تأثير الإضافة الغذائية للفايتيز الميكروبي والفايتيز المستخلص من أورا ق الجت في بعض المعايير الدمية في فروج اللحم

رنا جابر طارش البغدادي وجبار عباس احمد الساعدي
كلية الطب البيطري /جامعة القادسية

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية لمعرفة الآثار الايجابية التي قد تنجم عن استخدام إنزيم الفايتيز الميكروبي والنباتي بوصفها إضافات غذائية إلى علائق فروج اللحم فضلاً عن المقارنة بين كفاءة نوعي الإنزيم في تحسين كفاءة الأداء الصحي.

تم تقسيم 700 من صيصان فروج اللحم بعمر يوم واحد إلى ثلاثة مجاميع، مثلت الأولى مجموعة السيطرة (200 صوص) التي تناولت العليقة الأساسية، ومثلت الثانية المعاملة الأولى (200 صوص) (T_1) التي تناولت العليقة الأساسية والماء المضاف إليه المستخلص الكحولي لأوراق ألجت بتركيز 0.2غم/لتر، ومثلت الثالثة المعاملة الثانية (300صوص) (T_2) التي تناولت العليقة الأساسية مضافاً إليها إنزيم الفايتيز الميكروبي المصنع بمقدار 1000FTU/كغم علف. استمرت التجربة 42يوماً تم إجراء دراسة بعض المعايير الدمية والتي شملت عدد خلايا الدم البيض الكلي وعدد كريات الدم الحمر ومستوى خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص ومعدل حجم الكريه ومعدل خضاب دم الكريه ومعدل تركيز حضاب الكريات.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية فروقات معنوية في بعض معايير مجموعتي المعاملة T_2 و T_1 عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة حيث وجد ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل عدد كريات الدم الحمر، تركيز حضاب الدم، حجم الخلايا المرصوص ومعدل عدد خلايا الدم البيض، انخفاض غير معنوي في معدل حجم الكرية، وارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز خضاب الكريات فيT_2 وارتفاع غير معنوي لهذا المعيار في المعاملة T_1، انخفاض غير معنوي في معدل خضاب دم الكرية في المعاملة T_2 وارتفاع غير معنوي في المعاملة T_1.

وقد استنتج من الدراسة أن الإضافة الغذائية للفايتيز الميكروبي ومستخلص أوراق الجت له تأثير على بعض المعايير الدمية وتحسين الكفاءة الصحية لفروج الحم.

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول

Effect of dietary microbial phytase and alfalfa leaves extract supplementation on some blood parameters in Broiler

R. J. T. Al- Baghdadi and J. A. Al-Sa`adi
College of Veterinary Medicine/ University of Al-Qadisiya

Abstract

The study had been designed to determine the dietary effect from microbial phytase and Alfalfa alcoholic extract (plant phytase) addition to the broilers diet to compare the efficiency of these two types of the enzymes. The study were extend for fourty-two days.

Seven hundred one day old chick broilers were divided into three groups. The first one control (200 chicks) received basal diet. The second groups (T1): 200 chicks received basal diet and 0.2g/L of Alfalfa alcoholic extract supplemented with drinking water and the third group (T2) (300 chicks) received basal diet supplemented with 1000FTU/Kg of microbial phytase. Blood parameters included RBCs count, Hb, PCV, MCV, MCH, MCHC and total WBC count were studied. The study revealed that there was a significant differences in some parameters between the two treated groups, in comparison with control one as follows:- Significant increase ($P<0.05$) in, RBC_s count ($\times 10^{12}$/L), Hb concentration (g/dl), PCV (%), WBC count ($\times 10^{9}$/L). Insignificant decrease in MCV (fl) Significant increase ($P<0.05$) in MCHC (%) in T2 and insignificant increase for this parameter in T1. Insignificant decrease in MCH (pg) in T2 and insignificant increase for this parameter in T1.

It was concluded from this study the dietary supplementation with microbial phytase and alfalfa leaves extract have a positive effect on some blood parameters in broilers.

المقدمة

تعتبر الإضافات العلفية هي الطريقة المثلى للوصول إلى الإنتاج الأفضل في الدواجن كما أنها عالجت الكثير من مشاكل تغذية الدواجن بشكل فعال وعملت هذه الإضافات على زيادة الانتفاع من المركبات الغذائية الأساسية كالبروتينات والدهون والكربوهيدرات والفيتامينات والمعادن والتقليل من الحاجة إلى الإضافات المكلفة كالفسفور والكالسيوم والمعادن النادرة. من جانب أخر، فقد تم منع استخدام المضادات الحياتية كمحفزات نمو Growth Promoting Factors بشكل كامل في كانون الثاني من عام 2006 وبالتالي عدم إضافتها إلى علائق مختلف الحيوانات (1)بناء ً عليه فان العالم سيركز اهتمامه نحو الإضافات العلفية الأخرى التي لا تشكل خطراً على الصحة العامة، ومن هذه الإضافات التي أثبتت جدارتها في تحسين إنتاج الطيور الداجنه دون أي ضرر يذكر هي المستخلصات النباتية إضافة إلى الإنزيمات،التي برز منها مؤخراً إنزيم الفايتيز (2) الذ ي سجلت فعالية عالية له في أوراق نبات الجت خاصة ً تلك المجففة بواسطة أشعة الشمس (3).

يوصف إنزيم الفايتيز كيمياوياً Myo-Inositol hexa phosphate phosphohydrolase ويعود إلى مجموعة Phosphoesterase وهو الإنزيم القادر على تحرير الفسفور من حامض الفايتيك(4). أشار الاتحاد الدولي للكيمياء الحياتية (5) إلى وجود صنفين أساسيين لإنزيم الفايتيز 3-Phytase و6-Phytase، اعتماداً على موقع مجموعة الفوسفات داخل جزيئة حامض الفايتيك او الفايتين التي يحررها الإنزيم أولاً ، إذ يقوم الفايتيز الميكروبي 3-Phytase بتحرير مجموعة الفوسفات عند الموقع رقم –3– فيما يقوم الفايتيز النباتي بتحرير مجموعة

الفوسفات عند الموقع رقم –6–أولاً ، وبعدها يتم تحرير المجموعات الخمس المتبقية على التوالي بواسطة كل من الفايتيز وانزيمات Non-specific acid phosphatases (6). يقوم إنزيم الفايتيز بتحليل حامض الفايتيك او الفايتين مائياً إلى جزيئات الفوسفات الاحادية اللاعضوية وا إلى فوسفات المايوانوسيتول Myoinositol phosphates بدرجة اقل وأحياناً إلى المايوانوسيتول الحر وبالتالي تحسين الاستفادة من العناصر الغذائية المقترنة بالفايتيت من قبل جسم الحيوان(7).

بناءً على ما تقدم، فقد استهدفت هذه الدراسة إلى استخدام المستخلص الكحولي لأوراق نبات الجت بوصفه مصدراً نباتياً للفايتيز إضافة إلى المصدر الميكروبي المتمثل بحبيبات الإنزيم المستخلص صناعياً من فطر *Aspergillus niger* ، كإضافتين غذائيتين إلى ماء شرب وعلائق فروج اللحم المرباة في العراق والمقارنة بين كفاءة نوعي الإنزيم في تحسين بعض المعايير الكيموحيوية في مصل دم فروج اللحم.

المواد وطرائق العمل

أجريت الدراسة في قاعة تم تأجيرها على طريق الديوانية –السنية، مخصصة لتربية فروج اللحم أبعادها 50×11 متر ومجهزة بكافة مستلزمات التجربة للمدة من 2005/6/16 ولغاية 2005/8/1. استخدمت في التجربة صيصان من نوع *Hubbard flex* إذ استخدم فيها 700 صوص غير مجنس بعمر يوم واحد وضعت جميعاً في مكان واحد وأعطيت عليقة أساسية واحدة لمدة ثلاثة أيام وفي اليوم الرابع وزعت الأفراخ بصورة عشوائية إلى 3 اكنان Pens، مثل الكن الأول مجموعة السيطرة C (200 صوص) تناولت العليقة الأساسية بشكل حر طيلة مدة التجربة، ومثل الكن الثاني مجموعة المعاملة الأولى T_1 (200 صوص) تناولت العليقة الأساسية وماء الشرب مضافاً إليه المستخلص الكحولي لأورا ق نبات الجت بتركيز 0.2 غم /لتر بصورة حرة طيلة مدة التجربة. ومثلت الثالثة المعاملة الثانية (T_2) (300 صوص) التي تناولت العليقة الأساسية مضافاً إليها إنزيم الفايتيز الميكروبي المصنع بمقدار FTU1000/كغم علف.

تم قياس وزن نماذج من الصيصان لكل كن للتأكد من تجانسها بين المجموعات واستمرت التربية حتى عمر 42 يوم أخضعت الصيصان خلالها لبرنامج تلقيح بلقاح (Rhino.meriea) Gumborou ولقاح نيوكاسل (synovi- farance) (شركة الكندي للقاحات والأدوية البيطرية– بغداد).

المسكن المستخدم في الدراسة من النوع المغلق ذو أرضية مفروشة بالبلاط مقسماً إلى اكنان بقواطع حديدية مع أسلاك مشبكة بفتحات مناسبة وبارتفاع مناسب وذات أبواب مستقلة وأبعاد الكن الواحد 9×4 م. تمت السيطرة على درجة الحرارة المطلوبة قدر المستطاع وهي 34°م في للأيام الأولى ثم خفضت بتقدم عمر الأفراخ بمعدل 2°م /أسبوع. أما الإضاءة فكانت 23ساعة يومياً باستخدام 3 مصباح لكل كن بقدرة 40 واط على ارتفاع 2 م من سطح الأرض. وكانت التغذية بصورة حرة add Libitum.

الصفات المدروسة.

- **المعايير الدمية:** جمعت عينات من الوريد العضدي Brachial vein في الجهة الإنسية للجناح لعشر دجاجات من كل معاملة وذلك في نهاية الأسبوع السادس وتم أخذ نموذج دم من كل فرخ لإجراء الفحوصات الدمية.
- **عد خلايا الدم الحمر والبيض:** استخدمت طريقة العد بواسطة جهاز الهيموسايتوميتر haemocytometer (Thoma West Germany-supe&piro) واستخدم محلول Natt and Herrick الخاص بتخفيف هذه الخلايا في دم الطيور ويستخدم لكلا النوعين (8).

- **حساب حجم الخلايا المرصوص:** تم وضع الدم في أنابيب شعرية حاوية على الهيبارين كمانع تخثر وغلق احد طرفيها بواسطة الطين الاصطناعي ووضعت في جهاز الطرد المركزي الدقيق Microhematocrit centerfuge (Hawksley-England) 1200د/د لمدة 5 دقائق وقرأ ت النسبة بواسطة مقياس خاص(8).
- **قياس تركيز الهيموغلوبين بالدم (غم/ديسيلتر):** اعتمدت طريقة تقدير خضاب الدم غم/ديسيلتر بتحويله إلى cyanomethaemoglobinباستخدام كاشف إذ يؤخذ 0.02 مل من الدم ويخلط مع كل 5 مل من الكاشف المذكور في أنبوبة اختبار ويترك لفترة 5 دقائق لغرض التخلص من انوية خلايا الدم الحمر وأغلفتها و يقرا التركيز باستخدام جهاز الطيف الضوئي على طول موجي 540 نانوميتر بعد تصفير الجهاز بواسطة محلول درابكن (9).

$$\text{تركيز خضاب الدم} = \frac{\text{تركيز خضاب الدم القياسي}}{1000} \times \text{معامل التخفيف} \times \frac{\text{قراءة العينة}}{\text{قراءة خضاب الدم القياسي}}$$

- **حساب الدلائل الدمية:**

1. معدل حجم الكرية (MCV) (fl) $= \frac{\text{حجم الخلايا المرصوص}}{\text{عدد خلايا الدم الحمر}} \times 10$

2. معدل تركيز خضاب الكريات(MCHC) $\% = \frac{\text{تركيز خضاب الدم}}{\text{حجم الخلايا المرصوص}} \times 100$

3–معدل خضاب الكريات (MCH) $= \frac{\text{تركيز خضاب الدم}}{\text{عدد خلايا الدم الحمر}} \times 10$

- **التحليل الإحصائي:**

أخضعت النتائج للاختبارات الإحصائية حيث تم تحليل التباين والتصميم العشوائي الكامل ثم اختبار دنكن متعدد الحدود لغرض مقارنة المعدلات بين المجاميع واعتبرت الفروقات معنوية تحت مستوى احتمال 5% لنسبة الخطأ (10).

النتائج

أظهرت نتائج الدراسة الحالية (جدول 1) فروقات معنوية في بعض معايير مجموعتي المعاملة T_2 و T_1 عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة حيث وجد ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل عدد كريات الدم الحمر (10^{12}/لتر)، تركيز خضاب الدم Hb (غم/100مل)، حجم الخلايا المرصوص PCV (%)، معدل عدد خلايا الدم البيض ($\times 10^{9}$/لتر). كما لوحظ انخفاض غير معنوي في معدل حجم الكرية MCV (fl) ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل تركيز خضاب الكريات MCHC (%) فيT_2 وارتفاع غير معنوي لهذا المعيار في المعاملة T_1 مع انخفاض غير معنوي في معدل خضاب دم الكرية MCH (pg) في المعاملة T_2 وارتفاع غير معنوي في المعاملة T_1.

جدول (1) تأثير الإضافة الغذائية للفايتيز الميكروبي ومستخلص أورا ة الجت في بعض المعايير الدمية في فروج اللحم

المجاميع / المعايير الدموية	C	T_1	T_2
عدد كريات الدم الحمر ($\times 10^{12}$/لتر)	3. 49 ± 0. 07 a	4. 3 ± 0. 24 b	5. 05 ± 0. 07 c
خضاب الدم (ملغم/ديسيلتر)	8. 86 ± 0. 18 a	10. 53 ± 0. 21b	12. 06 ± 0. 13 c
حجم الخلايا المرصوص (%)	29. 4 ± 0. 45 a	34. 6 ± 4. 62 b	39. 2 ± 0. 39c
معدل حجم الكرية (fl)	84. 44 ± 0. 53 a	84. 16 ± 4. 41 a	77. 74 ± 0. 54 a
معدل خضاب دم الكرية (pg)	25.32 ± 0. 11 a	25. 64 ± 1. 42 a	23. 87 ± 0. 15 a
معدل تركيز خضاب دم الكريات (%)	30. 13 ± 0. 18 a	30. 43 ± 0. 04 ab	30. 77 ± 0. 02 b
عدد خلايا الدم البيض ($\times 10^9$خلية/لتر)	15. 97 ± 0. 27a	21. 57 ± 0. 39 b	27. 69 ± 0. 89 c

- **الأرقام تمثل المعدلات± الخطأ القياسي**
- **الحروف المختلفة أفقيا تشير إلى وجود فرق معنوي بين المعاملات ($P<0.05$).**

المناقشة

أظهرت نتائج المعايير الدمية تغيرات اتسمت بالأهمية الفسلجية جراء إضافة الفايتيز بمصدريه الميكروبي والنباتي،ارتفاعاً معنوياً في عدد كريات الدم الحمر وتركيز خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوص في المعاملتين T_2 و T_1 مقارنة بالسيطرة، وهذا يعزى إلى زيادة تحرر عنصر الحديد من معقدات الفايتيت بواسطة الفايتيز الميكروبي أو النباتي (11)، كما إن زيادة مستوى الفسفور للسبب ذاته، يؤدي إلى تحسين التفاعلات الإنزيمية وأيض الكربوهيدرات والدهون والأحماض النووية (12)وا ن زيادة مستوى هذه الفعاليات يتطلب كميات إضافية من الأوكسجين مؤدياً بذلك إلى تحفيز الكليتين لإفراز كميات إضافية من عامل Renal erythropoietic factor مؤدياً إلى ارتفاع مستوى هرمون Erythropoietin وبالتالي تنشيط نخاع العظم لانتاج كميات إضافية من كريات الدم الحمر (13). كما أشار Stahl, etal. (11) إلى إمكانية تحفيز خلايا الكلية لإنتاج الارثروبويتين مباشرة من قبل الفسفور الذي ازداد مستواه في مصل الدم.

وجد إن إنزيم الفايتيز يلعب دوراً في إطالة عمر الكرية الحمراء عن طريق تحريره لعنصر الزنك من معقدات الفايتيت إذ يلعب الزنك دوراً كبيراً في الحفاظ على تماسك غشاء الكر ية وتقليل قابليتها للتجزؤ من خلال زيادة فعاليات الأنزيمات المضادة للأكسدة المرتبطة بغشاء الكرية الحمراء (14)وقد اثبت مؤخراً إن عنصر الزنك يعد مادة حامية لكريات الدم الحمر من التحلل كما إن له القدرة على تقليل مستويات الـ Glutathion و metallothionin الذي يعد من كواسح الجذور الحرة (15). أو بسبب فعله غير المباشر في تقليل أنواع الأوكسجين الفعالة (16) هذا بالإضافة إلى الدور الايجابي للمركبات الغذائية الأخرى المتحررة من معقدات الفايتيت بفعل الفايتيز (17).

ان الانخفاض الحاصل في قيم الدلائل الدمية (MCV, MCH) والارتفاع المعنوي في قيمة MCHC بشكل عام قد يعود إلى الأسباب التي أدت إلى ارتفاع عدد كريات الدم الحمر وسرعة إنتاجها وخاصة ارتفاع معدلات الايض إذ إن ذلك يؤدي إلى صغر حجم الكرية والذي يعني توفر مساحة اكبر للارتباط بخضاب الدم وبالتالي زيادة عملية نقل الأوكسجين إذ يؤدي ذلك إلى انخفاض متوسط كمية خضاب الدم المرتبطة بالكرية الواحدة وكذلك انخفاض نسبة حجم الكرية الذي يشغله خضاب الدم (18).

وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل إليه Hata, etal. (19) الذي أعزى ذلك إلى قيام الـMyoinositol بتنظيم الاستجابة المناعية للخلايا اللمفية نوع B المنتجة للأجسام المناعية IgM عن طريق العمل داخل نظام Inositol second messenger system من خلال الـ Bruton's tyrosin kinase أو بوساطة طرق أخرى لتحفيز زيادة معدل تكاثر الخلايا المناعية و/أو زيادة إفرازاتها، كما يعمل myoinositol 1,4,5-triphosphate (IP_3) كرسول ثاني وحيد Unique second messenger، إذ يحفز عدة أنواع من المستقبلات السطحية لتحريك الكالسيوم المتواجد داخل الخلايا.

وقد استنتج من الدراسة أن الإضافة الغذائية للفايتيز الميكروبي ومستخلص أوراق الجت له تأثير على بعض المعايير الدمية وتحسين الكفاءة الصحية لفروج الحم.

References

1. Kim, W. K.; Donalson, L. M.; Mitchell, A. D.; Kubena, L. F.; Nisbet, D. J. & Ricke, S. C. (2006). Effects of alfalfa and fructooligosaccharide on molting parametersand bone qualities using dual energy x – Ray absorptiometry and conventional bone assays. J . Poult. Sci., 85:15-20 .
2. Ponte, P. I. P.; Ferreira, L. M.; Soares, M. A. C.; Lemos, J. P. C.; Mendes, I. & Fontes, C. M. G. A. (2004). Use of cellulases and xylanases to supplement diet containing Alfalfa for broiler chicks: Effect on bird performance and skin color. J. of Appl. poultry Res., 13: 412 – 420 .
3. VHS. Viable Herbal Solutions. (2005). About- Alfalfa *.vhsales@vialeherbal.com*, Moorrisville, last modified copy right.
4. Ravindran, V. (1995). Phytases in poultry nutrition – An overview, proc. Aust. Sci. symp., 7: 135.
5. Baur, Y.; Kollmus, M. S.; Kroopes, F.; Stassburgerk, K. & Zober, A. (2002). IgE mediated allergy to phytase – anew animal feed additive. Allergy, 57: 943 –945 b.
6. IUB (International Union of Biochemistry). (1979). Enzyme Nomenclature. Committee of the International Union of Biochemistry. Acad. Press. New York, PP. 242-247.
7. Meanz, D. D. & Classen, H. L. (1998). Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. Poult. Sci., 77: 557 – 563 .
8. Campbell, T. W. (1988). Avian Hematology and Cytology. First Edition, Iowa State University Press, Amess, Iowa. U.S.A.
9. Coles, E. H. (1980). Veterinary clinical pathology. 4th ed. W. B. Sanders Co.
10. الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز محمد. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل– الموصل.
11. Stahl, C. H.; Han, Y. M.; Roneker, K. R.; W. A.; & lei, X. G. (1999). phytase improves iron bioavailability for hemoglobin synthesis in young pigs. Anim. Sci., 77(8): 2135 – 2142.

12. Ekelund, A. (2003). phsphorus and the dairy cow – influence of inake level, source of lactation on opparent digestibility and bone turnover. Ph. D. Thesis. SLU. Kungsangen Reseach center, Vppsala.
13. Gnyton, A. G. & Hall, J. E. (2001). Text book of Medical physiology. Vol. 2.
14. Edwards, J. C.; Chapman, D.; Cramp, W. A. & Yatvin, M. B. (1984).The effects of ionizing radiation on biomembrane structure and function. Prog. Biophys. Mol. Biol., 43:71-93.
15. Dani, V. & Dhawan, D. K. (2005). Radioprotecive role of zinc following single dose radioidine (^{131} I)exposure to red blood cells of rats. Indian J. Med. Res. 122: 338 -342.
16. Seagrave, J.; Tobey, R. A. & Hildebrand, C. E. (1983). Zinc effects on glutathione metabolism. Relationship to zinc– induced protection from alkylating agents. Biochem. Pharmacol., 32: 3017– 3021.
17. Kies, A . K.; Kemme, P. A.; Ebek, L. B. J.; Van Diefen, J. T. M. M. & Jongbloed, A. W. (2006). Effect of graded doses and High dose of microbial phytase on the digestibility of various minerals in weaner pigs. J. Anim. Sci., 84: 1169-1175.
18. Swenson, M. J. & Reece, W. O. (1993). Dukes physiology of domestic animals. 11th ed. Part IV, Chap. 29, p: 530-531.
19. Hata, A.; Sabe, H.; Kurosaki, T.; Takata, M. & Hanafusa, H. (1994). Functional analysis of csk in signal transduction through B – cell antigen receptor. Mol. Cell Biol., 14: 730– 7313.