

اثرات آنزیم فیتاز (ناتافوس) و مخمر ساکارومایسس سرویسیه (بایوساف) بر عملکرد، کلسیم و فسفر خون جوجه‌های گوشتی

محمود حقیقیان رودسری^{۱*}، محمد روستایی علیمهر^۲، سید مقداد طاهری تازی^۳،
سید عبدالحسین ابولقاسمی^۴ و سید علی اصغر سفیدگر^۵
۱، ۲، ۳، ۴، استادیاران، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و مربی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان
۵، استادیار گروه پزشکی دانشگاه مازندران
(تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۲۷ - تاریخ تصویب: ۸۹/۳/۱۹)

چکیده

به منظور بررسی امکان استفاده از آنزیم فیتاز و مخمر ساکارومایسس سرویسیه در جیره غذایی بر پایه ذرت-کنجاله سویا با فسفر قابل دسترس متفاوت در جوجه‌های گوشتی آرپور ایکرز، آزمایشی با ۲۶۴ قطعه جوجه یک روزه با میانگین وزن ۴۴/۶ گرم و با استفاده از یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار و در هر تکرار ۱۱ قطعه جوجه یک روزه برای دوره‌های آغازین، رشد و کل دوره انجام شد. جیره‌های آزمایشی در دوره‌های مختلف پرورش به گونه‌ای تهیه شدند که از نظر انرژی و پروتئین یکسان ولی از نظر مقدار فسفر قابل دسترس متفاوت بودند بطوریکه جیره بر پایه ذرت و سویا دارای مقدار فسفر توصیه شده NRC (شاهد) و جیره‌های دیگر حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس کمتر از توصیه شده بودند و سایر مواد مغذی جیره بر اساس انرژی متعادل شد. تیمارهای آزمایشی شامل T_۱ (جیره شاهد، T_۲) جیره شاهد + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر، T_۳ (جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC، T_۴) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۰/۱ درصد مخمر، T_۵ (جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز و T_۶) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر بود. موارد اندازه گیری شامل عملکرد (مصرف خوراک روزانه، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل خوراک)، کلسیم و فسفر خون بوده است. نتایج نشان داده است که تنها کاهش ۵۰ درصدی فسفر قابل دسترس در جیره شاهد بدون آنزیم (T_۱) موجب کاهش معنی‌دار در مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن روزانه نسبت به جیره شاهد همراه و بدون آنزیم و مخمر شده است (P < ۰/۰۵). بهترین ضریب تبدیل (۱/۹۳) در تیمار شاهد (T_۱) بدست آمد و استفاده از آنزیم فیتاز و مخمر در جیره شاهد (T_۲) و شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر (T_۳) موجب بهبود ضریب تبدیل نشد. غلظت کلسیم خون در کلیه تیمارها مشابه بوده ولی غلظت فسفر خون در ۲۱ و ۴۲ روزگی در تیمارهای حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس (T_۳، T_۴، T_۵ و T_۶) به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد حاوی فیتاز و مخمر (T_۲)، کاهش یافت (p < ۰/۰۵). نتایج کلی نشان می‌دهد که استفاده از آنزیم فیتاز و مخمر در جیره شاهد و جیره‌های حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس قابل توصیه نیست.

واژه‌های کلیدی: فیتاز، ساکارومایسس سرویسیه، فسفر قابل دسترس، جوجه‌های گوشتی، عملکرد.

مقدمه

امروزه استفاده از جیره‌های غذایی استاندارد بر پایه ذرت و سویا در پرورش طیور گوشتی به منظور تأمین نیاز حیوان به انرژی، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها مرسوم شده است. تحقیقات زیادی در خصوص جایگزینی منابع پروتئینی و یا استفاده بهینه از سایر مواد مغذی از جمله فسفر قابل دسترس به منظور کاهش هزینه‌های پرورش انجام گرفته است (Nelson, 1967). بخش عمده فسفر موجود در جیره غذایی، با توجه به نوع خوراک استفاده شده، به حالت فسفر غیر قابل دسترس و یا متصل به اسید فایتيک است که در صورت عدم موازنه آن در جیره غذایی موجب کاهش عملکرد می‌گردد (Nelson, 1967). فیتات علاوه بر فسفر، قابلیت دسترسی سایر مواد مغذی مثل کلسیم، روی، مس، اسیدهای آمینه و غیره را نیز در جیره محدود می‌سازد. از آنجائیکه فسفر در فعالیتهای فیزیولوژیک واجد اهمیت است و کمبود آن در غذا اثرات نامطلوبی در بافت‌های مختلف بخصوص استخوان‌ها دارد و در نهایت سبب کاهش عملکرد طیور می‌شود (Edward & Veltman, 1983; Ravindran et al., 2001). تأمین فسفر مورد نیاز از طریق منابع معدنی، موجب افزایش هزینه جیره شده ولی استفاده از آنزیم فیتاز ضمن کاهش اثرات نامطلوب فیتات، فسفر متصل به آن را آزاد نموده و بدین ترتیب نیاز به فسفر تأمین می‌شود (Angel et al., 2000).

میکروارگانسیم‌های مختلفی از قبیل قارچ‌ها، مخمرها و باکتری‌ها توانایی تولید آنزیم فیتاز را دارند و برای افزایش قابلیت دسترسی فسفر فیتاته در جیره‌های کم فسفر جوجه‌های گوشتی برای بهبود عملکرد استفاده می‌شود (Sohail & Roland, 1999). مخمر ساکارومایسس سرویسیه علاوه بر آزاد سازی فسفر، دارای اثرات پروبیوتیکی نیز بوده و از طریق تقویت میکروارگانسیم‌های مفید در دستگاه گوارش موجب حفظ سلامتی و بهبود عملکرد می‌گردد (Fooks & Gibson, 2002). بنابراین بررسی اثر افزودن مخمر ساکارومایسس سرویسیه و آنزیم فیتاز به جیره‌های برپایه ذرت و سویا ضروری و با اهمیت به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات آنزیم فیتاز و

مخمر ساکارومایسس سرویسیه بر عملکرد، میزان کلسیم و فسفر خون جوجه‌های گوشتی است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۶۴ جوجه یکروزه آرپور اکرز (A.A. Plus) تا سن ۷ روزگی با شرایط پرورش یکسان پرورش داده شدند، بعد از ۷ روزگی جوجه‌ها وزن‌کشی شده و به ۲۴ دسته ۱۱ قطعه‌ای با وزن گروهی تقریباً یکسان (میانگین وزن جوجه‌ها ۱۲۵/۵ گرم) در قفس‌هایی توزیع شدند. نوردهی بصورت ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت خاموشی در یک دوره ۲۴ ساعته صورت گرفت. دما در روز اول ۳۲ درجه بود و با کاهش دو درجه در هفته به ۲۱ درجه سانتیگراد تا آخر دوره پرورش رسید. جیره‌های آغازین و رشد تهیه گردید و به جوجه‌ها از ۸ تا ۲۱ روزگی و ۲۲ تا ۴۲ روزگی به ترتیب داده شد. مواد مغذی جیره‌ها ۱۰ درصد کمتر از مقادیر توصیه شده NRC (1994) بود و از نظر مواد مغذی یکسان در نظر گرفته شدند. اجزای جیره‌ها و ترکیب شیمیایی آنها در جدول ۱ آورده شده است. در طول دوره‌های پرورش جوجه‌ها به آب و خوراک دسترسی مداوم داشتند. تیمارهای ۱ تا ۶ به ترتیب شامل (T۱) جیره شاهد، (T۲) جیره شاهد + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر، (T۳) جیره شاهد حاوی ۵۰٪ فسفر قابل دسترس توصیه NRC، (T۴) جیره شاهد حاوی ۵۰٪ فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۰/۱ درصد مخمر، (T۵) جیره شاهد حاوی ۵۰٪ فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز و (T۶) جیره شاهد حاوی ۵۰٪ فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر بود. در پایان هر هفته افزایش وزن روزانه (بطور گروهی)، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک (هر تکرار) محاسبه شد. قبل از وزن‌کشی به منظور حصول یکنواختی نسبی، به جوجه‌ها سه ساعت گرسنگی داده شد. در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی از هر تکرار یک جوجه که وزن آن نزدیک به میانگین وزن تکرار بود انتخاب و نمونه خون از ورید بال با سرنگ خلأ گرفته شد. سرم خون با سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰) جدا شد و در دمای ۲۰- درجه برای تجزیه‌های بعدی نگهداری شد. نمونه‌های سرم در دمای اتاق یخ‌گشایی شدند و

$$X_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

X_{ij} : مقدار مشاهده در هر واحد آزمایشی

μ : میانگین جمعیت

T_i : اثر هر تیمار

ϵ_{ij} : اثر اشتباه آزمایشی و برای مقایسه میانگین‌های هر

یک از صفات مورد بررسی از آزمون توکی در سطح

آماري ۰/۰۵ استفاده شد. از فرمول $\sqrt{y} = \arcsin$

برای تبدیل داده‌هایی که به صورت نسبت یا درصد بیان

می‌شدند استفاده شد.

کلسیم و فسفر سرم با استفاده از کیت شرکت زیست

شیمی و با روش 'CPC اندازه‌گیری شد (Moorhead &

Biggs, 1974).

در این آزمایش از طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴

تکرار استفاده شد و برای مقایسه میانگین‌ها از روش

توکی استفاده گردید. داده‌های حاصله با استفاده از

نرم‌افزار آماری SAS (1993) با مدل ذیل تجزیه شد:

1. Cresol phthalein complexone

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره های آزمایشی در دوره‌های مختلف پرورش

اجزای جیره (درصد)	دوره آغازین (۸ تا ۲۱ روزگی)						دوره رشد (۲۲ تا ۴۲ روزگی)					
	T۶	T۵	T۴	T۳	T۲	T۱	T۶	T۵	T۴	T۳	T۲	T۱
ذرت	۶۲/۷۷	۶۲/۹۹	۶۲/۸۷	۶۳/۰۲	۶۱/۸۲	۶۲/۱۳	۶۷/۳۵	۶۷/۴۷	۶۷/۴۱	۶۷/۵۳	۶۶/۹۱	۶۷/۱
کنجاله سویا	۳۲/۵۱	۳۲/۴۷	۳۲/۴۹	۳۲/۴۶	۳۲/۷۰	۳۲/۶۴	۲۶/۶۱	۲۶/۵۹	۲۶/۶۰	۲۶/۵۸	۲۶/۶۷	۲۶/۶۶
پودر ماهی	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۵۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
سبوس گندم	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳	۳	۳	۳	۳	۳
پودر صدف	۱/۸۵	۱/۸۵	۱/۸۵	۱/۸۸	۱/۲۲	۱/۲۲	۱/۸۰	۱/۸۰	۱/۸۰	۱/۸	۱/۳۱	۱/۳۱
دی کلسیم فسفات ^۱	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۲۳	۱/۲۳	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۹۸	۰/۹۸
روغن	۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۵	۰	۰/۳۹	۰/۲۹	۰	۰	۰	۰	۰	۰
مکمل ویتامینه ^۲	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی ^۳	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
نمک	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
دی ال متیونین	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
ال لایزین	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۱۰	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶
بایوساف (Sc47)	۰/۱	۰	۰/۱	۰	۰/۱	۰	۰/۱	۰	۰/۱	۰	۰/۱	۰
نانافوس (فیتاز)	۰/۰۵	۰/۰۵	۰	۰	۰/۰۵	۰	۰/۰۵	۰/۰۵	۰	۰	۰/۰۵	۰
ترکیب شیمیایی^۴												
انرژی (Kcal/kg)	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰	۲۸۸۰
پروتئین خام (/)	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸
کلسیم (/)	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۹	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱
کل فسفر (/)	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۵۸	۰/۵۸
فسفر فیتاته (/)	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۶
فسفر غیر فیتاته (/)	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۳۲	۰/۳۲
متیونین + سیستین (/)	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۶۵
لایزین (/)	۱/۱۲	۱/۱۲	۱/۱۲	۱/۱۲	۱/۱۲	۱/۱۲	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵
Ca/P	۴/۴۴	۴/۴۴	۴/۴۴	۴/۴۴	۲/۲۲	۲/۲۲	۵/۱۴	۵/۱۴	۵/۱۴	۵/۱۴	۲/۵۷	۲/۵۷

(۱) دی کلسیم فسفات شامل فسفر کل ۱۸ درصد و کلسیم ۲۳ درصد؛ (۲) مکمل ویتامینه هر ۲۵۰ گرم در کیلوگرم حاوی: ویتامین A ۵۰۰ هزار واحد، B1 ۰/۱۸ گرم، B2 ۰/۸۲۵ گرم، B3 ۱ گرم، B5 ۳ گرم، B6 ۰/۳ گرم، B9 ۰/۱۲۵ گرم، B12 ۰/۱۵ گرم، D3 ۵۰۰ هزار واحد، E ۵۰۰ واحد، K3 ۰/۴ گرم، H2 ۰/۵ گرم، کولین کلراید ۱۰۰ گرم؛ (۳) مکمل معدنی هر ۲۵۰ گرم در کیلوگرم حاوی اکسید منگنز ۱۶ گرم، سولفات آهن ۲۵ گرم، سولفات مس ۲۵ گرم، یدید سدیم ۰/۱۶ گرم، سلنیوم ۲ گرم؛ (۴) محاسبه شده براساس جداول ترکیبات مواد خوراکی NRC. (T۱) جیره شاهد. (T۲) جیره شاهد + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر. (T۳) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC. (T۴) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۰/۱ درصد مخمر. (T۵) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز. (T۶) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر.

نتایج و بحث

نتایج حاصله از عملکرد طیور در جدول ۲ نشان داده شده است. مصرف خوراک در دوره آغازین بین جیره‌های شاهد و همچنین بین جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC تفاوت معنی‌دار نداشت ($p > 0.05$). بین جیره‌های شاهد و جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC (T۳) کاهش معنی‌دار مشاهده شد و به مقدار ۵۴/۵۵ گرم/جوجه/روز نسبت به میانگین ۶۲/۸۵ گرم/جوجه/روز در جیره‌های شاهد رسید ($P < 0.05$). علت کاهش مصرف غذا در دوره آغازین در جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC (T۳) و جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۰/۱ درصد مخمر (T۴) احتمالاً مربوط به کاهش ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس و نبودن آنزیم فیتاز لازم برای قابل دسترس نمودن فسفر فیتاته بوده و همچنین با توجه به وضعیت فیزیولوژیکی جوجه‌ها در دوره آغازین و کمبود فسفر جیره، مصرف خوراک روزانه کاهش یافته است ($P < 0.05$).

مطالعات نشان داده است که سیستم گوارش طیور قادر به استفاده از کل فسفر موجود در خوراک نمی‌باشد و تنها ۱۰ تا ۴۰ درصد فسفر موجود در مواد خوراکی را استفاده می‌کند و بقیه فسفر غیر قابل دسترس موجود در خوراک از طریق مدفوع دفع می‌گردد (Nelson, 1967). همچنین کاهش میزان فسفر قابل دسترس جیره از ۰/۳۵ به ۰/۲۲ درصد در دوره آغازین و از ۰/۲۷ به ۰/۱۴ درصد در دوره رشد در مقایسه با گروه شاهد موجب کاهش مصرف خوراک شده است (Viveros et al., 2002). کاهش مصرف خوراک در مرحله آغازین آزمایش در اثر کمبود فسفر قابل دسترس بوده و با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد (Leske & Coon, 2002; Persia et al., 2003). بنابراین نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که در دوره آغازین مصرف آنزیم فیتاز به تنهایی (T۵) و یا به همراه مخمر (T۶) و همچنین مخمر به تنهایی (T۴) اثرات ناشی از کمبود فسفر قابل دسترس جیره را بر مصرف خوراک، کاسته است و مشابه جیره‌های شاهد عمل نموده است. مصرف خوراک در دوره رشد تحت تاثیر تیمارها قرار

نگرفت ($p > 0.05$). علت عدم تاثیر تیمارها در دوره رشد و تفاوت آن با نتایج بدست آمده در دوره آغازین شاید مربوط به تفاوت در سرعت متابولیسم در این دو دوره باشد. بخوبی روشن شده است که سرعت متابولیسم با افزایش سن، کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان انتظار داشت که مواد مغذی مورد نیاز برحسب واحد وزن بدن در دوره آغازین بیشتر از دوره رشد است. بنابراین فقط در دوران آغازین آثار تسهیل کننده آنزیم فیتاز در حذف فیتات در جیره‌های حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس سبب جلوگیری از اثرات نامطلوب فیتات شده و فسفر متصل به آن آزاد و موجب شد که از افت شدید مصرف خوراک جلوگیری نماید و از نظر آماری مشابه جیره‌های شاهد شود.

مصرف خوراک در کل دوره بین جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس (همراه و بدون آنزیم، مخمر و مخلوط آنها) و جیره‌های شاهد، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$). بنابراین مصرف آنزیم، مخمر و یا مخلوط آنها چه در شرایط کمبود فسفر قابل دسترس و چه در شرایط جیره‌های شاهد بر روی مصرف خوراک تاثیری نداشته است. علی‌رغم این نتیجه، مطالعاتی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد افزودن ۸۰۰ واحد آنزیم فیتاز در جیره با ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس باعث بهبود مصرف خوراک شده است (Kheiri & Rahmani, 2006; Ghasemi et al., 2006; Karimi, 2005). علت این تناقض شاید مربوط به تفاوت در میزان آنزیم فیتاز مصرف شده باشد. در این صورت می‌توان نتیجه‌گیری نمود که افزودن مخمر به جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس و ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز اثر افزایشی بر میزان مصرف غذا ندارد. هم‌چنین نتایج نشان می‌دهد که مصرف خوراک در کل دوره در جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس بدون آنزیم و مخمر (T۳) بطور معنی‌داری از جیره شاهد حاوی آنزیم و مخمر (T۲) پایین تر بوده است ($P < 0.05$). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تنها در زمانی که آنزیم فیتاز بمیزان ۵۰۰ واحد، مخمر ساکارو میسس سرویسه بمیزان ۰/۱ درصد و فسفر قابل دسترس در حد جیره‌های شاهد بطور همزمان در جیره وجود داشته باشند، بر میزان مصرف غذا مؤثر واقع

می‌شوند.

بهبود افزایش وزن شده است (Sohail & Roland, 1999). پژوهش‌ها نشان داده است که افزودن فیتاز در سطح ۲۵۰ واحد فاقد تأثیر معنی‌دار در افزایش وزن بوده و همچنین افزایش فیتاز از ۳۷۵ واحد تا ۱۰۰۰ واحد در جیره‌های کم فسفر روی افزایش وزن تأثیر داشته است (Ravindran et al., 2001) و عکس‌العمل استفاده از آنزیم فیتاز در جیره طیور دارای مقادیر پایین فسفر قابل دسترس بیشتر از عکس‌العمل جیره‌های دارای مقادیر بالاتر فسفر قابل دسترس است (Karimi, 2005; Viveros et al., 2002).

در دوره رشد جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس با و بدون آنزیم و مخمر بر افزایش وزن تأثیر معنی‌داری نداشته است ($P > 0.05$) ولی نسبت به جیره‌های شاهد باعث کاهش وزن شده است بطوری که میانگین افزایش وزن در جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس ۴۹/۵۱ (گرم/جوجه/روز) و در جیره‌های شاهد ۷۱/۰۸ (گرم/جوجه/روز) بوده است که ناشی از کاهش میزان فسفر جیره به میزان ۵۰ درصد است و می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً جوجه‌های گوشتی بقدر کافی فسفر جهت رفع نیازها در دسترس نداشته و استفاده از آنزیم و مخمر هم موجب افزایش آن نشد و نسبت به جیره‌های شاهد افزایش وزن کمتری تولید نموده است. طیور از نظر فیزیولوژیکی قادر هستند که کمبود جزئی فسفر را از طریق سایر ساز و کارهای طبیعی تأمین نمایند، ولی اگر میزان کمبود از آستانه تحمل شدید تر باشد عمدتاً اثر خود را بر کارایی استفاده از خوراک و در نتیجه کاهش میزان افزایش وزن نشان خواهد داد (Karimi, 2005). تحقیقات دیگری روی جوجه‌های گوشتی نشان داده است که افزایش مقدار فسفر قابل دسترس از ۰/۲ به ۰/۵ درصد موجب بهبود افزایش وزن شده است (Persia et al., 2003).

در کل دوره نیز جیره‌های شاهد مشابه بوده ولی نسبت به بقیه تیمارها افزایش وزن بیشتری داشته‌اند که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). نتیجه گرفته می‌شود که افزایش وزن در دوره‌های رشد و کل دوره با استفاده از جیره‌های شاهد افزایش می‌یابد و در صورت وارد کردن استرس ناشی از کمبود فسفر (تیمارهای T۳، T۴، T۵، T۶)، وزن نیز کاهش می‌یابد و

بررسی داده‌های مربوط به افزایش وزن روزانه (گرم/جوجه/روز) نشان داد که در دوره آغازین، جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC (T۳) نسبت به جیره‌های شاهد حاوی فیتاز و مخمر (T۲) و شاهد (T۱) موجب کاهش معنی‌دار وزن جوجه‌ها شد ($P < 0.05$). کاهش وزن در مرحله آغازین ناشی از کمبود فسفر در جیره بوده است و چون این عنصر در استخوان‌سازی، سوخت و ساز بدن، تشکیل ماهیچه‌ها و در ذخیره و نقل و انتقال انرژی از ترکیبات فسفره شده گلوکز و مشتقات آن و نیز سایر قندها و ترکیبات پرانرژی از جمله آدنوزین دی و تری فسفات و کراتین فسفات نقش بسیار مهم دارد و هرگونه کمبود فسفر قابل دسترس باعث کاهش عملکردهای فیزیولوژیک ذکر شده، می‌گردد و اثرات خود را در مجموع به صورت کاهش وزن نشان می‌دهد (Ravindran et al., 2001).

تحقیقات نشان داده است که کاهش در میزان فسفر قابل دسترس جیره جوجه‌های گوشتی از ۰/۳۵ به ۰/۲۲ درصد، موجب کاهش در افزایش وزن روزانه شده است (Viveros et al., 2002). همچنین در آزمایشی جهت تعیین قابلیت دسترسی بخش فسفری منابع مختلف فسفاتی در جیره جوجه‌های گوشتی نشان داده شد که کاهش سطح فسفر قابل دسترس جیره موجب کاهش وزن بدن و راندمان استفاده از خوراک می‌شود و افزایش میزان فسفر قابل دسترس جیره موجب بهبود وزن بدن شده است (Leske & Coon, 2002).

در دوره آغازین بین جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس و همچنین بین جیره‌های شاهد، استفاده از مخمر برای افزایش وزن روزانه مؤثر نبوده ولی بین جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس و استفاده از آنزیم فیتاز (T۵) و مخلوط فیتاز و مخمر (T۶) مؤثر بوده و میزان رشد جوجه‌ها مشابه جیره‌های شاهد بوده و علت بهبود افزایش وزن در این تیمارها، ناشی از آزاد شدن مواد مغذی و بهبود شرایط هضم و جذب در جوجه‌ها بوده است. طی مطالعه‌ای روی جوجه‌های گوشتی مشخص شد که افزودن آنزیم فیتاز در جیره‌های بر پایه ذرت و سویا و با مقادیر پایین فسفر قابل دسترس بطور معنی‌داری باعث

تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). افزودن فیتاز و مخمر در شرایط کمبود فسفر قابل دسترس باعث بهبود در مصرف خوراک و افزایش وزن نشد، بنابراین بهبود در ضریب تبدیل خوراک نیز صورت نگرفت ($P > 0.05$). مطالعات اخیر نشان داده است که تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره‌های کم فسفر سبب کاهش عملکرد می‌شود ولی استفاده از آنزیم فیتاز باعث بهبود در افزایش وزن می‌گردد و تأثیری روی ضریب تبدیل خوراک ندارد (Brenes et al., 2003; Hussein & Yousif, 2004).

در کل دوره نیز بهترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به جیره‌های شاهد می‌باشد و در مقایسه با جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس (T_3) و جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس با مخمر (T_4)، تفاوت معنی‌دار دارد ($P < 0.05$) ولی جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس با آنزیم فیتاز موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک شد و مشابه با جیره شاهد همراه با مکمل (T_2) می‌باشد. بنابراین علی‌رغم افزودن آنزیم فیتاز در شرایط کمبود فسفر قابل دسترس که سبب بهبود ضریب تبدیل شده است، افزودن آنزیم فیتاز و مخمر ساکارومایسس سرویسیه به جیره‌های شاهد تأثیری بر ضریب تبدیل نداشته است. یافته‌های مطالعات نشان داده است که افزودن آنزیم فیتاز به جیره‌های دارای مقادیر پایین فسفر قابل دسترس منجر به بهبود ضریب تبدیل غذایی و کاهش میزان فسفر مدفوع (۵۰ درصد) شده است (Simon et al., 1990; Lan et al., 2002). علت عدم تأثیر آنزیم فیتاز و مخمر بر ضریب تبدیل جیره‌های شاهد احتمالاً مربوط به کافی بودن فسفر قابل دسترس در جیره‌های شاهد است. بنابراین علی‌رغم وجود مواد ضد تغذیه ای مانند فیتات در جیره‌های شاهد بر پایه ذرت و سویا، مصرف فسفر قابل دسترس در این جیره‌ها سبب تامین نیاز بدن به فسفر شده و بدین ترتیب مانع از بروز آثار منفی فیتات بر ضریب تبدیل غذا خواهد شد.

نتایج مربوط به شاخص‌های خون در روزهای ۲۱ و ۴۲ روزگی در جدول ۳ نشان داده شده است. در پایان دوره آغازین (۲۱ روزگی) جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC (تیمارهای T_3 و

استفاده از آنزیم و مخمر نیز مؤثر واقع نمی‌شود. مهمترین عامل کاهش وزن جوجه‌های گوشتی کمبود فسفر بوده است و با سایر تحقیقات انجام شده که از سطوح مختلف فسفر استفاده نموده‌اند مطابقت دارد (Leske & Coon, 2002; Sohail & Roland, 1999; Viveros et al., 2002). بنابراین افزودن آنزیم، مخمر و یا مخلوط آنها در شرایط استرس ناشی از کمبود فسفر، تأثیری بر افزایش وزن روزانه در کل دوره پرورش ندارد.

ضریب تبدیل خوراک در دوره آغازین، جیره شاهد (T_1) بهترین ضریب تبدیل (۱/۹۳) را نشان داد و در مقایسه با جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس (T_3) و جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس به همراه مخمر (T_4) تفاوت معنی‌دار ایجاد نمود ($P < 0.05$). بنابراین مخمر به تنهایی در دوره آغازین قادر به بهبود ضریب تبدیل خوراک نمی‌باشد ولی استفاده از آنزیم فیتاز در شرایط کمبود فسفر قابل دسترس موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک شد بطوریکه جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس (T_5) و جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس (T_6) مشابه جیره شاهد می‌باشد. از آنجایی افزودن فیتاز به جیره با ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس باعث بهبود مصرف خوراک و افزایش وزن شد و ضریب تبدیل خوراک نیز متغیری است تابع دو عامل خوراک مصرفی و افزایش وزن، لذا ضریب تبدیل خوراک در جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس با آنزیم فیتاز (T_5) و جیره شاهد حاوی ۵۰٪ فسفر قابل دسترس یا مخلوط آنزیم فیتاز و مخمر ساکارومایسس سرویسیه (T_6) بهبود یافت. تحقیقات روی جوجه‌های گوشتی نشان داده است که ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی که از جیره‌های دارای مقادیر پایین فسفر قابل دسترس به همراه آنزیم فیتاز تغذیه شدند مشابه و یا حتی بهتر از عملکرد جوجه‌های تغذیه شده با تیمار شاهد بود (Simon et al., 1990).

در دوره رشد نیز بهترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به جیره شاهد (T_1) و جیره شاهد حاوی فیتاز و مخمر (T_2) بوده و با جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس تفاوت معنی‌دار دارد ($P < 0.05$). بین جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس

جدول ۲- اثرات آنزیم فیتاز و مخمر ساکارومایسس سرویسیه بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف

تیمارها						
SEM	T۶	T۵	T۴	T۳	T۲	T۱
						مصرف خوراک روزانه (گرم/جوجه/روز)
۱/۴۰	۵۹/۳۳ ^{ab}	۵۸/۴۰ ^a	۵۸/۴۶ ^{ab}	۵۴/۵۵ ^b	۶۳/۰۰ ^a	۶۲/۷۰ ^a
۷/۲۳	۱۵۰/۷۲ ^a	۱۵۳/۴۹ ^a	۱۶۵/۵۰ ^a	۱۴۱/۰۰ ^a	۱۷۱/۵۴ ^a	۱۵۸/۷۸ ^a
۴/۴۸	۱۱۳/۸۷ ^{ab}	۱۱۳/۵۵ ^{ab}	۱۱۹/۶۴ ^{ab}	۱۰۴/۷۷ ^b	۱۲۷/۸۱ ^a	۱۲۰/۳۵ ^{ab}
						افزایش وزن روزانه (گرم/جوجه/روز)
۱/۴۰	۲۶/۷۶ ^{abc}	۲۶/۵۵ ^{abc}	۲۴/۰۶ ^{bc}	۲۲/۳۷ ^c	۲۹/۰۰ ^{ab}	۳۲/۵۲ ^a
۲/۴۶	۵۳/۷۸ ^b	۵۳/۰۰ ^b	۵۱/۲۴ ^b	۴۰/۰۲ ^b	۷۱/۴۲ ^a	۷۰/۷۴ ^a
۱/۶۴	۴۳/۵۹ ^b	۴۳/۰۲ ^{bc}	۴۰/۰۸ ^{bc}	۳۵/۸۳ ^c	۵۴/۵۸ ^a	۵۵/۴۵ ^a
						ضریب تبدیل خوراک
۰/۱۰	۲/۲۵ ^a	۲/۲۱ ^{ab}	۲/۴۵ ^a	۲/۴۴ ^a	۲/۲۰ ^{ab}	۱/۹۳ ^b
۰/۱۱	۲/۸۱ ^a	۲/۹۳ ^a	۳/۲۴ ^a	۳/۱۱ ^a	۲/۴۰ ^{bc}	۲/۲۵ ^c
۰/۰۹	۲/۶۱ ^a	۲/۶۶ ^{ab}	۳/۰۰ ^a	۲/۹۱ ^a	۲/۳۵ ^{bc}	۲/۱۷ ^c

میانگین‌های هر ردیف که دارای حروف مشترک می‌باشند دارای اختلاف معنی دار هستند ($P < 0.05$).

T۱ جیره شاهد، T۲ جیره شاهد + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر، T۳ جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC، T۴ جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز، T۶ جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۰/۱ درصد مخمر، T۵ جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز، T۶ جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر.

فسفر داشتند. همچنین مصرف فیتاز نوع A و B بر خلاف نوع C در جیره‌های کم فسفر، سطح فسفر خون جوجه‌های گوشتی را بهبود داده است که این مقدار معادل فسفر سرم خون جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی فسفر کافی بوده است (Onyango et al., 2004).

در پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی) نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که فسفر خون در جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس نسبت به جیره‌های شاهد همراه و بدون مکمل پایین تر است و استفاده از آنزیم فیتاز نتوانست منجر به آزاد سازی فسفر فیتاته شود. در بین جیره‌های شاهد تفاوت معنی‌داری در میزان فسفر خون وجود ندارد ($P > 0.05$) و آنزیم فیتاز و مخمر مؤثر نبوده است. به دلیل پایین بودن ذخایر فیزیولوژیکی جوجه توانایی استخوان در تأمین فسفر خون در پاسخ به هورمون پاراتیروئید میزان فسفر خون همچنان در جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس پایین بوده است (Lan et al., 2002).

درصد کلسیم خون تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت ($P > 0.05$). یافته‌های تحقیقاتی روی جوجه‌های گوشتی نشان داده است که افزودن فیتاز تولید شده از باکتری میتسوکلیا جلالودینی (*Mitsukella jalaludini*) به

T۴، T۵، T۶ موجب کاهش معنی‌دار درصد فسفر (میانگین تیمارها ۳/۴۷ درصد) نسبت به جیره شاهد حاوی فیتاز و مخمر (T۲) شد ($P < 0.01$). ولی بین جیره‌های شاهد و بین جیره‌های شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس تفاوت معنی‌دار وجود ندارد ($P > 0.05$). اختلاف بین جیره‌های شاهد حاوی فسفر کم (۵۰ درصد) با جیره‌های شاهد به این علت است که فسفر سرم با فسفر قابل دسترس جیره‌ها ارتباط دارد. سطح فسفر سرم ناشی از تنظیم تعادل داخلی فسفر است و پایین بودن فسفر سرم نشان دهنده پایین بودن ذخیره فسفر بدن که ناشی از مقدار کم فسفر در جیره مورد استفاده است. کاهش فسفر جیره باعث کاهش میزان فسفر در استخوان می‌شود و استخوان نمی‌تواند در پاسخ به هورمون پاراتیروئید فسفر آزاد کرده و باعث تنظیم فسفر خون شود در نتیجه میزان فسفر خون پایین می‌آید (Lan et al., 2002). تحقیقات نشان داده است که افزودن سه نوع فیتاز مشتق شده از اشیریشیاکلی به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، اثری بر میزان فسفر خون نداشته ولی جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی فیتاز نوع A و B، سطوح فسفر خون بالاتری نسبت به جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌های کم

نسبت کلسیم به فسفر در فیتات گیاهی نسبت به فیتات کلسیم تشکیل شده در دستگاه گوارش باشد (Wise, 1983) و از آنجایی که افزایش غلظت کلسیم جیره باعث کاهش فعالیت فیتاز می‌گردد لذا آنزیم فیتاز نتوانست با تأثیر بر اسید فایتیک سبب آزاد سازی کلسیم و در نتیجه افزایش کلسیم خون گردد (Onyango et al., 2004).

جیره کم فسفر، تأثیری روی میزان کلسیم خون ندارد (Lan et al., 2002). کلسیم کمترین میل ترکیبی با اسید فایتیک را دارا است ولی از مهمترین املاح معدنی به شمار می‌رود که بعد از فسفر بر زیست فراهمی آن از نظر تغذیه ای بحث می‌شود زیرا مولکولهای فیتات بخشی از کلسیم موجود در دستگاه گوارش را غیر فعال می‌کند و به نظر می‌رسد که این تأثیر به دلیل کم بودن

جدول ۳- اثرات فیتاز و مخمر Sc47 بر میزان کلسیم و فسفر خون (درصد) جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف

تیمارها							پارامترهای خونی
SEM	T۶	T۵	T۴	T۳	T۲	T۱	
۰/۴۲	۳/۶۳ ^b	۳/۵۸ ^b	۳/۳۷ ^b	۳/۳ ^b	۵/۵۸ ^a	۴/۳۰ ^{ab}	فسفر خون ۲۱ روزگی
۰/۲۸	۲/۸۴ ^{bc}	۲/۸۴ ^{bc}	۲/۷ ^c	۲/۳ ^c	۵/۰۴ ^a	۴/۰۸ ^{ab}	فسفر خون ۴۲ روزگی
۰/۵۳	۹/۵۰ ^a	۹/۴۰ ^a	۸/۷۸ ^a	۸/۶۵ ^a	۱۰/۲۵ ^a	۹/۹۰ ^a	کلسیم خون ۲۱ روزگی
۰/۳۶	۹/۳۳ ^a	۹/۰۸ ^a	۸/۸۸ ^a	۸/۲۳ ^a	۹/۶۵ ^a	۹/۴۸ ^a	کلسیم خون ۴۲ روزگی

میانگین‌های هر ردیف که دارای حروف مشترک می‌باشند دارای اختلاف معنی دار هستند ($p < 0.05$).

(T۱) جیره شاهد. (T۲) جیره شاهد + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر. (T۳) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC. (T۴) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۰/۱ درصد مخمر. (T۵) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز. (T۶) جیره شاهد حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC + ۵۰۰ واحد فیتاز + ۰/۱ درصد مخمر.

نتیجه‌گیری کلی

بنابراین مصرف آنزیم فیتاز، مخمر ساکارومایسس سرویسیه و مخلوط آنها در سطوح استفاده شده در جیره غذایی شاهد و جیره حاوی ۵۰ درصد فسفر قابل دسترس توصیه NRC سبب بهبود عملکرد نشده است و توصیه نمی‌شود.

بررسی نتایج نشان داد که استفاده از آنزیم فیتاز، مخمر و مخلوط آنها در جیره غذایی اثری بر غلظت فسفر سرم خون جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی فسفر توصیه شده NRC و جیره حاوی ۵۰ درصد فسفر توصیه شده NRC نداشته است ولی غلظت فسفر سرم خون تحت تأثیر میزان فسفر قابل دسترس جیره بوده است. کاهش ۵۰ درصدی فسفر قابل دسترس در جیره غذایی موجب افزایش ضریب تبدیل، کاهش مصرف خوراک و کاهش در افزایش وزن روزانه نسبت به جیره‌های شاهد با فسفر توصیه شده NRC شده است.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان به خاطر ایجاد تسهیلات لازم و تأمین هزینه‌های طرح سپاسگزاری می‌شود.

REFERENCES

1. Angel, R., Applegate, T. J. & Christman, M. (2000). Effect of dietary nonphytate phosphorus (npp) on performance and bone measurements in broilers fed on a four-phase feeding system. *Poultry Sciences*, 79 (suppl.1), 21-22 (Abstract).
2. Brenes, A., Viveros, A., Arija, I., Centeno, C., Pizarro, M. & Bravo, C. (2003). Effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science Technology*, 110, 209-219.
3. Edwards, H. M. & Veltmann, J. R. (1983). The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in young chicks. *Journal of Nutrition*, 113, 1568-1575.
4. Fooks, L. G. & Gibson, R. (2002). Probiotics as modulators of the gut flora. *British Journal of Nutrition*, 88 (suppl. 1), 39-49.
5. Ghasemi, H. A., Tahmasbi, A. M., Moghaddam, G. H., Mehri, M., Alijani, S., Kashefi, E. & Fasihi, A. (2006). The effect of phytase and *Saccharomyces cerevisiae* (Sc47) supplementation on performance,

- serum parameters, phosphorus and calcium retention of broiler chickens. *Poultry Science*, 5 (2), 162-168.
6. Hussein A. S. & Yousif A. M. (2004). Influence of phytase enzyme supplementation on the growth performance of broiler chicks. *Poultry Sciences*, 83 (Suppl. 1).
 7. Karimi, A. (2005). Effect of different non-phytate phosphorus levels and phytase sources on performance in broiler chicks. *Poultry Science*, 4 (12), 1001-1005.
 8. Kheiri, F. & Rahmani, H. R. (2006). The effect of reducing calcium and phosphorous on broiler performance. *Poultry Science*, 5 (1), 22-25.
 9. Lan, G. Q., Abdullah, N., Jalaludin, S. & Ho, Y. W. (2002). Efficacy of supplementation of a phytase producing bacterial culture on the performance and nutrient use of broiler chickens fed corn-soybean meal diets. *Poultry Science*, 81, 1522-1532.
 10. Leske, K. & Coon, C. (2002). The development of feedstuff retainable phosphorus values for broilers. *Poultry Science*, 81, 1681-1693.
 11. Moorhead, W. R. & Biggs, H. G. (1974). 2-Amino-2-methyl-1-propanol as the alkalizing agent in an improved continuous-flow cresol phthalein complexone procedure for calcium in serum. *Clinical Chemistry*, November, (20), 1458-1460.
 12. National Research Council. (1994). Nutrition Requirements of poultry. 9th rev. (Ed.), National Academy Press, Washington DC.
 13. Nelson, T. S. (1967). The utilization of phytate phosphorus by poultry; A review. *Poultry Science*, 46, 862-871.
 14. Onyango, E. M., Bedford, M. R. & Adeola, O. (2004). The yeast production system in which *Escherichia coli* phytase is expressed may affect growth performance, bone ash and nutrient use in broiler chicks. *Poultry Science*, 83, 421-427.
 15. Persia, M. E., Parsons, C. M. & Koelkebeck, K. W. (2003). Interrelationship between environmental temperature and dietary nonphytate phosphorus in chicks. *Poultry Science*, 82, 1616-1623.
 16. Ravindran, V., Selle, P. H., Ravindran, G., Morel, P. C. H., Kies, A. K. & Bryden, W. L. (2001). Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. *Poultry Science*, 80, 338-344.
 17. SAS Institute, Inc. (1993). SAS Users guide: Version 6.03 (Ed.), SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
 18. Simons, P. C. M., Versteegh, H. A. J., Jongbloed, A. W., Kemme, P. A., Slum, P., Bos, K. D., Wolters, M. G. E., Beudeker, R. F. & Verschoor, G. J. (1990). Improvement of phosphorous availability by microbial phytase in broiler and pigs. *British Journal of Nutrition*, 64, 525-541.
 19. Sohail, S. S. & Roland, D. A. Sr. (1999). Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to six weeks of age. *Poultry Science*, 78, 550-555.
 20. Valdivie, M. (1975). Saccharomyces yeast as a by-product from alcohol production on final molasses in diets for broilers. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 9, 327-331.
 21. Viveros, A., Brenes, A., Arija, I. & Centeno, C. (2002). Effect of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. *Poultry Science*, 81, 1172-1183.
 22. Wise, A. (1983). Dietary factors determining the biological activities of phytase. *Nutritional Abstract Review*, 53, 791-806.