detergent Fiber – Acid Detergent Lignin

همی سلولز[2] : Neutral Detergent Fiber – Acid Detergent Fiber

پلی ساکاریدهای غیرنشاسته[3] = + لیگنین کل فیبر جیره(Dietary Fiber)

[4] کربوهیدرات‌های غیر فیبری :[100-(%NDF + %CP + %Fat + Ash)]

Non-Fiber-Carbonydraee (NFC) کربوهیدرات‌های غیر فیبری

جدول ۳- مقدار محاسبه و اندازه گیری شده کل کربوهیدرات های غیر نشاسته‌ای جیره‌های آزمایشی

جیره های آزمایشی	جیره حاوی سبوس گندم	جیره حاوی گندم
اندازه گیری شده کل	۲۴/۰۵±۱/۰۸	۲۲/۲۰±۲/۵
محاسبه شده کل	۱۸/۲۵	۲۲/۷۷
محاسبه شده محلول	۲/۴۳	۲/۹۷
محاسبه شده نامحلول	۱۶/۰۳	۱۸/۸۶
تفاضل محاسبه با اندازه گیری شده	۵/۸	۰/۵۷

میزان اسیدیته محتویات ایلئوم روده باریک

جهت بررسی اثر منابع مختلف کربوهیدرات غیر نشاسته‌ای بر میزان اسیدیته محتویات ایلئوم و مقایسه آن‌ها نسبت به هم، از معیار تعیین میزان اسیدیته (pH) یا اسیدیته محتویات روده در ناحیه ایلئوم استفاده شد. برای این منظور از روش شرح داده شده توسط Langhout و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد.

برای اندازه گیری اسیدیته، حدود ۵ گرم از محتویات هضمی تازه و آبدار منطقه ایلئوم (به فاصله ۱۰ سانتی متر از زائده مکل تا ۱۰ سانتی متری دریچه ایلئوسکال) از تمامی نمونه‌های کشتار شده بلافاصله بعد از کشتار استخراج و درون لوله های استریل قرار گرفته و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگه داشته شدند. سپس، نمونه مورد نظر کاملاً هموژن شده و با استفاده از حس گر ویژه (پروب) دستگاه pH متر دیجیتال(مدل Lutron,PH-201)، اسیدیته آن‌ها اندازه گیری شد. لازم به ذکر است که قبل از هر اندازه گیری اسیدیته، دستگاه pH متر با استفاده از محلول خنثی و استاندارد تنظیم شده و سپس اقدام به اندازه گیری گردید.

میزان گران روی (ویسکوزیته) محتویات ایلئوم

جهت بررسی اثر منابع مختلف کربوهیدرات غیر نشاسته‌ای بر میزان گران روی محتویات ایلئوم و مقایسه آن‌ها نسبت به هم، از معیار تعیین گران روی یا ویسکوزیته محتویات هضمی روده در ناحیه ایلئوم استفاده شد. برای این منظور از روش شرح داده شده توسط یعقوبفر و همکاران ۱۳۸۳ استفاده گردید. برای اندازه گیری گران روی، حدود ۱/۵ گرم از محتویات هضمی تازه و آبدار منطقه ایلئوم (به فاصله ۱۰ سانتی متر از زائده مکل تا ۱۰ سانتی متری دریچه ایلئوسکال) از تمامی نمونه های کشتار شده

بلافاصله بعد از کشتار استخراج ودرون لوله های استریل قرار گرفته سپس، به لوله‌های مخصوص دستگاه سانتریفیوژ منتقل شدند و توسط دستگاه مزبور با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. پس از آن، مایع رویی در بالای لوله ها (حدود ۰/۵ میلی لیتر) جدا و توسط دستگاه ویسکومتر دیجیتال ساخت شرکت Brookfield مدل DV-II بر اساس معیار سانتی پوز (cPs) مورد اندازه گیری قرار گرفتند.

شناسایی و شمارش میکروبی محتویات هضمی ایلئوم

جهت بررسی اثر منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیر نشاسته‌ای مکمل شده با آنزیم بر وضعیت میکروبی محتویات هضمی روده جوجه‌ها در ناحیه ایلئوم، مشخصه‌های جمعیت کل باکتری‌ها، جمعیت باکتری‌های نوع گرم منفی، کلی فرم، لاکتوباسیل، بیفیدوباکتر و کلستریدیوم شناسایی و شمارش شدند. برای بررسی جمعیت باکتری‌های روده‌ای، در روز کشتار حدود ۳ گرم از محتویات روده کوچک از یک قطعه جوجه از هر تکرار به لوله های استریل حاوی ۹ میلی لیتر بافر فسفات منتقل شده و لوله ها داخل فلاسک حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. ترکیبات تشکیل دهنده بافر شامل کلرید سدیم (NaCl) به مقدار ۸/۵ گرم در لیتر، فسفات هیدروژن سدیم(NaH2PO4) به مقدار ۰/۶۸ گرم در لیتر و سود (NaOH) به مقدار ۰/۱۵ گرم در لیتر بودند. فنل قرمز به عنوان معرف pH مورد استفاده قرار گرفت. pH محلول برابر ۷ تا ۷/۲ بود. جهت بررسی و شمارش گونه های مختلف میکروب های روده از رویه های استاندارد استفاده شد. برای شمارش کل تعداد باکتری‌ها از روش رنگ آمیزی و شمارش کلنی استفاده شد. برای شمارش باکتری‌های سویه‌های مختلف از روش شمارش کلنی در محیط‌های اختصاصی هر سویه استفاده شد. روش شمارش کلنی بر این فرضیه استوار است که هر باکتری در نمونه اولیه می تواند در محیط کشت یک کلنی جدید ایجاد نماید. بر اساس رقت نمونه و وسعت لام، هر یک باکتری شمارش شده نشانگر وجود ۵۰ تا ۵۰۰ هزار باکتری در نمونه اصلی می باشد. برای شمارش تعداد کل و تعداد باکتری های گرم منفی، کلی فرم، لاکتوباسیل، بیفیدوباکتر و کلستریدیوم پس از تهیه ۱۰ رقت متوالی از نمونه اولیه، از هر کدام از رقت ها ۱۰۰ میکرولیتر به ترتیب به محیط های کشت آگار مغذی، محیط کشت اختصاصی باکتری‌های گرم منفی (EMB)[4]، محیط کشت ویژه باکتری‌های کلی فرم (MCA)[5]،محیط کشت ویژه باکتری های لاکتوباسیل (RA)[6] و بیفیدوباکتر (EA)[7] و محیط کشت اختصاصی باکتری‌های کلستریدیوم (RCA)[8] انتقال داده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. به استثنای رقت های اولیه که تعداد کلنی‌های تشکیل شده در آن‌ها غیر قابل شمارش بود، تمام پلیت‌هائی که تعداد کلنی‌های آن ما بین ۳۰ تا ۳۰۰ عدد بود شمارش و از ضرب تعداد آن‌ها در رقت مربوطه، شمار باکتری‌ها در نمونه اولیه تعیین گردید.

اندازه گیری فعالیت آنزیمی لوزالمعده

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های لوزالمعده از جمله آمیلاز (EC 3.2.1.1) ولیپاز (EC 3.1.1.3) به ترتیب توسط کیت-های اختصاصی ساخت شرکت پارس آزمون (شماره کیت TS.M.91.4.5) وشرکت زیست شیمی (شماره کیت TI.889-64604) با استفاده از روش اسپکتروفتومتری طبق دستور العمل شرکت های سازنده، انجام شد. در ابتدا نمونه‌های بافتی لوزالمعده بعد از بیرون آمدن از فریزر در دمای عادی قرار گرفته تا ذوب شوند. سپس، یک گرم از بافت لوزالمعده به همراه ۱۰ میلی لیتر از محلول بافر استاندارد حاوی ۱۰۰ میلی مول مانیتول به اضافه ۲ میلی مول محلول HEPES/KOH با pH حدود ۶/۵ کاملا هموژنیزه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول بدست آمده از قسمت بالای لوله جدا شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد درون فریزر نگهداری گردید. سپس طبق دستورالعمل کیت‌های مربوطه اقدام به تهیه محلول‌های

[4]. Eosin Methylene Blue Agar (EMB)

[5]. MacConkey Agar (MCA)

[6]. Rogosa Agar (RA)

[7]. Eugon Agar (EA)

[8]. Reinforced Clostridial Agar (RCA)

معرف لازم شد و نسبت های مشخص از نمونه و معرف مخلوط و نمونه های بدست آمده به دستگاه اسپکتروفتومتر انتقال داده شدند. برای آمیلاز از طول موج ۵۸۰ نانومتر، برای لیپاز از طول موج ۵۷۸ نانومتر و برای نمونه پروتئین کل از طول موج ۵۴۶ نانومتر طبق دستورالعمل‌های مربوطه استفاده شد. سپس به ترتیب در زمان‌های صفر، ۱ و ۲ دقیقه بعد از شروع کار قرائت دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. مقادیر نهایی توسط فرمول‌های مربوطه محاسبه و به عنوان نتایج اندازه‌گیری در مقیاس واحد فعالیت آنزیمی در لیتر (U/L)، مورد استفاده قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری فعالیت‌های ویژه آنزیمی لوزالمعده (PSEA)[9]، ابتدا لازم است غلظت کل پروتئین نمونه لوزالمعده به عنوان شاخص تعیین شده سپس مقادیر بدست آمده از سنجش فعالیت‌های آنزیمی (بر حسب واحد در لیتر) بر عدد بدست آمده به عنوان شاخص تصحیح پروتئین، تقسیم گردند. استخراج پروتئین نمونه بافت لوزالمعده توسط کیت های اختصاصی شرکت پارس آزمون ویژه تشخیص کمی مقدار کل پروتئین (شماره کیت TS.M 10-558) انجام شد.

اندازه گیری غلظت آنزیم های موجود در سرم خون

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم های سرم خون از جمله آمیلاز (EC 3.2.1.1) و لیپاز (EC 3.1.1.3) مشابه رویه توضیح داده شده در بالا به ترتیب توسط کیت‌های اختصاصی ساخت شرکت پارس آزمون (شماره کیت TS.M.91.4.5) و شرکت زیست شیمی (شماره کیت TI.88964604) با استفاده از روش اسپکتروفتومتری طبق دستور العمل شرکت سازنده انجام شد.

ریخت شناسی بافت روده و تعیین ابعاد پرزهای بخش ایلئوم روده

جهت بررسی ریخت شناسی بافت روده جوجه‌ها و تعیین ابعاد پرزهای بخش‌های مختلف روده در پایان دوره پرورش از هر واحد آزمایشی، ۳ قطعه جوجه به صورت تصادفی انتخاب و بعد از وزن کشی انفرادی کشتار شدند تا اندازه‌گیری‌های لازم روی این نمونه‌ها انجام شود. به این منظور، قطعاتی با اندازه حدود ۳ سانتی متر از قسمت نزولی دئودنوم، قسمت میانی ژژنوم و قسمت انتهایی ایلئوم جدا شدند. قطعات روده با محلول سرم فیزیولوژیک حاوی بافر خنثی(با pH حدود ۷/۲) شستشو داده شدند. سپس این قطعات درون محلول بافر فرمالین با همان اسیدیته و با غلظت ۱۵ درصد تثبیت شدند. قطعات به همراه بافر فرمالین به داخل ظروف درب دار استریل انتقال داده شدند تا در زمان مناسب جهت اندازه-گیری‌های ریخت شناسی روده مورد استفاده قرار گیرند. جهت اندازه‌گیری ابعاد پرز و عمق کریپت از رویه تشریح شده توسط Yu و همکاران(۱۹۹۸) استفاده شد. در این رویه ابتدا قطعات روده تثبیت شده در محلول فرمالین در مراحل قبلی، با روش رنگ آمیزی فوشین رنگ شده سپس توسط پارافین جامد تثبیت گردیده و توسط دستگاه میکروتوم برش داده می شوند. قطعات برش داده شده بر روی لام میکروسکوپ قرار گرفته و توسط دستگاه استریومیکروسکوپ (Sigma Scan, Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA) با درجه بزرگنمایی ۵۰ و ۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. از تقسیم ارتفاع پرز به عمق کریپت نسبت مربوطه استخراج و در جداول مربوطه ارایه گردیدند.

اسید چرب فرار

جهت اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار، مقدار ۱/۵ گرم از مواد هضمی گوارشی با آب مقطر رقیق و بعد از هموژنیزه نمودن سانتریفیوژ شده سپس ۱ میلی لیتر از سوپرناتانت با ۰/۲ میلی لیتر محلول متافسفریک اسید مخلوط و هموژنیزه می‌گردد و بعد از۰/۵ ساعت نمونه‌ها دوباره سانتریفیوژ(۱۸۴۴دور و به مدت ۱۰ دقیقه) و سوپرناتانت با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی جهت اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار تولیدی روده باریک (اسید استیک، اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک) به روش Zhou و همکاران (۲۰۰۳)، اندازه‌گیری شدند(مقدار نمونه مصرفی: ۴۰۰ میکرولیتر، مقدار استاندارد مصرفی: ۵۰ میکرولیتر، نوع استاندارد: ۴- متیل والریک اسید، نوع دستگاه، مدل و شرکت سازنده: GC – PU4410 – PHILIPS ، نوع ستون: 10PEG (طول ۲ متر ، قطر ۴۵ میلی‌متر)، مقدار تزریق نمونه به دستگاه: ۵ میکرولیتر).

کلیه داده ها با استفاده از نرم افزار اکسل و جهت تجزیه و تحلیل

[9]. Pancreatic Specific Enzyme Activity (PSEA)

آماری به نرم افزار SAS ویرایش ۹/۱ (SAS، ۲۰۰۴) منتقل شدند. در این نرم افزار، از رویه مدل خطی عمومی (GLM) و مقایسه میانگین استفاده شد. میانگین اثرات معنی دار در تجزیه واریانس (P<۰/۰۱) با آزمون چند دامنه‌ای دانکن[10] و فرض خطای ۰/۰۱ مقایسه گردیدند.

$$Yij = \mu + T i + e ij$$

μ میانگین مشاهدات، Ti اثر تیمار (داده مربوط به i امین تیمار)، eij اثر اشتباه آزمایشی (j امین مقداراشتباه از i امین)

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول ۴، بیشترین میزان اسیدیته روده باریک مربوط به گروه شاهد (۷/۳۲) و تیمارهای گندم، و سبوس گندم بود (۶/۹۶، و ۷/۷۱). در شرایطی که کمترین میزان اسیدیته نیز برای تیمارهای گندم و سبوس گندم فاقد آنزیم (۵/۶۷ و ۵/۷۴) بود و اختلافات آماری معنی داری نشان داد (p<۰/۰۱). بیشترین میزان گران روی (ویسکوزیته) مربوط به تیمارهای گندم و سبوس گندم فاقد آنزیم (۲/۱۷ و ۲/۳۱ سانتی پواز) بوده و در عوض کمترین میزان گران روی نیز مربوط به تیمار شاهد (۱/۵۹ سانتی پواز) و تیمارهای گندم و سبوس گندم حاوی آنزیم (۱/۶۰ و ۱/۵۴ سانتی پواز) بوده است (جدول ۴). به این ترتیب جیره‌های دارای منابع مختلف کربوهیدرات های غیر نشاسته‌ای تاثیر معنی‌داری (p<۰/۰۱) در افزایش میزان گران روی تیمارهای فاقد آنزیم داشتند، ولی مکمل سازی آن‌ها با آنزیم باعث تعدیل این اثر منفی و بهبود شرایط فیزیکوشیمیایی محتویات گوارشی ایلئوم روده جوجه‌ها گردید.

همان طور که Graham و همکاران (۱۹۹۳) نشان دادند، افزایش میزان گران روی محتویات گوارشی به دنبال جذب مقادیر زیاد آب توسط پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول درآب، ایجاد توده ژله‌ای در روده می‌کندکه عامل مهم گران روی و افزایش فعالیت باکتری‌هاست و به نوبه خود نتایج ثانویه‌ای را ایجاد خواهد کرد (Langhout ۱۹۹۹ و ۲۰۰۰). نتایج تحقیقات نشان می‌دهند، افزایش میزان غلات دارای سطوح بالای کربوهیدرات‌های غیر نشاسته‌ای از جمله گندم و سبوس گندم که مقادیر قابل توجهی ترکیبات زایلان و بتاگلوکان دارند، باعث افزایش گران روی محتویات و به دنبال آن، افزایش جمعیت میکروبی تخمیر کننده مواد مغذی و تولید محصولات مختلف از جمله اسیدهای چرب فرار شده ودر نهایت منجر به کاهش اسیدیته محتویات می‌گردد (Thiabault و همکاران، ۱۹۹۳؛ Finnie و همکاران، ۲۰۰۶، Choct، ۱۹۹۷). این تغییرات در مجموع باعث کاهش اثر آنزیم های هضم کننده با منشا داخلی، کاهش انتقال مواد هضمی به سطح جذبی روده و کاهش میزان هضم و جذب مواد مغذی می گردند(Annison، ۱۹۹۰؛ Choct وAnnison ، ۱۹۹۲a؛ Choct و همکاران، ۲۰۰۰). در عوض استفاده از آنزیم‌های با منشا خارجی، تا حد زیادی این مشکل را رفع نموده، از میزان گران روی محتویات هضمی کاسته و اسیدیته روده را تعدیل می نماید که با نتایج بدست آمده در این آزمایش همخوانی دارد (Annison و همکاران، ۱۹۹۷؛ Graham و همکاران، ۱۹۹۳).

حضور مستمر ترکیبات کربوهیدرات غیر نشاسته‌ای در محیط روده ضمن تغییر خصوصیات فیزیکوشیمیایی از جمله کاهش اسیدیته و افزایش گران روی محتویات، باعث تحریک و تکثیر فلور میکروبی روده می شوند که آثار فیزیولوژیک متعددی از جمله تغییرات ساختاری پرزها و زواید پوششی بافت جداری روده را ایجاد می کنند. این تغییرات به طور مستقیم بر توانایی جذب مواد مغذی از روده کوچک تاثیر دارند (Ravindran و همکاران، ۱۹۹۹، Slominski، ۲۰۱۱). تجزیه ترکیبات ضد مغذی ناشی از جیره‌های حاوی گندم و سبوس گندم، باعث آزاد شدن مواد مغذی به دام افتاده در دیواره سلولی گیاهی شده و گران روی محتویات هضمی را کاهش می دهند. این امر باعث افزایش درجه انتشار مواد مغذی و تاثیر آنزیم‌های هضم کننده با منشا داخلی بر مواد غذایی و انتقال آن‌ها به سطوح جذبی روده می گردد (Bedford و همکاران ،۱۹۹۱؛ Bedford و Schulze، ۱۹۹۸؛ Ravindran و همکاران، ۱۹۹۹).

بر اساس نتایج جدول ۵، بیشترین تعداد جمعیت کل باکتری در بین تیمارها مربوط به جیره‌های دارای منابع مختلف کربوهیدرات

[10]. Duncan Multiple Range Test

های غیر نشاسته‌ای فاقد آنزیم بود($p<0/01$). در بین این تیمارها، تیمارهای گندم (۷/۱۲) وسبوس گندم (۶/۸۵) نسبت به تیمار شاهد، بیشترین جمعیت کل را داشتند.
کمترین جمعیت کل را گندم مکمل شده با آنزیم با تعداد ۵/۳۲ داشت و سبوس گندم با آنزیم (۵/۸۶) و تیمار شاهد با تعداد ۶/۶۶ در مراتب بعدی قرار گرفتند. به این ترتیب، مکمل سازی تیمارها با آنزیم باعث کاهش معنی دار جمعیت کل باکتری در جیره های دارای گندم و سبوس گندم حتی کمتر از گروه شاهد گردید($p<0/01$).

جدول ٤- تاثیر منابع مختلف کربوهیدرات غیر نشاسته‌ای بر اسیدیته وگران روی محتویات گوارشی روده باریک جوجه های گوشتی

تیمار /صفت	گران روی (سانتی پوز Cp)	اسیدیته (pH)
شاهد	$1/59^{c}$	$7/32^{a}$
گندم	$2/17^{ab}$	$5/67^{b}$
گندم + آنزیم	$1/60^{c}$	$6/96^{a}$
سبوس گندم	$2/31^{a}$	$5/74^{b}$
سبوس گندم + آنزیم	$1/54^{c}$	$7/71^{a}$
SEM	۰/۰۴	۰/۰۸
p-value	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱

* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد مربوط به میانگین های درون ستون ها بیانگر اختلاف آماری معنی دار می باشند ($P<0/01$).

بیشترین جمعیت باکتری‌های گرم منفی و سویه‌های کلی‌فرم و کلستریدیوم در تیمارهای دارای گندم و سبوس‌گندم فاقد آنزیم مشاهده شدند و در مقابل، مکمل سازی آن‌ها با آنزیم های یاد شده باعث کاهش معنی‌دار جمعیت این باکتری ها گردید. در این مورد نیز مکمل سازی جیره‌های فوق با آنزیم، باعث کاهش جمعیت باکتری های نامطلوب و افزایش باکتری های لاکتوباسیل و بیفیدوباکتر گردید (Viveros و همکاران، ۱۹۹۴؛ Jaroni و همکاران، ۱۹۹۹؛ Silva؛ Malati و همکاران،۲۰۰۱؛ Choct و Annison ۱۹۹۰؛ Langhout و همکاران، ۱۹۹۹ و ۲۰۰۰). نتایج آزمایش نشان دادند، ترکیبات پلیمری موجود در اقلام گندم باعث کاهش جمعیت میکروبی مفید از جمله باکتری‌های لاکتیک اسید و بیفیدوباکترها در محتویات هضمی روده کوچک شدند ($p<0/01$). همان طور که نتایج تحقیق نشان می دهند، باکتری‌های نوع پروبیوتیکی باعث تحریک عمل و تقویت سیستم ایمنی میزبان می گردند (Christensen و همکاران، ۲۰۰۲). از نظر غلظت تری‌گلیسیرید سرم خون، بالاترین سطح با مقدار ۱۳۱/۱۶ میلی گرم بر دسی لیتر به تیمار شاهد تعلق داشت. تیمارهای گندم (۱۱۶/۶۲) و تیمار سبوس‌گندم با مقدار ۱۰۶/۲۳۶ میلی‌گرم بر دسی لیتر کمترین سطح را به خود اختصاص دادند.
تاثیر ترکیبات و مشتقات گیاهی بر فراسنجه‌های خونی به ویژه غلظت گلوکز خون، به دلیل برخورداری آن‌ها از ترکیبات شیمیایی و مواد موثره مختلف (شامل پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای، ساپونین، گلیکوزید، فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی، مواد تلخ و موادی از این قبیل) بیان شده که نقش تحریک آنزیم های مترشحه از دستگاه گوارش بخصوص سلول های مرز مسواکی روده و غدد ترشح کننده آنزیم ها از جمله لوزالمعده را داشته و باعث افزایش سطح آنزیم‌های تجزیه‌کننده کربوهیدرات ها نظیر آمیلاز شده و در نهایت باعث افزایش سطح قند خون می شوند (Windisch و همکاران، ۲۰۰۷).

جدول ۵- تاثیر منابع مختلف کربوهیدرات غیر نشاسته‌ای بر شناسایی و شمارش میکروبی محتویات ایلئوم جوجه ها (log CFU/g)

تیمار /صفت	جمعیت کل	گرم منفی	کلی فرم	لاکتوباسیل	بیفیدوباکتر	کلستریدیوم
شاهد	۶/۶۶^{a}	۵/۳۱^{b}	۵/۰۷^{bc}	۴/۹۱^{b}	۵/۴۰^{bc}	۴/۸۵^{d}
گندم	۷/۱۲^{a}	۶/۳۳^{a}	۶/۳۲^{a}	۳/۸۷^{c}	۴/۰۶^{c}	۶/۲۸^{a}
گندم + آنزیم	۵/۳۲^{b}	۵/۲۱^{c}	۵/۲۱^{d}	۵/۱۹^{a}	۶/۶۷^{a}	۴/۸۲^{d}
سبوس گندم	۶/۸۵^{a}	۶/۲۱^{a}	۵/۳۵^{b}	۳/۶۲^{c}	۴/۴۳^{bc}	۵/۸۷^{bc}
سبوس گندم + آنزیم	۵/۸۶^{b}	۵/۵۴^{b}	۵/۰۵^{bc}	۵/۰۸^{a}	۵/۴۸^{b}	۵/۶۵^{c}
SEM	۰/۱۹	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۶	۰/۰۳	۰/۰۷
p-value	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد مربوط به میانگین های درون ستون ها بیانگر اختلاف آماری معنی دار می باشند (P<۰/۰۱).

در این آزمایش افزایش سطح گندم و سبوس گندم در جیره ها، باعث کاهش سطح گلوکز خون گردید که می تواند به علت اثر ثانویه پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای در ایجاد خواص فیزیکوشیمیایی نامطلوب نظیر افزایش گران روی محتویات هضمی و کاهش اثر آنزیم‌های شکننده کربوهیدرات ها و در نتیجه کاهش آزاد سازی گلوکز و جذب آن به خون باشد. بر اساس نتایج این تحقیق، گندم و سبوس گندم همراه و بدون آنزیم درجیره‌ها باعث کاهش سطح سرمی کلسترول وتری‌گلیسیرید جوجه‌ها گردید (p<۰/۰۱). این نتایج با گزارشات دیگر محققین (Sarikhan و همکاران، ۲۰۰۹)، همخوانی دارد. فیبر موجود در مواد خوراکی یا همان فیبر نامحلول به دلیل خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاص خود قادر به کاهش سطح کلسترول و تری گلیسیرید موجود در سرم خون بوده (Kahlon و همکاران، ۲۰۰۹) که در برابر هضم و جذب در دستگاه گوارش مقاوم بوده و دارای اثرات فیزیولوژیک مفید نظیر ملین بودن، کاهنده گلوکز، چربی و کلسترول خون می باشد. مولکول هایی که دارای فعالیت سطحی می باشند با میسل‌ها و اسیدهای صفراوی تشکیل پیوند داده و به همین دلیل، قابلیت هضم چربی در جیره های با سطوح بالای پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای کاهش می یابد (Choct، ۱۹۹۷). نتایج پژوهشی بیانگر آن است که بخش محلول در آب کربوهیدرات های غیر نشاسته ای مانندپنتوزان ها با مشارکت اجزای پکتینی و مولکول های درشت، مسئول اصلی ایجاد اثرات ضد مغذی، باند کردن مواد و از دسترس خارج کردن اجزایی چون چربی، پروتئین، نشاسته و کاتیون های دو ظرفیتی موجود در محتویات گوارشی روده تک معده‌ای ها می باشند (Choct و Annison، ۱۹۹۰؛ Choct ، ۱۹۹۹؛ Choct و همکاران ، ۲۰۰۰). پلی ساکاریدهای مولد ویسکوزیته می توانند باعث افزایش میزان ترشح اسیدهای صفراوی شده و در نتیجه باعث کاهش معنی دار این اسیدها در بدن از طریق دفع بیشتر آن‌ها شوند (Story و Lord، ۱۹۸۷، Kritchevsky و همکاران، ۱۹۷۴، Choct ، ۱۹۹۹). دفع مداوم اسیدهای صفراوی و چربی ها از طریق تجزیه و افزایش میزان دفع آن‌ها از طریق مدفوع، ممکن است در نهایت بر جذب چربی ها و کلسترول از روده اثر مستقیم بگذارد. مجموعه این تاثیرات باعث ایجاد تغییرات فاحش در دینامیک هضم و جذب در روده شده که البته در کاهش کارآیی هضم و جذب مواد مغذی تاثیر بسزایی خواهد داشت (Choct ، ۱۹۹۷). تیمارهای با منابع متفاوت کربوهیدرات های غیر نشاسته‌ای مکمل شده با آنزیم نیز تاثیر معنی داری بر فعالیت آنزیم های لوزالمعده ای جوجه های گوشتی تحت آزمایش داشتند. در تیمارهای حاوی آنزیم، فعالیت آنزیمی آمیلاز و لیپاز لوزالمعده ای نسبت به تیمارهای فاقد آنزیم کاهش یافت. در مورد سبوس گندم مکمل شده با آنزیم، این کاهش فعالیت آنزیمی برای هر دو آنزیم آمیلاز

و لیپاز نسبت به تیمار شاهد معنی دار بود و برای تیمار گندم مکمل شده با آنزیم فقط برای لیپاز تفاوت معنی داری مشاهده شد (p<۰/۰۱).

از نظر فعالیت آنزیمی آمیلاز، بیشترین میزان فعالیت مربوط به تیمارهای گندم (۱/۳۷) و سبوس گندم (۱/۰۸) بود که نسبت به تیمار شاهد (۰/۷۱) معنی دار بود (p<۰/۰۱). مکمل سازی جیره-های دارای منابع مختلف کربوهیدرات‌های غیر نشاسته‌ای منجر به تعدیل وکاهش سطح فعالیت آمیلاز لوزالمعده‌ای در جوجه‌های آزمایشی گردید که بیشترین فعالیت آنزیمی مربوط به تیمارهای گندم (۰/۴۲) و سبوس گندم (۰/۴۱) بود. در مقابل، کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد (۰/۲۴) بود.

جدول ٦- تاثیر منابع مختلف کربوهیدرات غیر نشاسته‌ای بر فراسنجه های بیوشیمیایی سرم خون جوجه (میلی مول در لیتر)

تیمار /صفت	گلوکز	تری گلیسیرید	کلسترول
شاهد	۱۵/۱۱ [a]	۱۳۱/۱۶ [a]	۱۳۴/۸۳[a]
گندم	۱۲/۳۱ [b]	۱۱۶/۶۳ [bc]	۱۱۶/۱۷[c]
گندم + آنزیم	۱۴/۳۲ [a]	۱۲۱/۲۵ [b]	۱۲۵/۵۰[b]
سبوس گندم	۱۱/۶۶ [b]	۱۰۶/۲۴ [d]	۱۱۵/۶۶[c]
سبوس گندم + آنزیم	۱۳/۸۹ [ab]	۱۱۶/۲۵ [bc]	۱۲۹/۶۶[ab]
SEM	۰/۴۸	۱/۲۴	۱/۵۴
p-value	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰

* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد مربوط به میانگین های درون ستون ها بیانگر اختلاف آماری معنی دار می باشند (p<۰/۰۱).

فعالیت آنزیمی لوزالمعده تیمارهای آزمایشی که با جیره حاوی گندم و سبوس گندم مکمل شده با آنزیم یا فاقد آنزیم تغذیه شده بودند، تاثیر معنی داری بر غلظت آنزیم‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی داشت (p<۰/۰۱). از نظر غلظت آنزیمی آمیلاز، بیشترین میزان غلظت مربوط به تیمارهای سبوس گندم (۶۸/۶۱) و تیمار گندم (۶۰/۴۸) بود. تیمار شاهد با مقدار ۲۲/۹۴ واحد در لیتر از کمترین غلظت آنزیمی آمیلاز در سرم برخوردار بود. استفاده از گندم وسبوس گندم، باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیمی لوزالمعده می گردد. این مسئله تبعات منفی زیادی برای پرنده در بر داشته و موجب افزایش فشار روی اندام های هضمی، افزایش اندازه غدد مترشحه آنزیم، اتلاف مواد مغذی و کاهش رشد پرنده می‌گردد (Bedford، ۲۰۰۳). این تاثیر ناشی از اثرات منفی پلی ساکاریدهای غیر نشاسته ای محلول و فقدان آنزیم های تخصصی شکننده آن‌ها در بدن پرندگان اهلی است. این مسئله باعث ایجاد گران روی محتویات هضمی و تولید توده ژله ای غیر قابل نفوذ برای آنزیم های هضم کننده شده و آنزیم های مترشحه از دستگاه گوارش و غدد ترشحی را درون شبکه گسترده خود به دام انداخته و از عمل اختصاصی آن‌ها روی مواد مغذی، شکسته شدن آن‌ها و در نهایت هضم و جذب و تخلیه این مواد از دستگاه گوارش جلوگیری می کند. در ادامه این اثرات منفی، به دلیل عدم کارایی آنزیم های ترشح شده قبلی، دستگاه گوارش و غدد ترشح کننده آنزیم، مقادیر بیشتری از آنزیم ها را تولید و به درون لومن دستگاه گوارش ترشح می کنند. ادامه این روند بی تاثیر فقط عوارض منفی یاد شده را به دنبال داشته و روی هضم و جذب مواد مغذی درون دستگاه گوارش تاثیر مثبتی ایجاد نخواهد کرد (Choct ، ۱۹۹۷؛ Slominski، ۲۰۱۱). مکمل سازی جیره‌های دارای غلات با آنزیم‌های با منشا خارجی، بر عملکرد و کارایی هضمی جیره و همچنین میزان ترشح آنزیم های با منشاداخلی از جمله آنزیم های مترشحه از روده و لوزالمعده اثر دارد (Sun و همکاران، ۲۰۰۷، Iji و همکاران، ۲۰۰۱b؛ میرزایی و همکاران، ۲۰۱۲).

نتایج نشان دادند که استفاده از گندم و سبوس گندم باعث افزایش

معنی دار غلظت آنزیم های آمیلاز ولیپاز موجود در سرم خون جوجه ها گردید. از آن جا که بیشتر آنزیم های موجود در سرم خون منشا کبدی دارند، سطح کربوهیدرات های موجود در آن بر غلظت آنزیم های حاصل از دستگاه گوارش و غدد درون ریز بدن تاثیر دارد (Ikegami و همکاران، ۱۹۹۰؛ Sun و همکاران، ۲۰۰۷). آنزیم های موجود در سرم خون با هدف تجزیه دی ساکاریدها و ذرات کوچک چربی و میسل های جذب شده به داخل جریان خون، از کبد به خون ترشح شده و این سوبستراها را مورد تجزیه قرار داده تا در نهایت جذب سلول ها شده و به مصرف تولید انرژی و سوخت و ساز و رشد و تکثیر سلول ها برسند (Lee و همکاران، ۲۰۰۴). این فرایند، دارای سیستم خود تنظیمی بوده و غلظت سوبستراها در خون، افزایش فعالیت انتقال دهنده های اختصاصی گلوکز در غشاهای سلولی و اسیدهای چرب در غشای میتوکندریایی در این تنظیم دخالت دارند. افزایش غلظت آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در سرم خون می تواند ناشی از دو عامل افزایش غلظت سوبسترا در سرم یا افزایش نرخ سوخت و ساز بدن باشد (Lee و همکاران، ۲۰۰۴؛ Sun و همکاران، ۲۰۰۷).

افزایش غلظت این آنزیم ها در سرم فقط می تواند ناشی از تاثیر ضد مغذی ترکیبات پلی ساکاریدی غیر نشاسته‌ای بر اندام های گوارشی و غدد ضمیمه گوارشی نظیر لوزالمعده و در این مورد به خصوص کبد باشد که در نهایت منجر به افزایش سنتز آن‌ها توسط کبد و و افزایش ترشح آنزیم های یاد شده به خون باشد (Sun و همکاران، ۲۰۰۷).

حضور عوامل ضد مغذی (نظیر پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای، تانن، ساپونین، گلیکوزید، فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی، مواد تلخ و موادی از این قبیل) در جیره ها نیز عاملی است که می تواند اندازه و فعالیت کبد را تحت تاثیر قرار دهد (Tollba و همکاران، ۲۰۱۰). غلظت این آنزیم ها در سرم خون شاخص خوبی برای ارزیابی وضعیت سلامتی کبد و صدمات احتمالی وارده به کبد در اثر تغذیه بیش از حد از مواد ضد مغذی می باشد. ضمن اینکه افزایش اندازه بی هدف و بی دلیل کبد می تواند موجب اتلاف مواد مغذی، مصرف پیش سازهای حیاتی مورد نیاز بدن برای تولید آنزیم ها و مواد ترشحی و در نهایت صدمه به عملکرد و کاهش رشد پرنده می گردد (Bedford، ۲۰۰۳).

جدول ۷- تاثیر منابع مختلف کربوهیدرات غیر نشاسته ای بر فعالیت آنزیمی لوزالمعده و سرم خون جوجه های گوشتی

	لوزالمعده (U/mg CP)		سرم خون (U/mL)	
تیمار /صفت	آمیلاز	لیپاز	آمیلاز	لیپاز
شاهد	۰/۷۱ c	۰/۲۴ b	۲۲/۹۴ d	۱۰/۰۰ c
گندم	۱/۳۷ a	۰/۴۲ a	۶۰/۴۸ b	۲۱/۸۳ a
گندم + آنزیم	۰/۸۸ b	۰/۲۸ b	۴۹/۹۹ c	۱۷/۶۳ b
سبوس گندم	۱/۰۸ ab	۰/۴۱ a	۶۸/۶۲ a	۲۳/۳۳ a
سبوس گندم + آنزیم	۰/۷۰ c	۰/۲۸ b	۵۳/۶۷ c	۲۰/۰۰ ab
SEM	۰/۰۶	۰/۰۳	۲/۶۲	۱/۴۴
p-value	۰/۰۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۶

* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد مربوط به میانگین ها درون ستون ها بیانگر اختلاف آماری معنی دار می باشند (P<۰/۰۱).

نتایج ارائه شده در جدول ۸ بیانگر آن است که تیمارهای آزمایشی با منابع کربوهیدرات های غیر نشاسته‌ای مکمل شده با و بدون آنزیم تاثیر معنی داری بر مشخصات ظاهری پرزهای ایلئوم روده کوچک جوجه های گوشتی داشتند (P<۰/۰۱). کمترین طول پرز نیز به تیمارهای گندم (۱۱۴۰/۶۷ میکرومتر) و کمترین عرض پرز را تیمار شاهد با مقدار ۸۷ میکرومتر به خود اختصاص دادند. تیمارهای گندم (۱۱۵ میکرومتر)، گندم با آنزیم (۱۰۹ میکرومتر)، و سبوس گندم (۱۱۲/۶۷ میکرومتر) دارای بیشترین عمق کریپت

بودند. کمترین عمق کریپت به تیمار سبوس گندم با آنزیم (۹۳/۶۶۷ میکرومتر) تعلق داشت در حالی که تیمار شاهد با مقدار ۱۰۵ میکرومتر بود. بیشترین نسبت طول به عرض پرز با مقدار ۱۷/۴۲ به تیمار سبوس گندم با آنزیم تعلق داشت. مصرف پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای در جیره، تغییر خصوصیات فیزیکوشیمیایی آثار فیزیولوژیک متعددی از جمله تغییرات ساختاری پرزها، تغییر فعالیت ترشحی سلول های گابلت و تغییرات مورفولوژیک زواید پوششی بافت جداری روده را ایجاد می کنند که به طور مستقیم بر توانایی جذب مواد مغذی تاثیر دارند (Jaroni و همکاران، ۱۹۹۹؛ Silva و Smithard، ۲۰۰۲). این نتایج بیانگر این مطلب است که افزایش سطح کربوهیدرات های غیر نشاسته‌ای محلول در آب در جیره جوجه‌ها به وضوح بر ساختمان و ابعاد ظاهری پرزهای ناحیه ایلئوم روده نیز اثرات منفی داشت، ولی این اثرات با مکمل سازی جیره ها با آنزیم مرتفع گردید. این اتفاق به کاهش گران روی محتویات گوارشی و حذف اثرات منفی آن بر ساختار پرزها و جلوگیری از تکثیر بی رویه سلول های زاینده کریپت مربوط می شود که در نهایت باعث افزایش طول پرز و طبیعی شدن ساختار آن می‌گردد (Silva و Smithard،۲۰۰۲).

جدول ۸- تاثیر منابع مختلف کربوهیدرات غیر نشاسته ای بر مشخصات ظاهری پرزهای ناحیه ایلئوم

تیمار /صفت	طول پرز (میکرومتر)	عرض پرز (میکرومتر)	عمق کریپت (میکرومتر)	نسبت طول به عرض پرز)	نسبت طول به عمق کریپت
شاهد	۱۲۸۵/۳۳ c	۸۷/۰۰ d	۱۰۵/۰۰ ab	۱۴/۹۴ b	۱۲/۵۰ bc
گندم	۱۱۴۰/۶۷ d	۱۲۸/۳۳ a	۱۱۵/۰۰ a	۸/۶۸ d	۹/۸۹ c
گندم + آنزیم	۱۴۰۸/۰۰ bc	۱۰۲/۶۷ c	۱۰۹/۶۷ a	۱۳/۳۳ bc	۱۲/۶۲ b
سبوس گندم	۱۵۶۶/۶۷ b	۱۲۲/۳۳ b	۱۱۲/۶۷ a	۱۲/۸۱ c	۱۳/۹۰ b
سبوس گندم + آنزیم	۱۷۷۷/۰۰ a	۱۰۲/۰۰ c	۹۳/۶۷ b	۱۷/۴۲ a	۱۸/۹۷ a
SEM	۸۷/۶۷	۳/۸۸	۳/۱۴	۰/۹۱	۰/۹۱
p-value	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد مربوط به میانگین های درون ستون ها بیانگر اختلاف آماری معنی دار می باشد (P<۰/۰۱).

براساس نتایج ارائه شده در جدول ۹ مشاهده می شود که تیمارهای آزمایشی مختلف دارای گندم و سبوس گندم مکمل شده با آنزیم یا فاقد آنزیم بر اسیدهای چرب فرار، تاثیر معنی داری نشان دادند(P<۰/۰۱). بیشترین مقدار اسید استیک و اسید ایزوبوتیریک مربوط به تیمارهای سبوس گندم (۹۲/۸۴) و سبوس گندم با آنزیم (۸۳/۲۰) بود. مقدار اسیدبوتیریک تیمارهای گندم (۱/۴۲) و سبوس گندم (۳/۷۴) مکمل سازی شده با آنزیم نسبت به گندم (۲۹/۲۰) و سبوس گندم (۲/۰۸) از نظر آماری معنی دار بودند (P<۰/۰۱). غلظت بالای اسیدهای چرب فرار نشان دهنده تخمیر توسط باکتری های بی‌هوازی (۱۰ تا ۵۰ برابر باکتری‌های هوازی) می باشد. کاهش ویسکوزیته مواد هضمی ایلئوم، منجر به کاهش تولید اسیدهای چرب فرار می شود. گزارشات دیگر نیز موید این تغییرات و یکسان نبودن غلظت اسیدهای چرب می باشند. غلظت اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و مقدار pH در سکوم جوجه های گوشتی به ترتیب ۱۰۷ تا ۱۸۵ میلی مول در کیلوگرم (mmol/kg) و ۵/۶۵ تا ۷/۸ بود (Jaroni و همکاران ،۱۹۹۸، یعقوبفر ۱۳۹۰). Langhout و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که غلظت اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه در شیرابه روده کور، وقتی که جوجه‌ها با جیره‌ای حاوی پکتین متیله مرکبات تغذیه شوند، کاهش می یابد. آنزیم‌های با منشا داخلی هم ممکن

است غلظت اسیدهای چرب زنجیره کوتاه را تحت تاثیر قرار دهند (Jamroz و همکاران ۱۹۹۴). اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه ممکن است به عنوان منبع انرژی به وسیله طیور، همانند گلوکز، استفاده شوند. مورتون در سال ۱۹۷۸ نشان داد که مقدار انرژی به دست آمده از این اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه، خیلی کمتر از آن است که نیازهای انرژی طیور را برآورده سازد.

جدول ۹- تاثیر منابع مختلف کربوهیدرات غیر نشاسته ای بر اسیدهای چرب (درصد مول)

تیمار /صفت	اسید استیک	اسید ایزوبوتیریک	اسید بوتیریک	اسید ایزووالریک	اسید والریک
شاهد	۶۳/۹۵^{b}	۲۰/۲۹^{a}	۳/۷۴^{b}	۶/۵۴^{b}	۱۸/۷۶^{a}
گندم	۷۷/۷۹^{ab}	۱۷/۹۴^{ab}	۲۹/۲۰^{a}	۶/۶۸^{b}	۱/۳۷^{b}
گندم + آنزیم	۶۹/۰۵$_{b}$	۱۳/۶۶^{ab}	۱/۴۲^{b}	۳/۳۰^{c}	۰/۰۰
سبوس گندم	۹۲/۸۴^{a}	۵/۲۱^{b}	۲/۰۸^{b}	۲/۷۱^{c}	۰/۰۰
سبوس گندم + آنزیم	۸۳/۲۰^{ab}	۷/۱۸^{b}	۳/۷۴^{b}	۸۱/۴۱^{a}	۰/۰۰
SEM	۱۰/۶۸	۱۱/۶	۵/۰۵	۰/۷۵	۰/۸۶
p-value	۰/۰۵	۰/۱۳	۰/۰۴	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱

* حروف لاتین متفاوت در بالای اعداد مربوط به میانگین های درون ستون ها بیانگر اختلاف آماری معنی دار می باشند (P<۰/۰۱).

نتیجه گیری کلی

جیره‌های غذایی با منابع پلی ساکاریدهای غیر نشاسته ای، از بیشترین جمعیت باکتری‌های گرم منفی، کلی فرم و کلستریدیوم و کمترین جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیل و بیفیدوباکتر برخوردار بودند. تاثیر جیره‌های مختلف بر فعالیت آنزیمی لوزالمعده و غلظت آنزیمی سرم خون جوجه ها نیز معنی‌دار بود. بیشترین ارتفاع پرز ایلئوم به تیمار گندم+آنزیم و کمترین عمق کریپت در ایلئوم به تیمار سبوس گندم با آنزیم تعلق داشت. استفاده از گندم و سبوس گندم باعث کاهش ارتفاع پرز و افزایش عمق کریپت گردید، اما مکمل شدن آن‌ها با آنزیم باعث افزایش طول پرز و کاهش عمق کریپت گردید.

منابع

یعقوبفر ا.، (۱۳۹۰) کربوهیدرات ها در تغذیه طیور. فصل ۱۱، ۱۲ و ۱۳.

یعقوبفر، ا.، س. میرزایی و ح. غلامی.۱۳۸۳. تعیین ویسکوزیته مواد خوراکی مورد استفاده در تغذیه طیور. مجله پژوهش کشاورزی: شماره ۱: ۶۱-۴۹.

Annison G., (1990) Polysaccharide composition of Australian wheats and digestibility of their starchs in broiler chicken. Australian Journal of Experimental Agriculture 30:233-239.

Bedford M.R. and Schulze H., (1998) Exogenous enzymes of pigs and poultry. Journal of Nutrition Research. A review 11:91-114.

Bedford M.R. Classen H.L. and Campbell G.L., (1991) The effect of pelleting, salt and pentosanase on the viscosity of intestinal contents and the performance if broilers fed rye. Poultry Science 70:1571-1577.

Bedford M.R., (2003) New enzyme technologies for poultry feeds. British Poultry Science 44:14-16.

Carre, B., Derouet, L., Leclereq, B., (1990) The digestibility of cell-wall polysaccharides from wheat (bran and whol grain), soybean meal, and white lupin meal in cockerels, muscovy ducks, and rate. Poultry Science, 69, 623-633.

Choct M. and Annison G., (1990) Aniti-Nutritive activity of wheat Pentosans in broiler diets. British Poultry Science 30:811-821.

Choct M. and Annison G., (1992a) The inhibition of nutrient digestion by wheat Pentosans. British Journal of Nutrition 67:123-132.

Choct M., (1997) Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. Feed Mill International 13-26.

Choct M., (1999) Soluble non-starch polysaccharides affect net utilization of energy by chickens. Recent Advances in Animal Nutrition. University of Armidale. NSW. 31-35.

Christensen H. R. Frokiar H. and Pestka J.J., (2002) Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. Journal of Immunology 168: 171- 178.

Finnie S.M. Bettge A.D. and Morris C.F., (2006) Influence of cultivar and environment on water-soluble and water-insoluble arabinoxylans in soft wheat. Journal of Cereal Chemistry 83:617-623.

Graham H. Bedford M. and Choct M., (1993) High gut digesta viscosity can reduce performance. Journal of Feed Stuff 65:1-4.

Iji P. A. Saki A. and Tivey D.V., (2001b) Body intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 2. Development and characteristics of intestinal enzymes. British Poultry Science 42:514-522.

Ikegami S. Tsuchihashi F. Harada H. Tsuchihashi N. Nishide E. Innami S., (1990) Effect of viscous indigestible polysaccharide on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats. Journal of Nutrition 120:353-360.

Jamroz, D., K. Jakobsen, K. Erik Bach Knudsen, A. Wiliczkiewicz, Orda J., (2002) Digestibility and energy value of non-starch polysaccharides in young chickens, ducks and geese, fed diets containing high amounts of barly. Comp. Bioch. Physiol. A 131, 657-668.

Jamroz, D., Wiliczkiewicz, A., Orda J., Skorupinska J., (1994) Ileal and postileal fermentation of cereal carbohydrates in chicken and ducks Wien, Tierarztl Monatsschr. 81, 80-84 (in German).

Jamroz, D., Wiliczkiewicz, A., Skorupinska, J., (1998) Fermentation and apparent digestion of the structural carbohydrates in chicks, ducks and geese fed triticale mixtures supplemented with enzymes. Journal Animal Physiology Animal Nutrition. 79, 1-17 (in German).

Jaroni D. Scheideler S.E. Beck M.M. and Wyatt C., (1999) The effect of dietary wheat middling and enzyme supplementation. II: Apparent nutrient digestibility, digestive tract size, gut viscosity and gut morphology In two strains of leghorn hens. Poultry Science 78:1664-1674.

Jorgensen, H., Zhao, X. Q., Knudsen, K.E. Eggum, B.O., (1996) The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. Brtish Journal Nutrition, 75: 379-395.

Kahlon T.S. and Shao Q., (2004) *In vitro* binding of bile acids by soy bean (*Glycine max*), black eye bean (Vigna unguiculata), garbanzo (*Cicer arietinum*) and lima bean (*Phaseolus lunatus*). Food Chemistry 86:435-440

Kahlon T.S. Chiu M.M. and Chapman M.H., (2009) In vitro bile-acid binding of whole vs. pearled wheat grain. Journal of Cereal Chemistry 86:329-332.

Kritchevsky D. and Story J.A., (1974) Binding of bile salts in vitro by non-nutritive fiber. Journal of Nutrition 104:458-462.

Langhout D.J. Schutte J.B. Van Leeuwen P. Wiebenga J. and Tamminga S., (1999) Effect of dietary high-and low-methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology if the small intestinal wall of broiler chicks. British Poultry Science 40:340-347.

Langhout D.J. Schuttle J.B De Jong J. Sloetjes H. Verstegen M.W.A and Tamminga S., (2000) Effect of viscosity on digestion of nutrients in conventional and germ-free chicks. British Journal of Nutrition 83:533-540.

Langhout D.J. Schuttle J.B., (1996) Nutrition implicats of pectins in chickens in relation to estrification and origin of pectins . Poultry Science, 75: 1236-1242

Lee X. Tomlinson G.L.Verruto J. Wong V.K. Mathur E.J. Short J.M. Robertson D.E and Steer B.A., (2004) Anevolutionary route to xylanase process fitness. Poultry Science 13:494-503.

Malathi V. and Devegowda G., (2001) In Vitro evaluation of nonstarch polysaccharide digestibility of feed ingredients by enzymes. Poultry Science 80:302-305.

Marounek M., Suchorska, O., (1999) Effect of substrate and feed antibiotics on in vitro production of volatile fatty acids and methane in cecal contents of chickens. Animal Feed Science Technology, 80: 23-230.

Mirzaie S. Zaghari M. Aminzadeh S. Shivazad M. Mateos G.G., (2012) Effect of wheat inclusion and xylanase supplementation of the diet on productive performance, nutrient retention and

endogenous intestinal enzyme activity of laying hens. Poultry Science 91:413-425.

Morton E.S., (1978) Avian arboreal folivores: why not? In: Montgomery, G.G. (Ed.), The eclogy of arboreal folivores Smithsonian intestinal.Washington, DC pp. 123-130.

Ravindran V. Selle P.H. Bryden W.L., (1999) Effects of phytase supplementation, individually and in combination, with glycanase, on the nutritive value of wheat and barley. Poultry Science 78:1588-1595.

Sarikhan M. Shahrayar H.A. Nazer-ADl K. Gholizadeh B. and Behesht B., (2009) Effect of insoluble fiber on serum biochemical characteristics in broiler. International Journal of Agriculture and Biology 11:73-76.

SAS Institute. (2004). SAS procedure guide for personal computers, STAT User Guide, Statistics. Version 9.1., SAS Institute INC, Cary NC.

Silva S.S and Smithard R.R., (2002) Effect of enzyme supplementation of a rye-based diet on xylanase activity in the small intestine of broilers, on intestinal crypt cell proliferation and on nutrient digestibility and growth performance of the birds. British Poultry Science 43:274-282.

Slominski B.A., (2011) Recent advances in research on enzymes for poultry diets. Poultry Science 90:2013-2023.

Smits C.H.M. Veldman A. Verstegen M.W.A. and Beynen A.C., (1997) Dietary carboxymethylcellulose with high instead of low viscosity reduces macronutrient digestion in broiler chickens. Journal of Nutrition 127:483–487.

Story J.A. and Lord S.L., (1987) Bile salts: *In vitro* studies with fiber components. Scandinavian Journal of Gastroenterology 129:174-180.

Sun X. McElroy A. Novak C. Wong E. Remus J. Stevens A. and Pierson W., (2007) Effect of corn and enzyme supplementation on broiler performance, gastrointestinal enzymes activity, nutrient retention, intestinal mucin, and jejunal gene expression. Dissertation submitted to the Virginia Polytechnic Institute and state university in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. Animal and Poultry Department of Virginia Polytechnic Institute and State University, November 19, 2007. Blacksburg, Virginia.

Thiabault J.F. Lahaye M. and Guillon F., (1993) Physicochemical properties of food plant cell walls. Dietary Fiber a Component of Food. LSI Human Nutrition Reviews 92:21-39

Tollba A.A.H. Shabaan S.A.M. and .Abdel-Mageed S.M.A., (2010) Effect of using aromatic herbal extract and blended with organic acids on productive and physiological performance of poultry . 2- The growth during cold winter stress. Egyptian Poultry Science, Vol 30, 1: 229-248.

Viveros A. Brenes A. Pizarro M. and Castanb M., (1994) Effect of enzyme supplementation of a diet based on barley on apparent digestibility, growth performance and gut morphology of broilers. Animal Feed Science and Tecnology 48:237-251.

Windisch W. Schedle K. Plitzner C. and Kroismayr A., (2007) Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. Journal of Animal Science. Vol 86: 140-148.

Yu B. Tsai C.C. Hsu J.C. and Chiou P.W.S. (1998). Effect of different sources of dietary fibre on growth performance, intestinal morphology and caecal carbohydrases of domestic geese. British Poultry Science 39:560-567.

Zhou J. P. Yang Z.B. Yang W.R. Wang W.Y. Jiang S.Z. and Zhang G.G. (2008). Effects of a new recombinant phytase on the performance and mineral utilization of broilers fed phosphorus-deficient diets. Journal of Applied Poultry Research 17:331-339.