




Use of protease enzyme in diets with different levels of protein and amino acids on performance, carcass characteristics, nutrient digestibility and some blood parameters concentrations in broiler chicks

Sepideh Gazani ¹ , Mansour Rezaei ² , Mohammad Kazemi Fard ³ 

1. Department of Animal Science, College of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. E-mail: Sepideh.gazani@ijas.ut.ac.ir

2. Corresponding Author, Department of Animal Science, College of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. E-mail: m.rezaei@sanru.ac.ir

3. Department of Animal Science, College of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. E-mail: mo.kazemifard@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	A total of 240 male Ross 308 broiler chicks were allocated in completely randomized design, including six experimental diets with 4 replicates and 10 chicks per replicate. Experimental diets include 1- a control diet based on corn and soybean meal, recommended according to the guide of Ross strain (308) 2- a control diet with the addition of protease enzyme with recommended levels (0/02 %) 3- low protein diet (five percent reduction) 4- Diet with low levels of protein and essential amino acids (five percent reduction) 5- Diet with low levels of protein (experimental diet three) with the addition of protease enzyme with recommended levels (0/02 %) 6- Diet with low levels of protein and essential amino acids with the addition of protease enzyme with recommended levels (0/02 %). The highest amount of feed consumption in the starter period and the highest feed conversion ratio in the growth period, as well as the highest percentage of abdominal fat, were related to the diet with low levels of protein and amino acids. Protease enzyme increased the body weight and decreased the feed conversion ratio during the growth period in diets with low levels of protein and amino acids ($P < 0.05$). The use of protease enzyme in diets with low protein levels improved the digestibility of dry matter and organic matter, and the highest percentage of thigh and spleen and blood HDL concentration was related to the diet with low protein levels with the addition of protease enzyme ($P < 0.05$). Based on the results, use of protease enzyme in diets with low levels of protein and amino acid improved the performance of broiler chickens.
Article history: Received: 29 December 2022 Received in revised form: 3 June 2023 Accepted: 3 June 2023 Published online: 20 March 2024	
Keywords: <i>protease enzyme,</i> <i>low protein diet,</i> <i>broilers,</i> <i>digestibility,</i> <i>performance.</i>	
Cite this article: Gazani, S., Rezaei, M. & Kazemi Fard, M. (2024). Use of protease enzyme in diets with different levels of protein and amino acids on performance, carcass characteristics, nutrient digestibility and some blood parameters concentrations in broiler chicks. <i>Iranian Journal of Animal Science</i> , 55 (1), 163-180. DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2023.352781.653924	
	



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.352781.653924>

Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

Protein is one of the expensive nutrient in broiler diets. One strategy for reducing of the cost of broiler chicks is to reduce of diet protein by supplementation of protease enzyme. In this research, the effect of using protease enzyme in diets with different levels of protein and amino acids on performance, carcass characteristics, nutrient digestibility some blood parameters concentrations in broiler chicks was investigated.

Materials and methods

A total of 240 male Ross 308 broiler chicks were allocated in completely randomized design, including six experimental diets with 4 replicates and 10 chicks per replicate. Experimental diets include 1- a control diet based on corn and soybean meal, recommended according to the guide of Ross strain (308) 2- a

control diet with the addition of protease enzyme with recommended levels (0/02 %) 3-low protein diet (five percent reduction) 4- Diet with low levels of protein and essential amino acids (five percent reduction) 5- Diet with low levels of protein (Experimental dietthree) with the addition of protease enzyme 6- Diet with low levels of protein and essential amino acids with the addition of protease enzyme. Diets containing enzymes in this experiment were supplemented with 0.02% (based on the manufacturer's recommendation) serine protease enzyme (RONOZYME ProAct, DSM Animal Nutrition & Health, Switzerland) The experimental period included starter (0 - 10 days old) and growth periods (11 - 24 days old). On the 21st day of the experiment, in order to study the effect of the experimental diets on the biochemical indices of blood serum, two pieces of birds from each experimental unit were randomly selected and blood was taken from the vein under their wing. Amounts of glucose, triglycerides, cholesterol, high-density lipoprotein (HDL-c), low-density lipoprotein (LDL-c) and very low-density lipoprotein (VLDL-c) using special kits or relevant formulas were measured. In order to evaluate the carcass and internal organs, at the end of the experimental period (age 25 days), after about six hours of starvation, the number of two birds from each experimental unit (eight birds for each experimental diet) with a body weight close to the average weight of the experimental unit were selected and killed after weighing. Then the whole carcass, breast, thighs and other parts of the carcass were separated and the relative weight of the carcass was calculated as a ratio of the live weight and the weight of other parts as a ratio of the carcass weight.

Results

The highest amount of feed consumption in the starter period was related to diet 4 (diet with low levels of protein and amino acid) ($P < 0.05$). Adding 0.02 percent of protease enzyme to the diet with low levels of protein and amino acid improved the amount of weight gain of the birds during the growth period and the whole rearing period. Supplementing the diet with low levels of protein and amino acid with protease enzyme during the growth period improved the feed conversion ratio ($P < 0.05$). The highest and most unfavorable feed conversion ratio in the growth period and the entire rearing period was observed in birds fed with diet with low levels of protein and amino acid (experimental diet4), which was significantly different from other groups ($P < 0.05$). The highest dry matter and organic matter digestibility were related to experimental diet 5 (diet with low protein levels with the addition of protease enzyme) ($P < 0.05$). Addition of enzyme to diets with low levels of amino acid and protein improved the digestibility of protein ($P < 0.05$). The effect of different experimental groups on the percentage of carcass components was significant ($P < 0.05$). The highest breast weight ratio was observed in the control group supplemented with protease enzyme (experimental diet2) ($P < 0.05$). The highest percentage of thigh weight was related to experimental diet 5 (diet with low levels of protein with addition of protease enzyme). The highest abdominal fat weight was related to diet 4 (diet with low protein and amino acid levels). The highest liver weight was related to experimental diet 4 (diet with low protein and amino acid levels without protease enzyme) and the highest heart weight was related to diet 2 (control diet with protease enzyme). Also, the highest spleen weight was related to experimental diet5 (diet with low protein levels with the addition of protease enzyme). Supplementing the diet with low levels of protein with protease enzyme increased the amount of HDL-c in the blood. In general, the findings of this research showed that the addition of protease enzyme to diets with low protein and amino acid levels significantly improved weight gain (in the growth period and the entire test period) and feed conversion ratio (growth period). Also, the enzyme increased the digestibility of dry matter, crude protein and organic matter in diets with low protein levels and increased the percentage of breast weight.

Conclusion

Based on the results of the present experiment, use of protease enzyme in diets with low levels of protein and amino acid improved the performance of broiler chicks.



استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره‌های با سطوح مختلف پروتئین و اسیدهای آمینه بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه، قابلیت هضم مواد مغذی و غلظت برخی از فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی

سپیده گزانی^۱ | منصور رضایی^۲ | محمد کاظمی فرد^۳

۱. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: sepidehgazani25@gmail.com
۲. منصور رضایی، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: m.rezaei@sanru.ac.ir
۳. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: mo.kazemifard@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله:</p> <p>مقاله پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۸</p> <p>تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۱۳</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۳</p> <p>تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۱/۰۱</p> <p>کلیدواژه‌ها:</p> <p>آنزیم پروتئاز، جیره کم پروتئین، جوجه‌های گوشتی، قابلیت هضم، عملکرد.</p>	<p>جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸، در سن یک تا ۲۴ روزگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش جیره غذایی آزمایشی در چهار تکرار (۱۰ قطعه در هر تکرار) استفاده شد. جیره‌های غذایی آزمایشی عبارت بودند از ۱. جیره شاهد بر پایه ذرت و کنجاله سویا توصیه شده براساس راهنمای سویه راس ۳۰۸. ۲. جیره شاهد با افزودن آنزیم پروتئاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۳. جیره که پنج درصد، سطح پروتئین آن کاهش یافته بود ۴. جیره با سطوح پایین پروتئین و کاهش غلظت اسیدهای آمینه ضروری (پنج درصد) ۵. جیره با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی سه) با افزودن آنزیم پروتئاز با سطح توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۶. جیره با سطوح پایین پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری با افزودن آنزیم پروتئاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد). بیشترین میزان مصرف خوراک در دوره آغازین و بیشترین ضریب تبدیل خوراک در دوره رشد و همچنین بیشترین درصد چربی محوطه بطنی مربوط به جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه بود. آنزیم پروتئاز موجب افزایش وزن بدن و کاهش ضریب تبدیل خوراک در دوره رشد در جیره‌های با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه شد ($P < 0/05$). استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره‌های با سطوح پایین پروتئین موجب بهبود قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی شد و بیشترین درصد ران و طحال و غلظت HDL خون مربوط به جیره با سطوح پایین پروتئین با افزودن آنزیم پروتئاز بود ($P < 0/05$). بر اساس نتایج، استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره‌های با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه عملکرد جوجه‌های گوشتی را بهبود داد.</p>

استناد: گزانی، سپیده؛ رضایی، منصور و کاظمی فرد، محمد (۱۴۰۳). استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره‌های با سطوح مختلف پروتئین و اسیدهای آمینه بر عملکرد، ویژگی‌های لاشه، قابلیت هضم مواد مغذی و غلظت برخی از فراسنجه‌های خونی در جوجه‌های گوشتی. *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۵ (۱)، ۱۶۳-۱۸۰. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.352781.653924>



مقدمه

هزینه مواد خوراکی بین ۷۰ تا ۸۰ درصد کل هزینه پرورش جوجه‌های گوشتی تخمین زده می‌شود (Acamovic *et al.*, 2001). در میان مواد مغذی پروتئین یکی از عمده‌ترین مواد مغذی و گران‌ترین ترکیب جیره غذایی پرندگان است (Lemme *et al.*, 2004). سود استفاده از جیره‌های کم پروتئین شامل کاهش هزینه تغذیه‌ای و دفع نیتروژن کمتر است (Attia *et al.*, 2020). استفاده بیشتر و بهتر از مواد مغذی توسط حیوانات مزرعه‌ای باعث کاهش دفع مواد خوراکی و کاهش از دست رفت تولیدات حیوانی و سودآوری آنها می‌شود و اثرات منفی روی محیط زیست کاهش می‌یابد.

پروتئین و فسفر از مواد مغذی جیره طیور هستند که روی محیط زیست تاثیرگذار می‌باشند (Siegeret *et al.*, 2019). علاوه بر هزینه بالای مواد خوراکی وجود بعضی مواد ضدتغذیه‌ای قابلیت استفاده از مواد خوراکی را نیز کاهش می‌دهند از آن جمله پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای به دلیل افزایش ویسکوز قابلیت هضم پایینی دارند و به عنوان یک مانع فیزیولوژیک عمل می‌کنند و از عملکرد آنزیم‌های گوارشی جلوگیری می‌کنند بنابراین قابلیت دسترسی مواد مغذی را در جیره کاهش می‌دهند (Twari *et al.*, 2018).

کنجاله سویا محصول باقی‌مانده پس از روغن‌گیری از دانه سویا است که حدود ۴۸ درصد پروتئین، تعادل اسید آمینه مطلوب و محتوای لیزین بالایی دارد اما با وجود مزیت‌های بسیار حاوی عوامل ضدتغذیه‌ای مانند بازدارنده ترپسین، الیگوساکاریدها، اسیدفایتیک و غیره است که سبب کاهش ارزش تغذیه‌ای و بهره‌وری از آن به ویژه برای طیور جوان می‌شود (Song *et al.*, 2010). آنزیم‌های تجاری قابل دسترسی هستند که به صورت معنی‌داری عملکرد رشد و قابلیت هضم پروتئین و اسیدهای آمینه را در جیره‌های بر پایه ذرت و سویا بهبود می‌بخشند. پروتئازها با هیدرولیز کردن پیوندهای پپتیدی اسیدهای آمینه خاص، پروتئینها را تجزیه می‌کنند. پروتئازها از نظر منبع متفاوت هستند، بیشتر پروتئازهای تجاری از باکتریها یا قارچها جدا می‌شوند، pH بهینه، نحوه عملکرد و سوبسترای ترجیحی آنها متفاوت است (Rawlings *et al.*, 2013). در بررسی اثر استفاده از مکمل‌های آنزیمی در جیره‌های کم پروتئین بر عملکرد جوجه‌های گوشتی گزارش شده است که آنزیم‌ها با بهبود محتوای اسید آمینه‌ای و استفاده از انرژی و کاهش تخمیر پروتئولیتیک، سموم باکتریایی و مقدار مواد مغذی دفع شده در مدفوع، افزایش وزن و کارایی خوراک را به دنبال دارند و در نتیجه آلایندگی محیطی را کاهش می‌دهند (Mahmood *et al.*, 2017). در تحقیقی نشان داده شده است که استفاده از مخلوط‌های آنزیمی در جیره غذایی بر پایه ذرت و کنجاله سویا در جوجه‌های گوشتی موثر بوده و عملکرد و قابلیت هضم مواد مغذی را بهبود می‌بخشد (Masey *et al.*, 2012). اثرات مفید آنزیمها بر عملکرد رشد در جوجه‌های گوشتی می‌تواند در نتیجه افزایش قابلیت هضم پروتئین و تغییرات خصوصیات مورفولوژیکی روده باشد (Cowiosen *et al.*, 2017). در پرندگان جوان قابلیت هضم و جذب مواد مغذی به دلیل عدم توسعه دستگاه گوارش پایین است (Lec *et al.*, 2017). استفاده از آنزیم‌های برون‌زادی می‌تواند موجب بهبود ظرفیت جذبی مخاط روده شود (Franciel *et al.*, 2021). افزایش دسترسی به مواد مغذی در جوجه‌های جوان از طریق استفاده از آنزیم‌های برون‌زادی می‌تواند اثرات مفیدی بر عملکرد رشد داشته باشد (Masey *et al.*, 2012). تاثیر جیره‌های با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه بر رشد جوجه‌های گوشتی و عملکرد لاشه در چندین آزمایش تخمین زده شده که نتایج متفاوتی را به دنبال داشته است. در بعضی مطالعات نشان داده شده که استفاده از پروتئین و اسیدهای آمینه ممکن است توسط مکمل سازی جیره با آنزیم پروتئاز بهبود یابد (Freitas *et al.*, 2011).

با این همه، پژوهش‌های انجام شده در مورد استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره‌هایی با سطوح مختلف پروتئین و اسیدهای آمینه در تغذیه جوجه‌های گوشتی محدود است. بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر افزودن آنزیم پروتئاز به جیره‌های با سطوح مختلف پروتئین و اسیدهای آمینه بر عملکرد، صفات لاشه، قابلیت هضم مواد مغذی و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش

آزمایش در یک سالن پرورش مرغ گوشتی در سال ۱۴۰۱ انجام شد. تعداد ۲۴۰ جوجه گوشتی در یک روزه از سویه تجاری راس ۳۰۸ با میانگین وزن ۳۵ گرم تهیه شد. جوجه‌ها از سن یک تا ۲۴ روزگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش جیره غذایی آزمایشی و چهار تکرار برای هر جیره غذایی آزمایشی به تعداد ۲۴ واحد آزمایشی (پن) با مساحت یک متر مربع و تعداد ۱۰ پرنده در هر واحد آزمایشی (با بستر پوشال چوب) اختصاص داده شد. جیره‌های غذایی آزمایشی شامل ۱. جیره شاهد بر پایه ذرت و کنجاله سویا، توصیه شده بر اساس راهنمای سویه راس (۳۰۸) ۲. جیره شاهد با افزودن آنزیم پروتئاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۳. جیره که پنج درصد سطح پروتئین آن کاهش یافته است ۴. جیره با سطوح پایین پروتئین و کاهش غلظت اسیدهای آمینه ضروری (پنج درصد) ۵. جیره با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی سه) با افزودن آنزیم پروتئاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۶. جیره با سطوح پایین پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری با افزودن آنزیم پروتئاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد) بودند.

جیره‌های حاوی آنزیم در این آزمایش با ۰/۰۲ درصد (بر اساس توصیه تولید کننده) آنزیم سرین پروتئاز (RONOZYME Nutrition & Health, Switzerland) ProAct, DSM Animal) مکمل شدند و بدین شکل شش جیره غذایی تشکیل شد. به منظور توزیع یکنواخت و همگن آنزیم در ترکیب دان، پیش از ساخت هر یک از جیره‌های حاوی پروتئاز، یک پیش مخلوط از آنزیم مورد آزمایش تهیه و در ساخت خوراک مورد نظر استفاده شد. جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت و کنجاله سویا و بر اساس احتیاجات غذایی توصیه شده در راهنمای پرورشی سویه راس ۳۰۸ با محتوای پروتئین مختلف برای دو دوره آغازین (یک تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) با استفاده از نرم افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم و تهیه شدند (جدول ۱).

در هفته نخست پرورش، دانخوری‌های سینی (یک سینی به ازای هر واحد آزمایشی) و آبخوری‌های کله قندی (یک آبخوری کله قندی به ازای هر واحد آزمایشی) استفاده شد. در طول آزمایش پرندگان آزادانه به آب و خوراک (از نوع آردی)، دسترسی داشتند و تعداد تلفات و وزن آنها روزانه برای هر واحد آزمایشی ثبت می‌شد. تهویه سالن پرورش از نوع تونلی - حداقلی و سیستم گرمایشی از نوع گرم کننده هیتر گاز سوز بود. دمای سالن در هفته نخست آزمایش در محدوده ۳۳ درجه سلسیوس تنظیم و بوسیله دماسنج نصب شده در سطح جوجه‌ها کنترل می‌شد. پس از آن هر هفته به میزان دو درجه از دمای سالن کاسته شد. برنامه نوری بر اساس توصیه راهنمای پرورشی جوجه گوشتی راس ۳۰۸ در هفته اول شامل ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی در شبانه روز بود. سایر موارد مربوط به مدیریت پرورش برای تمامی تیمارها یکسان بود.

دوره‌های آزمایشی شامل دوره آغازین (۱۰- روزگی)، رشد (۲۴- ۱۱ روزگی) بود. مصرف خوراک و وزن پرندگان در انتهای هر دوره آزمایشی با استفاده از ترازو به صورت گروهی اندازه‌گیری شد و افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک بر حسب تعداد و وزن تلفات محاسبه گردید. در روز ۲۱ آزمایش، جهت مطالعه اثر جیره‌های غذایی آزمایشی بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون، دو قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی به صورت تصادفی انتخاب و از ورید زیر بال آنها خونگیری شد. نمونه‌های سرم پس از جداسازی (با دور سانتریفیوژ ۳۰۰۰ به مدت پنج دقیقه) و انتقال آنها به میکروتیوب، تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. مقادیر گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C)، با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون) و دستگاه طیف سنج خودکار (Technicon RA-1000, USA)، بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، اندازه‌گیری شدند. غلظت لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL-C) و لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین (VLDL) هر یک از نمونه‌های سرم خون با استفاده از رابطه یک و دو محاسبه شد (Ferid et al., 1972). (Bar et al., 1982).

$$VLDL = TG/5$$

رابطه ۱)

$$LDL = Cholestrol - (HDL + VLDL)$$

رابطه ۲)

اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری

جهت اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، چربی خام، پروتئین خام و ماده آلی از اکسید کرومیک به مقدار ۰/۳ درصد به عنوان نشانگر استفاده شد. روش کار بدین صورت است که در روزهای ۱۸، ۱۹ و ۲۰ دوره پرورش، نمونه خوراک و فضولات دارای نشانگر جمع‌آوری شدند. برای عادت‌دهی جوجه‌ها به خوراک دارای نشانگر، این خوراک از سه روز قبل یعنی ۱۵ روزگی در اختیارشان قرار گرفت. مقدار نشانگر نمونه‌های مربوط به خوراک و فضولات، با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد (فتتون و فتتون ۱۹۷۹). سپس قابلیت هضم مواد مغذی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{رابطه ۳)} \quad \text{قابلیت هضم (\%)} = \left[1 - \frac{\text{اکسید کرومیک جیره (\%)}}{\text{اکسید کرومیک نمونه فضولات (\%)}} \times \frac{\text{ماده مغذی نمونه فضولات (\%)}}{\text{ماده مغذی جیره (\%)}} \right] \times 100$$

به منظور ارزیابی لاشه و اندام‌های داخلی، در پایان دوره آزمایشی (سن ۲۵ روزگی)، پس از اعمال حدود شش ساعت گرسنگی، تعداد دو قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی (هشت قطعه پرنده برای هر جیره غذایی آزمایشی) با وزن بدن نزدیک به میانگین وزن واحد آزمایشی، انتخاب و پس از توزین، کشتار شدند. سپس لاشه کامل، سینه، ران‌ها و سایر قطعات لاشه جدا شد. وزن نسبی لاشه به صورت درصدی از وزن زنده محاسبه گردید. وزن اندام‌ها به صورت درصدی از وزن بدن گزارش شدند. قبل از آنالیز داده‌ها تست نرمالیتت انجام شد. سپس، داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. میانگین تیمارها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ($P < 0.05$) مقایسه شدند.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{رابطه ۴)}$$

Y_{ij} : مقدار هر مشاهده

μ : میانگین جامعه

T_i : اثر تیمار

e_{ij} : خطای آزمایش

جدول ۱- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره های آزمایشی جوجه های گوشتی (درصد)

رشد (۲۴-۱۱ روزگی)						آغازین (۱-۱۰ روزگی)						اجزای جیره (درصد)	
جیره غذایی آزمایشی ^۱						جیره غذایی آزمایشی ^۱							
۶	۵	۴	۳	۲	۱	۶	۵	۴	۳	۲	۱		
۵۹/۹۹	۵۹/۹۵	۵۷/۲۰	۵۷/۱۶	۵۶/۳۰	۵۳/۵۰	۵۸/۳۲	۵۸/۲۹	۵۵/۵۲	۵۵/۴۹	۵۴/۳۵	۵۱/۵۸	ذرت	
۲۹/۲۵	۲۹/۰۵	۳۱/۶۱	۳۱/۴۱	۳۲/۳۱	۳۴/۶۶	۲۹/۸۸	۲۹/۶۶	۳۲/۲۰	۳۲/۰۲	۳۳/۱۴	۳۵/۵۱	کنجاله سویا	
۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۰۰	۲/۹۹	۵/۰۰	۵/۰۰	۴/۹۹	۵/۰۰	۵/۰۰	۵/۰۰	کنجاله گلوتن ذرت	
۳/۱۵	۳/۱۷	۳/۶۲	۳/۶۳	۳/۷۹	۴/۲۶	۱/۶۴	۱/۶۷	۲/۱۱	۲/۱۳	۲/۳۳	۲/۷۹	روغن سویا	
۱/۹۳	۱/۹۴	۱/۹۱	۱/۹۲	۱/۹۰	۱/۸۸	۲/۱۸	۲/۱۸	۲/۱۶	۲/۱۷	۲/۱۵	۲/۱۳	دی کلسیم فسفات	
۰/۶۲	۰/۶۲	۰/۶۲	۰/۶۲	۰/۶۲	۰/۶۲	۰/۷۲	۰/۷۲	۰/۷۱	۰/۷۲	۰/۷۲	۰/۷۰	پودر صدف	
۰/۲۹	۰/۳۷	۰/۲۹	۰/۳۷	۰/۲۸	۰/۲۹	۰/۴۱	۰/۵۰	۰/۴۲	۰/۵۰	۰/۴۱	۰/۴۱	ال- لیزین هیدروکلراید	
۰/۲۵	۰/۲۹	۰/۲۷	۰/۳۲	۰/۲۷	۰/۳۰	۰/۲۹	۰/۳۳	۰/۳۱	۰/۳۶	۰/۳۳	۰/۳۳	DL- متیونین	
۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۲۹	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۲۸	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۲۹	توکسین بایندر	
۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۲۲	۰/۲۶	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۹	۰/۳۲	۰/۲۸	۰/۳۲	۰/۲۹	۰/۲۹	بیکربنات سدیم	
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۴	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۴	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	پیش مخلوط ویتامینه ^۲	
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۴	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۴	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	پیش مخلوط مینرال ^۲	
۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۱۷	۰/۱۴	۰/۱۸	۰/۱۸	نمک	
۰/۱۰	۰/۱۴	۰/۱۱	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۶	۰/۲۱	۰/۱۶	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۱۸	ال- ترئونین	
۰/۰۳	۰/۰۸	۰/۰۱	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۷	۰/۱۳	۰/۰۴	۰/۱۰	۰/۰۸	۰/۰۶	ال- والین	
۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	سالینومایسین	
۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۱۴	.	.	۰/۱۳	.	.	.	زنولیت	
۰/۰۲	۰/۰۲	.	.	۰/۰۲	.	۰/۰۲	۰/۰۲	.	.	۰/۰۲	.	پرواکت	
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	جمع	
												ترکیبات شیمیایی محاسبه شده	
												AME _n (کیلوکالری/کیلو	
۳۱۰۰	۳۱۰۰	۳۱۰۰	۳۱۰۰	۳۱۰۰	۳۱۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	۳۰۰۰	گرم)	
۲۰/۴۲	۲۰/۴۲	۲۰/۴۲	۲۰/۴۲	۲۱/۵۰	۲۱/۵۰	۲۱/۸۵	۲۱/۸۵	۲۱/۸۵	۲۱/۸۵	۲۳	۲۳	پروتئین خام	
۰/۵۴	۰/۵۹	۰/۵۶	۰/۶۰	۰/۵۸	۰/۵۹	۰/۶۰	۰/۶۵	۰/۶۲	۰/۶۶	۰/۶۴	۰/۶۵	متیونین قابل هضم	
۰/۸۲	۰/۸۷	۰/۸۲	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۹۰	۰/۹۵	۰/۹۰	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵	متیونین + سیستین	
۱/۰۹	۱/۱۵	۱/۰۹	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۲۱	۱/۲۸	۱/۲۱	۱/۲۸	۱/۲۸	۱/۲۸	لیزین قابل هضم	
۰/۷۳	۰/۷۶	۰/۷۳	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۸۱	۰/۸۶	۰/۸۱	۰/۸۶	۰/۸۶	۰/۸۶	ترئونین قابل هضم	
۰/۸۲	۰/۸۷	۰/۸۲	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۹۱	۰/۹۶	۰/۹۱	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۶	والین	
۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۶	کلسیم	
۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸	فسفر غیر فیتاته	
۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶	سدیم	
۲۰/۰۰	۲۰/۹۰	۲۱/۱۳	۲۱/۰۵	۲۲/۱۲	۲۳/۲۷	۲۱/۴۰	۲۱/۲۰	۲۲/۵۵	۲۲/۳۵	۲۲/۲۴	۲۳/۹۵	تعادل الکترولیتی جیره (میلی اکی والان/ کیلوگرم)	
۸	۶	۸	۷	۱	۱	۱	۰	۱	۰	۵	۴		

۱.۱. جیره شاهد بر پایه ذرت و کنجاله سویا، با سطوح توصیه شده بر اساس راهنمای سویه راس ۳۰۸. جیره شاهد با افزودن آنزیم پروتاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۳. جیره که ۵ درصد سطح پروتئین آن کاهش یافته است ۴. جیره با سطوح پایین پروتئین و کاهش غلظت اسیدهای آمینه ضروری (۵ درصد) ۵. جیره با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی ۳) با افزودن آنزیم پروتاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۶. جیره با سطوح پایین پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری با افزودن آنزیم پروتاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد).

۲. مکمل ویتامینه و معدنی در هر کیلوگرم جیره تامین کننده ۱۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین آ، ۵۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین دی ۳، ۵۰ واحد بین المللی ویتامین ای، ۳ میلی گرم ویتامین ک، ۲ میلی گرم ویتامین ب، ۱ میلی گرم ویتامین ب، ۳ میلی گرم ویتامین ب، ۰.۱۵ میلی گرم ویتامین ب، ۰.۱۲، ۰.۱۲ میلی گرم بیوتین، ۲ میلی گرم اسید فولیک، ۱۲ میلی گرم پانتوتنیک اسید، ۱۰۰ میلی گرم منگنز، ۱۰۰ میلی گرم روی، ۴۰ میلی گرم آهن، ۱۵ میلی گرم مس، ۰.۳۵ میلی گرم سلنیوم و ۱ میلی گرم ید بود.

نتایج و بحث

عملکرد رشد

بر اساس اطلاعات ارائه شده در جدول دو، صفات مرتبط با عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آزمایشی مختلف و همچنین کل دوره آزمایش به صورت معنی‌داری تحت تاثیر جیره‌های غذایی آزمایشی قرار گرفت. در دوره‌های رشد و کل دوره مصرف خوراک پرنده‌های تغذیه شده با افزودن آنزیم پروتئاز به جیره‌های شاهد (جیره غذایی آزمایشی ۲) در مقایسه با پرنده‌های تغذیه شده با سایر جیره‌ها کمتر بود ($P < 0.05$). بیشترین میزان مصرف خوراک در دوره آغازین مربوط به جیره ۴ (جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه) بود ($P < 0.05$). افزودن ۰/۰۲ درصد آنزیم پروتئاز به جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه موجب بهبود در مقدار افزایش وزن پرنده‌ها در دوره رشد و کل دوره پرورش شد. جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه با افزودن آنزیم پروتئاز بالاترین افزایش وزن را در دوره رشد و کل دوره پرورش فراهم نمود به طوری که با جیره‌های با سطوح پایین پروتئین با افزودن آنزیم پروتئاز (جیره غذایی آزمایشی ۵) و همچنین جیره‌های با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی ۳) و جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه (جیره غذایی آزمایشی ۴) اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). مکمل کردن جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه با آنزیم پروتئاز در دوره رشد ضریب تبدیل خوراک را بهبود داد ($P < 0.05$). در حالی‌که در دوره آغازین جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه با افزودن آنزیم (جیره غذایی آزمایشی ۶) در مقایسه با جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه بدون آنزیم (جیره غذایی آزمایشی ۵) و جیره‌های با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی ۳) و جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه (جیره غذایی آزمایشی ۴) از این منظر با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$). بالاترین و نامطلوب‌ترین ضریب تبدیل خوراک در دوره رشد و کل دوره پرورش در پرنده‌های تغذیه شده با جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه (جیره غذایی آزمایشی ۴) مشاهده شد که با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). موافق با نتایج پژوهش حاضر، استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره‌هایی با سطوح مختلف پروتئین بیشترین میزان مصرف خوراک در دوره آغازین مربوط به جیره با سطوح پایین پروتئین بدون استفاده از آنزیم بود (*Shima et al., 2021*). در مطالعه‌ای (*Fru et al., 2011*) اثر مثبتی از استفاده از آنزیم پروتئاز بر بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی و افزایش قابلیت هضم انرژی و اسیدهای آمینه را گزارش نمودند. افزایش بدست آمده در وزن در دوره رشد و کل دوره آزمایش در این پژوهش با افزودن آنزیم پروتئاز به جیره‌های با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه ممکن است به دلیل افزایش در قابلیت دسترسی اسیدهای آمینه شرکت کننده در ساختمان ماهیچه باشد (*Sonu et al., 2018*).

موافق با نتایج پژوهش حاضر در تحقیق (*Ding et al., 2016*) آثار مثبت استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره‌های با سطوح پایین پروتئین نسبت به جیره‌های با سطوح پایین پروتئین بدون افزودن آنزیم مشاهده شد. آنزیم پروتئاز به صورت معنی‌داری موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک در سن (۲۱- روزگی) شد. این محققین گزارش کردند که استفاده از ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آنزیم پروتئاز در جیره‌های غذایی به طور قابل توجهی فعالیت تریپسین را در پانکراس و نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت را در دوازدهم، ژوژنوم و ایلئوم افزایش می‌دهد. در پژوهش حاضر عدم معنی‌دار شدن اثر افزودن پروتئاز بر افزایش وزن در دوره آغازین را می‌توان به این مساله نسبت داد که اثر افزودن آنزیم پروتئاز به جیره می‌تواند تحت تاثیر سن پرندگان قرار گیرد. نشان داده شده است که سن بر ترشح تریپسین درونزادی تأثیر می‌گذارد. نیوواسکلان (۱۹۹۵) مشاهده کردند که ترشح تریپسین درونزادی در دوازدهم تا ۲۱ روزگی کارآمد نیست. علاوه بر سن، جیره غذایی نیز بر میزان و ترکیب آنزیم ترشح شده از پانکراس تأثیر می‌گذارد (*Isaksenet et al., 2010*).

گزارش شده است که استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره بخشی از آثار منفی آنتی‌تریپسین لکیتین‌ها و پروتئین‌های آنتی‌ژنیک مانند گلايسینین که عامل التهاب هستند را کاهش می‌دهند (*Erdaw et al., 2017*). در آزمایشی موافق با نتایج پژوهش حاضر، افزودن آنزیم پروتئاز در دوره آغازین تاثیری بر ضریب تبدیل خوراک نداشت، اما در دوره رشد ضریب تبدیل خوراک بهبود یافت (*Fru et al., 2011*). گزارش شده است با افزایش سطح آنتی‌تریپسین دریافتی در سنین بالاتر سرعت عبور

و دفع مواد مغذی افزایش می‌یابد و در نهایت رشد پرنده تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Ruiz & De BelalAzar, 2005). علاوه بر این، مطالعات قبلی نشان داده است که پروتئازهای به کار رفته به عنوان افزودنیهای خوراک می‌توانند برای تکمیل اثرات پپسین درونزادی و آنزیمهای پانکراس از طریق افزایش هیدرولیز و حل شدن پروتئین مفید باشند (Ding et al., 2016). تفاوت موجود در تاثیر گذاری آنزیم پروتئاز در شرایط آزمایشی مختلف به قابلیت هضم مواد مغذی محدود کننده، غلظت سوبسترا و قابلیت دسترسی آن، گونه، وضعیت سلامتی حیوان، شرایط گوناگون پرورشی، محیطی و تغذیه‌ای مربوط می‌شود (Cowieson et al., 2017).

نتایج پژوهشی نشان داد که مکمل سازی جیره غذایی با آنزیم پروتئاز اثر معنی داری بر رشد در جوجه‌های گوشتی نداشت که ممکن است به دلیل اثرات نامطلوب مکمل سازی جیره با آنزیم پروتئاز بر ترشح آنزیم های درون زادی باشد (Kaczmarek et al., 2014). فرضیه دیگر برای این نتیجه کافی بودن مقدار درصد پروتئاز موجود در روده برای هضم پروتئین و یا سازگاری پرنده می‌باشد (Kardinal et al., 2019). در تحقیقی (Lourenco et al., 2020) گزارش کردند که جیره‌های با سطوح پایین پروتئین، کمترین افزایش وزن و بالاترین ضریب تبدیل خوراک را داشتند. فرض می‌شود که تاثیر پروتئاز بر قابلیت هضم اسیدهای آمینه بستگی به ترکیب جیره غذایی که بعنوان سوبسترای عمل آنزیم محسوب می‌شود دارد.

جدول ۲. اثر جیره‌های غذایی آزمایشی بر عملکرد جوجه های گوشتی

جیره غذایی آزمایشی ^۱	مصرف خوراک (گرم)	افزایش وزن (گرم)	ضریب تبدیل خوراک (گرم:گرم)
۱-۱۰	۱۱-۲۴	۱-۱۰	۱-۲۴
روزگی	روزگی	روزگی	روزگی
۲۵۵/۵۰ ^c	۱۰۲۴/۱۳ ^c	۶۹۱/۹۳ ^{bc}	۱/۳۶ ^b
۲	۱۰۱۲/۵۳ ^c	۶۶۶/۹۳ ^c	۱/۳۶ ^b
۲۵۸/۰۰ ^c	۱۲۷۰/۵۳ ^b	۶۳۰/۶۸ ^c	۱/۵۱ ^{abc}
۳	۱۰۶۳/۵۸ ^{ab}	۶۹۷/۲۵ ^b	۱/۵۲ ^{ab}
۲۷۱/۰۰ ^b	۱۳۳۴/۵۸ ^a	۹۵۹/۵۰ ^{ab}	۱/۳۹ ^{ab}
۴	۱۰۶۸/۷۳ ^a	۶۸۸/۸۰ ^{bc}	۱/۵۵ ^a
۲۷۸/۰۰ ^a	۱۳۴۶/۷۳ ^a	۹۵۶/۸۰ ^{abc}	۱/۴۰ ^a
۵	۱۰۳۱/۱۸ ^{bc}	۶۸۹/۲۰ ^{bc}	۱/۴۹ ^{bc}
۲۶۰/۲۵ ^c	۱۲۹۱/۴۳ ^b	۹۴۴/۷۰ ^{bc}	۱/۳۶ ^b
۶	۱۰۷۹/۵۵ ^a	۷۳۲/۰۰ ^a	۱/۴۷ ^c
۲۵۸/۰۰ ^c	۱۳۳۷/۵۵ ^a	۹۸۰/۵۰ ^a	۱/۳۶ ^b
SEM	۱۱/۹۳۳	۸/۴۱۱	۰/۰۰۸۹
	۱۱/۶۰۲	۷/۸۹۵	۰/۰۱۵۴
	۵/۸۹۱	۵/۸۹۱	۰/۰۲۳۷
	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۹
P-Value	۰/۰۰۳۷	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۹
	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۹

میانگین ها با حروف غیر همسان در هر ستون اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$).

۱. جیره شاهد بر پایه ذرت و کنجاله سویا، با سطوح توصیه شده بر اساس راهنمای سویه راس (۳۰۸). جیره شاهد با افزودن آنزیم پروتئاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد). ۲. جیره شاهد با افزودن آنزیم پروتئاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد). ۳. جیره که ۵ درصد سطح پروتئین آن کاهش یافته است. ۴. جیره با سطوح پایین پروتئین و کاهش غلظت اسیدهای آمینه ضروری (پنج درصد). ۵. جیره با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی ۳) با افزودن آنزیم پروتئاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد). ۶. جیره با سطوح پایین پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری با افزودن آنزیم پروتئاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد).

قابلیت هضم

در جدول ۳ اثر گروههای آزمایشی بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، پروتئین و چربی خام نشان داده شده است. بر این اساس اثر گروههای آزمایشی بر قابلیت هضم ماده خشک معنی دار شد و بیشترین قابلیت هضم ماده خشک مربوط به جیره غذایی آزمایشی ۵ (جیره با سطوح پایین پروتئین با افزودن آنزیم پروتاز) بود ($P < 0/05$). افزودن آنزیم پروتاز به جیره با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی ۵) به صورت معنی داری موجب بهبود قابلیت هضم ماده خشک در جیره مذکور شد ($P < 0/05$). همچنین بر اساس اطلاعات جدول ۳، در این پژوهش اثر جیره‌های غذایی آزمایشی مختلف بر قابلیت هضم چربی و ماده آلی معنی دار شد ($P < 0/05$). افزودن آنزیم پروتاز به جیره با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی ۵) موجب بهبود قابلیت هضم ماده آلی شد. در حالی که کمترین قابلیت هضم ماده آلی مربوط به جیره شاهد بدون افزودن آنزیم پروتاز (جیره غذایی آزمایشی ۱) بود ($P < 0/05$). در پژوهشی اثر مکمل کردن آنزیم پروتاز بر عملکرد رشد در جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن همسو با نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیشترین قابلیت هضم ماده خشک مربوط به جیره‌های حاوی آنزیم پروتاز بود (Ahmed et al., 2020).

بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش اثر جیره‌های غذایی آزمایشی مختلف بر قابلیت هضم پروتئین معنی دار بود ($P < 0/05$). بیشترین قابلیت هضم مربوط به جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه با افزودن آنزیم پروتاز بود. در تحقیقی عملکرد و قابلیت استفاده از مواد مغذی جیره با استفاده از آنزیم پروتاز در جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن همسو با نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن آنزیم پروتاز موجب افزایش قابلیت هضم پروتئین می‌شود (Freitas et al., 2011). در تحقیقی نشان داده شد که مکمل کردن جیره با ۰/۰۸ - ۰/۰۱ درصد پروتاز موجب بهبود قابلیت هضم اسیدهای آمینه آرژنین، ترئونین، ایزولوسین، آسپاراژین و لیزین شد (Angel et al., 2011). پروتئین‌های گیاهی، مانند کنجاله سویا، سرشار از عوامل ضدتغذیه‌ای، به ویژه مهارکننده‌های پروتاز هستند که می‌توانند فعالیت آنزیم‌های پروتولیتیک تریپسین و کیموتریپسین را کاهش دهند (Erdaw et al., 2017). کاهش فعالیت این آنزیم‌ها ممکن است قابلیت هضم پروتئین و در دسترس بودن اسیدهای آمینه را در جیره‌های غذایی کاهش دهند. بنابراین، گنجاندن پروتاز در جیره‌های حاوی کنجاله سویا می‌تواند به طور موثری اثرات منفی و قابل توجه عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در جیره‌های غذایی که عمدتاً از پروتئین‌های گیاهی تشکیل شده‌اند را کاهش دهد. بازدهی استفاده از پروتئین جیره در طیور تا حدودی به شرایط گوارشی متکی است (Swatson et al., 2002). روده کوچک بویژه ویلی‌های اپیتلیومی جاذب و کریپت‌ها نقش محوری و اساسی در آخرین مرحله هضم و ادغام مواد مغذی بازی می‌کنند (Amer et al., 2020).

جدول ۳. اثر جیره‌های غذایی آزمایشی بر قابلیت هضم (ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام و چربی خام) (%)

چربی خام	پروتئین خام	ماده آلی	ماده خشک	جیره غذایی آزمایشی ^۱
۷۶/۸۱ ^a	۶۶/۶۱ ^b	۶۷/۴۱ ^b	۶۵/۶۱ ^b	۱
۷۹/۳۳ ^a	۶۷/۵۹ ^b	۶۷/۸۴ ^b	۶۶/۵۹ ^b	۲
۸۰/۳۶ ^a	۷۰/۰۱ ^a	۶۷/۸۹ ^b	۶۹/۰۱ ^a	۳
۷۹/۷۱ ^a	۶۷/۴۳ ^b	۶۸/۵۰ ^b	۶۶/۴۳ ^b	۴
۷۹/۶۳ ^b	۶۶/۸۸ ^b	۷۱/۳۷ ^a	۶۹/۵۱ ^a	۵
۷۹/۶۳ ^a	۷۰/۵۱ ^a	۶۷/۸۰ ^b	۶۵/۸۸ ^b	۶
۱/۳۴۰	۰/۷۸۹	۰/۸۰۱	۰/۷۹۸	SEM
۰/۰۰۶۲	۰/۰۰۹۰	۰/۰۲۶۱	۰/۰۰۹۲	P Value

میانگین‌ها با حروف غیر همسان در هر ستون اختلاف معنی دار دارند ($P < 0/05$).

۱.۱. جیره شاهد بر پایه ذرت و کنجاله سویا، با سطوح توصیه شده بر اساس راهنمای سویه راس (۳۰۸) ۲. جیره شاهد با افزودن آنزیم پروتاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۳. جیره که ۵ درصد سطح پروتئین آن کاهش یافته است ۴. جیره با سطوح پایین پروتئین و کاهش غلظت اسیدهای آمینه ضروری (پنج درصد) ۵.

جیره با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی سه) با افزودن آنزیم پروتئاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۶ جیره با سطوح پایین پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری با افزودن آنزیم پروتئاز با سطوح توصیه شده (۰/۰۲ درصد).

صفات لاشه

با توجه به جدول شماره ۴ اثر گروه‌های مختلف آزمایشی بر درصد اجزای لاشه معنی‌دار شد ($P > 0/05$). در حالیکه بر وزن نسبی لاشه تاثیر معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). بالاترین نسبت وزنی سینه در گروه شاهد مکمل شده با آنزیم پروتئاز (جیره غذایی آزمایشی ۲) مشاهده شد که در مقایسه با گروه‌های با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه بدون آنزیم پروتئاز (جیره‌های غذایی آزمایشی ۳ و ۴) به شکل معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/05$). استفاده از جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه (جیره غذایی آزمایشی ۴) موجب کاهش معنی‌داری در عضله سینه شد ($P < 0/05$). بیشترین درصد وزن ران مربوط به جیره غذایی آزمایشی ۵ (جیره کم پروتئین با افزودن آنزیم پروتئاز) بود.

بیشترین وزن چربی محوطه بطنی مربوط به جیره غذایی آزمایشی ۴ (جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه) و کمترین مربوط به جیره غذایی آزمایشی ۲ (جیره شاهد با اضافه کردن آنزیم پروتئاز) بود. بیشترین وزن جگر مربوط به جیره غذایی آزمایشی ۴ (جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه بدون آنزیم پروتئاز) و بیشترین وزن قلب مربوط به جیره غذایی آزمایشی ۲ (جیره شاهد همراه با آنزیم پروتئاز) بود. همچنین بیشترین وزن طحال مربوط به جیره غذایی آزمایشی ۵ (جیره با سطوح پایین پروتئین با افزودن آنزیم پروتئاز) بود. مشخص شده است که قابلیت هضم اسیدهای آمینه با افزودن پروتئاز به میزان ۵/۴ درصد برای لیزین، ۷/۸ درصد برای ترئونین و ۶/۵ درصد برای متیونین افزایش می‌یابد (Angel et al., 2011). بنابراین، مکمل پروتئاز می‌تواند غلظت و قابلیت دسترسی اسیدهای آمینه آزاد را در ماهیچه سینه افزایش دهد. پروتئازها ممکن است موجب کاهش فعالیت مواد ضد مغذی مانند مهارکننده‌های تریپسین شوند و در نتیجه استفاده و دسترسی زیستی آمینواسیدها را بهبود بخشند (Hajati et al., 2009). در مطالعه‌ای (Xu et al., 2017) گزارش کردند وزن سینه در جیره‌هایی که از پروتئاز استفاده شده بود نسبت به جیره‌های دیگر بیشتر بود.

در این پژوهش نشان داده شد که بیشترین چربی محوطه بطنی در گروه‌هایی که از جیره‌های با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه تغذیه کرده بودند بدست آمده که با نتایج تحقیقات (Franciele et al., 2021) مطابقت دارد این یافته‌ها احتمالاً از به تعادل رسیدن قابلیت دسترسی و مورد استفاده قرار گرفتن مواد مغذی در جیره‌های حاوی آنزیم و بیان ژنهای آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم لیپیدها منتج می‌شود که می‌توانند در ترکیب و راندمان لاشه موثر باشند (Kumar et al., 2019). چربی محوطه بطنی نقش مهمی در کیفیت لاشه دارد و افزایش آن موجب کاهش مشتری پسندی می‌شود. در مطالعه‌ای (Sklan et al., 2002) افزایش چربی محوطه بطنی را در جیره‌های با سطوح پایین پروتئین گزارش کردند. این مشاهده ممکن است به دلیل نسبت بالای انرژی به پروتئین که منجر به افزایش سطح انرژی بیش از مقدار مورد نیاز رشد به دلیل محتوای پروتئین نسبتاً کم بوده از این رو، این انرژی به شکل چربی ذخیره می‌شود (Leeson et al., 1997). در تحقیقی (Kamran et al., 2010) نشان دادند پرنده‌های تغذیه شده با جیره‌های کم پروتئین ترجیحاً از کربوهیدرات‌ها به عنوان منبع انرژی به جای اسیدهای چرب آزاد استفاده می‌کنند که در نتیجه سطح تری گلیسرید پلاسما بالاتر می‌رود. با این وجود در پژوهش حاضر استفاده از جیره کم پروتئین تاثیر معنی‌داری بر روی غلظت تری گلیسرید خون نداشت.

افزایش وزن جگر در جیره با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت لیپوژنسیز و افزایش بیان ژنهای آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم لیپیدها بیان شود. در تحقیقی اثر افزودن پروتئاز بر جیره‌های با سطوح پایین پروتئین مورد بررسی قرار گرفت و بر خلاف نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر، بیشترین وزن جگر مربوط به جیره‌های حاوی آنزیم پروتئاز بود (Ndazigaruye et al., 2019). گزارش شده است که آنزیمها استفاده از اسید آمینه را بهبود بخشیده و مقدار مواد مغذی دفع شده در مدفوع را کاهش می‌دهند (Tactacan et al., 2016). نتایج مطالعاتی نشان داده است که سطح کل اسیدهای

آمینه در سرم، کبد، پر و لاشه می‌تواند منعکس کننده استفاده از اسیدهای آمینه باشد (Middendorf et al., 2019). علاوه بر این، غلظت اسیدهای آمینه در لاشه می‌تواند برای تعیین دقیق نیاز اسید آمینه در جیره جوجه‌های گوشتی استفاده شود (Saleh et al., 2019 b).

جدول ۴- اثر جیره‌های غذایی آزمایشی بر ویژگیهای لاشه (درصدی از وزن زنده) و وزن اندام‌ها (درصدی از وزن لاشه) جوجه‌های گوشتی در سن ۲۵ روزگی (%)

وزن لاشه و اندام‌های داخلی (درصدی از وزن زنده)									
جیره غذایی آزمایشی ^۱	بازده لاشه با پوست	سینه	ران	چربی محوطه بطنی	سنگدان	جگر	قلب	طحال	پانکراس
۱	۵۷/۹۴	۴۰/۴۲ ^a	۳۲/۴۰ ^a	۰/۸۲ ^b	۱/۷۲	۲/۱۴ ^{bc}	۰/۵۷ ^a	۰/۰۹۸ ^{ab}	۰/۳۵
۲	۵۸/۵۰	۴۱/۰۰ ^a	۳۰/۲۰ ^c	۰/۵۵ ^b	۱/۶۳	۲/۰۳ ^c	۰/۵۸ ^a	۰/۰۶۵ ^b	۰/۳۱
۳	۵۶/۶۱	۳۸/۵۰ ^a	۳۱/۸۵ ^{ab}	۱/۰۹ ^b	۱/۷۳	۲/۲۸ ^{ab}	۰/۵۳ ^{abc}	۰/۱۳ ^a	۰/۳۱
۴	۵۷/۴۴	۳۶/۶۳ ^c	۳۰/۹۹ ^{bc}	۱/۸۶ ^a	۱/۸۲	۲/۴۳ ^a	۰/۵۴ ^{ab}	۰/۱۳ ^a	۰/۳۱
۵	۵۶/۴۴	۴۰/۲۳ ^a	۳۲/۶۸ ^a	۰/۸۴ ^b	۱/۶۹	۲/۱۲ ^{bc}	۰/۴۶ ^c	۰/۱۳ ^a	۰/۳۰
۶	۵۷/۸۶	۳۸/۵۷ ^b	۳۱/۹۲ ^{ab}	۰/۹۷ ^b	۱/۷۲	۲/۱۶ ^{bc}	۰/۴۸ ^c	۰/۰۶ ^b	۰/۳۰
SEM	۰/۷۳۷	۰/۴۵۲	۰/۴۲۴	۰/۱۶۷	۰/۰۴۳	۰/۰۵۳	۰/۰۲۳	۰/۰۱۳	۰/۰۱۸
P Value	۰/۳۵۱۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۶۱	۰/۰۰۰۷	۰/۱۲۳۱	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۹۴	۰/۰۰۳۳	۰/۴۱۵۸

میانگین‌ها با حروف غیر همسان در هر ستون اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$).

۱. ۱. جیره شاهد بر پایه ذرت و کنجاله سویا، با سطوح توصیه شده بر اساس راهنمای سویه راس ۲. جیره شاهد با افزودن آنزیم پروتاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۳. جیره که ۵ درصد سطح پروتئین آن کاهش یافته است ۴. جیره با سطوح پایین پروتئین و کاهش غلظت اسیدهای آمینه ضروری (پنج درصد) تیمار ۵. جیره با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی سه) با افزودن آنزیم پروتاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۶. جیره با سطوح پایین پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری با افزودن آنزیم پروتاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد).

شاخص‌های سرم خون

جیره‌های غذایی آزمایشی غلظت گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول VLDL و LDL را تحت تاثیر قرار ندادند اما بر مقادیر HDL-C اثر معنی‌داری داشتند (جدول ۵). مکمل کردن جیره با سطوح پایین پروتئین با آنزیم پروتاز، مقدار HDL-C خون را افزایش داد. در تحقیق (Ndazigaruye et al., 2019) تاثیر استفاده از آنزیم پروتاز بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون بررسی شد که نتایج آن با نتایج پژوهش حاضر موافقت دارد. در حالیکه آزمایشات (Ahmed et al., 2020) عکس این نتایج را نشان می‌دهد این اختلاف بین داده‌های ما و داده‌های آنها ممکن است به دلیل عواملی مانند ترکیب مواد مغذی جیره‌ها (پروتئین کافی/ناکافی)، آنزیم مورد استفاده (منبع آنزیم‌ها، دوزها) و منابع پروتئین خام مورد استفاده باشد که می‌تواند برخی شرایط دستگاه گوارش مانند pH را تغییر دهد. (Hada et al., 2013) گزارش کردند که متابولیسم کربوهیدراتها در جوجه‌های گوشتی تحت تاثیر سطوح پروتئین و انرژی قرار نمی‌گیرد این ممکن است به دلیل تنظیم دقیق متابولیسم کربوهیدرات در همان پرندگان برای حفظ سطح گلوکز خون باشد. در مطالعه‌ای (Fang et al., 2008) گزارش کردند که جیره‌های با سطوح پایین پروتئین سبب افزایش گلیکوژن‌ساز و افزایش تری گلیسرید در خون می‌شود. به نظر می‌رسد که سطوح تری گلیسرید با نسبت انرژی (کالری) به پروتئین در جیره‌ها ارتباط دارد و افزایش انرژی مورد نیاز در جیره با سطوح پایین پروتئین منجر به افزایش غلظت تری گلیسرید خون و رسوب چربی در محوطه بطنی شود (Swennen et al., 2007). افزایش چربی محوطه بطنی نوعی ضرر است که با مصرف جیره‌های با سطوح پایین پروتئین ایجاد می‌شود (Sklan et al., 2002).

جدول ۵. اثر جیره های غذایی آزمایشی بر شاخص های بیوشیمیایی خون در سن ۲۱ روزگی (میلی گرم / دسی لیتر)

آنالیز بیوشیمیایی خون (۲۱ روزگی)						
VLDL	LDL	HDL	کلسترول	تری گلیسرید	گلوکز	جیره غذایی آزمایشی ^۱
۷/۵۵	۶۱/۵۵	۵۵/۳۹ ^c	۱۲۴/۵۰	۳۷/۷۵	۲۱۳/۰۰	۱
۱۰/۲۵	۷۷/۹۱	۶۵/۳۴ ^{ab}	۱۵۳/۵۰	۵۱/۲۵	۲۳۳/۰۰	۲
۷/۹۰	۶۴/۱۰	۶۵/۲۴ ^{bc}	۱۲۸/۲۵	۳۹/۵۰	۲۲۹/۷۵	۳
۱۰/۳۰	۷۱/۲۰	۶۲/۵۰ ^{abc}	۱۴۴/۰۰	۵۱/۵۰	۲۳۶/۷۵	۴
۸/۶۰	۶۶/۰۲	۶۹/۸۸ ^a	۱۴۴/۵۰	۴۳/۰۰	۲۳۵/۵۰	۵
۹/۵۰	۷۳/۸۹	۶۷/۶۱ ^a	۱۵۱/۰۰	۴۷/۵۰	۲۳۳/۰۰	۶
۱/۲۲۹	۷/۴۷۲	۳/۰۳۸	۸/۲۱۲	۶/۱۴	۷/۲۲۵	SEM
۰/۴۸۸۹	۰/۶۲۸۲	۰/۰۱۵۱	۰/۱۱۰۸	۰/۴۸۸۹	۰/۲۴۹۴	P Value

میانگین ها با حروف غیر همسان در هر ستون اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$).

۱، ۱. جیره شاهد بر پایه ذرت و کنجاله سویا، با سطوح توصیه شده بر اساس راهنمای سویه راس ۲. جیره شاهد با افزودن آنزیم پروتئاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۳. جیره که ۵ درصد سطح پروتئین آن کاهش یافته است ۴. جیره با سطوح پایین پروتئین و کاهش غلظت اسیدهای آمینه ضروری (پنج درصد) ۵. جیره با سطوح پایین پروتئین (جیره غذایی آزمایشی سه) با افزودن آنزیم پروتئاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد) ۶. جیره با سطوح پایین پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری با افزودن آنزیم پروتئاز به مقدار توصیه شده (۰/۰۲ درصد).

نتیجه گیری

به طور کلی یافته‌های این پژوهش نشان داد، افزودن آنزیم پروتئاز به جیره‌های با سطوح پایین پروتئین و اسید آمینه موجب بهبود معنی‌دار افزایش وزن (در دوره رشد و کل دوره آزمایش) و ضریب تبدیل خوراک (دوره رشد) شد. همچنین جیره‌های حاوی آنزیم قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را در جیره‌های با سطوح پایین پروتئین افزایش داد و موجب افزایش درصد وزن سینه شد و بیشترین غلظت HDL خون مربوط به جیره با سطوح پایین پروتئین مکمل شده با آنزیم پروتئاز بود.

REFERENCES

- Acamovic, T. (2001). Commercial application of enzyme technology for poult production. *Worlds Poult. Sci. J.*, 57, 225-242. DOI: <https://doi.org/10.1079/WPS20010016>.
- Adeola, O., & Cowieson, A. J. (2011). Board-Invited Review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *J. Anim. Sci.*; 89: 3189–3218. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715>
- Ahmed, A., & Mustafa, M. (2020). Effect of supplemental serine-protease from *Bacillus licheniformis* on growth performance and physiological change of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*. 86-92.
- Applegate, T. J., & Angel, R. (2014). Nutrient requirements of poultry publications: History and need for an update. *J. Appl. Poult. Sci.*; 23: 567-575. <https://doi.org/10.3382/JAPR.2014-00980>
- Attia, Y. A., Bovera, F., Wang, J., Al-Harhi, M. A., & Kim, W. K. (2020). Multiple amino acid supplementations to low-protein diets: effect on performance, carcass yield, meat quality and nitrogen excretion of finishing broilers under hot climate conditions. *Animals*.; 10(6): 973. <https://doi.org/10.3390/ani10060973>
- Amer, S. A., Naser, M. A., Abdel-Wareth, A. A., Saleh, A. A., Elsayed, S. A., Abdel Fattah, D. M., & Metwally, A. E. (2020). Effect of dietary supplementation of alpha-galactosidase on the

- growth performance, ileal digestibility, intestinal morphology, and biochemical parameters in broiler chickens. *BMC Vet Res.* 16:1–13. [https://doi: 10.1186/s12917-020-02359-7](https://doi.org/10.1186/s12917-020-02359-7).
- Angel, C.R., Saylor, W., Viera, S.L., & Ward, N. (2011). Effects of a monocomponent protease on performance and protein utilization in 7- to 22-day-old broiler chickens. *Poult Sci.* 90:2281–2286. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.08.062>
- Bar, A., Rosenberg, J., & Hurwitz, S. (1982). Plasma and intestinal content of 1,25 d dihydroxy vitamin D₃ in calcium or phosphorus restricted birds. *Current Advances in Skeleton genesis*. In proceeding of 5th work shop on calcified Tissues: 197-200.
- Batal, A.B., & Prasons, C.M. (2002). Effects of Age on Nutrient Digestibility in Chicks fed Different Diets. *Poult. Sci.* 81,400-407. [https://doi: 10.1093/ps/81.3.400](https://doi.org/10.1093/ps/81.3.400)
- Cardinal, K.M., Moraes, M.L.d., Andretta, I., Schirmann, G.D., Belote, B.L., Barrios, M.A., Santin, E., & Ribeiro, A.M.L. (2019). Growth performance and intestinal health of broilers fed a standard or low-protein diet with the addition of a protease. *Rev Bras Zootecnia.* 48:e20180232. <https://doi.org/10.1590/rbz4820180232>
- Chambers, L.S., Black, J.L., Poronnik, P., & Johnson, P.R. (2001). Functional effects of protease-activated receptor-2 stimulation on human airway smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 281:L1369–78. [doi: 10.1152/ajplung.2001.281.6.L1369](https://doi.org/10.1152/ajplung.2001.281.6.L1369)
- Chen, L., Zhang, Y., Madl, R. L., & Vadlani, P. V. (2010). Nutritional enhancement of soybean meal and hull via enzymatic and microbial bioconversion. *Soybeans: Cultivation, Uses and Nutrition:* 471-486. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-01-13-0007-R>
- Choct, M. (2015). Feed non-starch polysaccharides for monogastric animals: Classification and function. *Anim. Prod. Sci.* 55,1360-1366. [https://doi:10.1071/AN15276](https://doi.org/10.1071/AN15276)
- Cowieson, A.J. (2010). Strategic selection of exogenous enzymes for corn/soy-based poultry diets. *Poult. Sci. J.* 47, 1-7. <https://doi.org/10.2141/jpsa.009045>
- Cowieson, A.J., Lu, H., Ajuwon, K.M., Knap, I., & Adeola, O. (2016). Interactive effects of dietary protein source and exogenous protease on growth performance, immune competence and jejuna health of broiler chickens. *Anim. Prod. Sci.* 57,252-261. <https://doi.org/10.1071/AN15523>
- Cowieson, A.J., Zaefarian, F., Knap, I., & Ravindran, V. (2017). Interactive effects of dietary protein concentration, a mono-component exogenous protease and ascorbic acid on broiler performance, nutritional status and gut health. *Anim. Prod. Sci.* 57:1058-1068. [https://doi: 10.1071/AN15740](https://doi.org/10.1071/AN15740)
- Dalólio, F.S., Albino, L.F.T., Rostagno, H.S., Silva, D.L.d., Xavier, Júnior, M.d.L., & Oliveira, V.D.d. (2016). Metabolizable energy and digestible amino acids of full-fat soybean without or with protease supplementation in diets for broilers. *Ciência e Agrotecnol.* 40(5):565–76. <https://doi.org/10.1590/1413-70542016405047915>
- Ding, X.M., Li, D.D., Li, Z.R., Wang, J.P., Zeng, Q.F., & Bai, S.P., et al. (2016). Effects of dietary crude protein levels and exogenous protease on performance, nutrient digestibility, trypsin activity and intestinal morphology in broilers. *Livest Sci.* 193:26–31.
- Erdaw, M.M., Wu, S., & Iji, P.A. (2017). Growth and physiological responses of broiler chickens to diets containing raw, full-fat soybean and supplemented with a high-impact microbial protease. *Asian-Australas J Anim Sci.* 30:1303–1313. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0714>
- Fang, L. L., Zulkifli, I., Soleimani, F.A., Juan, B.L., & Elmutaz, A. A. (2018). Effects of protease supplementation of low protein and/or energy diets on growth performance and blood parameters in broiler chickens under heat stress condition. *Italian Journal of animal science.* 679-689. <https://doi.org/10.1080/1828051X.20218.1557019>
- Fenton, T., & Fenton, M. (1979). An improved procedure for the determination of chromic oxide in

- feed and feces. *Can J AnimSci.*59(3):631 –4.
- Franciele,C.N.,Giacobbo,C.E.,Ricardo,V.N.,Cleison,S.,Levy,V.,Teixeira,R.P.,Jan,S.S.,&Cristiano, B. (2021).Influence of Enzyme Supplementation in the Diets of Broiler Chickens Formulated with Different Corn Hybrids Dried at Various Temperatures.*Animals.*11,643.[https:// doi: 10.3390/ani11030643](https://doi.org/10.3390/ani11030643).
- Freitas,D.M.,Vieira,S.L.,AngelC.R.,Favero,A., &Majorka,A. (2011).Performance and nutrient utilization of broilers fed diets supplemented with a novel mono-component protease.*J.Appl.Poult.Res.*20:322-334.[https://doi:10.3382/JAPR.2010-00295](https://doi.org/10.3382/JAPR.2010-00295)
- Friedwald.W.T.,Leve, R.I., & Fredrichson, D.S.(1972). Estimation of concentration of low density lipoproteins separated by three different methods. *Clinical chemistry*, 18:499-502.
- Fru.f.,Kluenter.A.M., Pontoppidan.K. & Fischer.M. (2011). A Feed Serine Protease Improves Broiler Performance and Increases Protein and Energy Digestibilit. *The Journal of poultry science.* 48(4):239. DOI:[10.2141/jpsa.011035](https://doi.org/10.2141/jpsa.011035)
- Gervais, N.,Da-Hye, K.,Chang,W.,Kang,K.,Rae,K.,Yong.,J. J.,Sang,R. L., &Kyung,W. L. (2019).Effect of low- Protein Diets and Exogenous Protease on Growth Performance,CarcassTraits,IntestinalMorphology,Cecal Volatile Fatty Acids and Serum Parameters in Broilers.*Animals.*9(5):226. [https://doi: 10.3390/ani9050226](https://doi.org/10.3390/ani9050226).
- Hajati, H., Rezaei, M.,& Sayyahzadeh, H. (2009). The effects of enzyme supplementation on performance, carcass characteristics and some blood parameters of broilers fed on corn-soybean meal-wheat diets *.Int J Poult Sci.* 8(12):1199–1205.[https://doi: 10.3923/ijps.2009.1199.1205](https://doi.org/10.3923/ijps.2009.1199.1205)
- Isaksen, M.F., Cowieson, A.J., &Kragh, K.M. (2010). Starch- and protein-degrading enzymes: Biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. In: Bedford M.R., Partridge G.G., editors. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2nd ed. CAB International;Oxfordshire, UK. pp. 85–95.
- Jin,S.H.,Corless,A., &Sell,S.L. (1998).Digestive system development in post-hatch poultry.*WorldsPoult.Sci.J.*54,335-345. <https://doi.org/10.1079/WPS19980023>
- Kaczmarek,S.A.,Cowieson,J.,Jozefiak,D., &Rutkowski,A. (2013). Effect of maize endosperm hardness,drying temperature and microbial enzyme supplementation on the performance of broiler chickens. *Anim.Prod.Sci.* 54,956-965.
- Kaczmarek, S., Rogiewicz, A.,Mogielnicka,M., Rutkowski, A., Jones, R.,&Slominski, B. (2014). The effect of protease, amylase, and nonstarch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets. *PoultSci.*93(7):1745–53. [https://doi: 10.3382/ps.2013-03739](https://doi.org/10.3382/ps.2013-03739)
- Kamran, Z., Mirza, M.A.,& Mahmood, S. (2004). Effect of decreasing dietary protein levels with optimum amino acids profile on the performance of broilers. *Pak Vet J.Citeseer*;2004.
- Kamran, Z., Sarwar , M., Un-Nisa ,M ., Nadeem, M.A., & Mahmood ,S. (2010). Effect of low levels of dietary crude protein with constant metabolizable energy on nitrogen excretion, litter composition and blood parameters of broilers.*Int. J. Agric. Biol.*, 12 . 401-405.
- Kocher, A., Choct, M., Ross,G., Broz, J., &Chung, T.k. (2003). Effects of enzyme combinations on apparent metabolizable energy of corn-soybean meal based diets in broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 12,275-283. <https://hdl.handle.net/1959.11/11112>
- Kumar, R., Ari,T.R.K.,Kumari,A.,Shahi,B., Singh,K.M., &Saha,S.K. (2019).Effect of Supplementation of Non-Strach Polysaccharide cocktail Enzyme on performance in Broiler.*JAS*,6,95-100.

- Leeson, S. & Summers, J. D. (1997). *Commercial poultry nutrition. 2nd edition Ontario, Canada, University books*. Pp. 324 – 340.
- Lemme, A., Ravindran, V., & Bryden, W.L. (2004). Ileal digestibility of amino acids in feed ingredients for broilers. *Worlds Poult. Sci. J.* 60:423-437. [https://doi: 10.1079/WPS200426](https://doi.org/10.1079/WPS200426).
- Li, Z., Li, J., Liu, X.L., Liu, D.D., Li, H., Li, Z.J., Han, R.L., Wang, Y.B., Liu, X.J., Kang, X.J., & Kang, X.T. (2019). Effects of different starch sources on glucose and fat metabolism in broiler chickens. *Poult. Sci.* 98, 5571-5581. <https://doi.org/10.1080/00071668.2019.1605150>
- Lourenco, J.M., Nunn, S.C., Lee, E., Dove, C.R., Callaway, T.R., & Azain, M.J. (2020). Effect of supplemental protease on growth performance and excreta microbiome of broiler chicks. *Microorganisms*. 8(4):475. [https://doi: 10.3390/microorganisms8040475](https://doi.org/10.3390/microorganisms8040475).
- Mahmood, T., Mirza, M.A., Nawaz, H., Shahid, M., Athar, M., & Hussain, M. (2017). Effect of supplementing exogenous protease in low protein poultry by-product meal based diets on growth performance and nutrient digestibility in broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 228:23-31. [https://doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.01.012](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.012)
- Mahmood, T., Mirza, M., Nawaz, H., & Shahid, M. (2018). Exogenous protease supplementation of poultry by-product meal-based diets for broilers: effects on growth, carcass characteristics and nutrient digestibility. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 102(1):e233–41. [https://doi: 10.1111/jpn.12734](https://doi.org/10.1111/jpn.12734)
- Marsman, G.J., Gruppen, H., Van, A.F., Kwakkel, R.P., Verstegen, M.W., & Voragen, A.G. (1997). The effect of thermal processing and enzyme treatments of soybean meal on growth performance, ileal nutrient digestibilities, and chyme characteristics in broiler chicks. *Poult. Sci.* 76:864-872. [https://doi: 10.1093/ps/76.6.864](https://doi.org/10.1093/ps/76.6.864)
- Masey, O., Neill, H.V., Lui, N., Wang, J.P., Diallo, A., & Hill, S. (2012). Effect of xylanase on performance and apparent metabolizable energy in starter broilers fed diets containing maize variety harvested in different regions of China. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 25, 515-523. [doi: 10.5713/ajas.2011.11314](https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11314)
- Middendorf, L., Radko, D., Dünghoef, K., Sieverding, E., & Windhaus, H. (2019). Amino acid pattern in the liver and blood of fattening turkeys suffering from hepatic lipidosis. *Poult. Sci.* 98:3950–3962. [https://doi: 10.3382/ps/pez131](https://doi.org/10.3382/ps/pez131)
- National Research Council. Nutrient Requirements of poultry. 9th ed. *National Academy Press*; Washington DC, USA: 1994.
- Ndazigaruye, G., Kim, D.H., Kang, C.W., Kang, K.R., Joo, Y.J., Lee, S.R., & Lee, K.W. (2019). Effects of low-protein diets and exogenous protease on growth performance, carcass traits, intestinal morphology, cecal volatile fatty acids and serum parameters in broilers. *Animals*. 9(5):226. [https://doi: 10.3390/ani9050226](https://doi.org/10.3390/ani9050226)
- Nir, I., Nitsan, Z., & Mahagna, M. (1993). Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching. *Br. Poult. Sci.* 34:523-532. [https://doi: 10.1080/00071669308417607](https://doi.org/10.1080/00071669308417607)
- Noy, Y., & Sklan, D. (1995). Digestion and Absorption in the Young Chick. *Poult. Sci.* 74:366–373. [https://doi: 10.3382/ps.0740366](https://doi.org/10.3382/ps.0740366)
- NRC. Nutrient Requirements of Poultry, 9th ed.; The National Academies Press; Washington, DC, USA, 1994.
- Rawlings, N.D. (2013). Protease Families, Evolution, and Mechanism of Action. In: Brix K., Stocker W., editors. *Proteases: Structure and Function*. Springer; Heidelberg, Germany. pp. 1–36. DOI: 10.1007/978-3-7091-0885-7_1
- Saleh, A.A., Kirrella, A.A., Dawood, M.A.O., & Ebeid, T.A. (2019b). Effect of dietary inclusion of cumin seed oil on the performance, egg quality, immune response and ovarian development in laying hens under high ambient temperature. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 103(6):1810-1817. [https://doi: 10.1111/jpn.13206](https://doi.org/10.1111/jpn.13206).
- SAS. (2002). Statistical Analysis Systems. Software, V.9, SAS Institute, Cary, NC.

- Selle, P.H., Truong, H.H., McQuade, L.R., Moss, A.F., & Liu, S.Y. (2016). Reducing agent and exogenous protease additions, individually and in combination, to wheat-and sorghum-based diets interactively influence parameters of nutrient utilization and digestive dynamics in broiler chickens. *AnimNutr.* 2(4):303–11. [https://doi: 10.1016/j.aninu.2016.08.001](https://doi.org/10.1016/j.aninu.2016.08.001)
- Shimaa, A., Amer, R. R., Beheiry, D. M., Abdel, F., Elshimaa, M., Roushdy, F. A. M., Hassan, T.A. I., Noha, M. A., Zaitoun, A.M. A., Abo-Elmaaty & Abdallah E. M. (2021). Effects of different feeding regimens with protease supplementation on growth, amino acid digestibility, economic efficiency, blood biochemical parameters, and intestinal histology in broiler chickens. *BMC Veterinary Research.* 17:283:5-16. [https://doi: 10.1186/s12917-021-02946-2](https://doi.org/10.1186/s12917-021-02946-2)
- Siegert, W., Zuber, T., Sommerfeld, V., Krieg, J., Feuerstein, D., Kurrle, U., & Rodehutschord, M. (2019). Prececal amino acid digestibility and phytate degradation in broiler chickens when using different oilseed meals, phytase and protease supplements in the feed. *Poult Sci.* 98(11):5700–13. [https://doi: 10.3382/ps/pez355](https://doi.org/10.3382/ps/pez355)
- Song, Y.S., Frias, J., Martinez Villaluenga, C., Vidal, V.C., & de Me jia, E.G. (2008). Immunoreactivity reduction of soybean meal by fermentation, effect on amino acid composition and antigenicity of commercial soy products. *Food chem.* 108:571-581. [https://doi: 10.1016/j.foodchem.2007.11.013](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.013)
- Song, Y.S., Perez, V.G., Pettigrew, J.E., Martinez Villaluenga, C., & de Me jia, E.G. (2010). Fermentation of soybean meal and its inclusion in diets for newly weaned pigs reduced diarrhea and measures of immunoreactivity in the plasma. *Animal Feed Science and Technology*, 159(1):41-49. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.04.011>
- Sonu, Zile.Singh.Sihag., Parveen, Kumar.Ahlat., & Rajesh, Dalal. (2018). Effect of Protease Enzyme on the Growth Performance and Carcass Traits of Broilers Fed with DDGS Supplemented Diet. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 7(5): 2713-2719. [https://doi: https://doi.org/10.20546/ijemas.2018.705.314](https://doi.org/10.20546/ijemas.2018.705.314)
- Swatson, H.K., Gous, R., Iji, P.A., & Zarrinkalam, R. (2002). Effect of dietary protein level, amino acid balance and feeding level on growth, gastrointestinal tract, and mucosal structure of the small intestine in broiler chickens. *Anim Res.* 51(6):501–15. [https://doi:10.1051/animres:2002038](https://doi.org/10.1051/animres:2002038)
- Swennen, Q., Janssens, G.P.J., Collin, A., Le, Bihan, Duval, E., Verbeke, K., Decuyper, E., & Buyse, J. (2006). Diet-induced thermogenesis and glucose oxidation in broiler chickens: influence of genotype and diet composition. *Poult Sci.* 85:731–742. [https://doi: 10.1093/ps/85.4.731](https://doi.org/10.1093/ps/85.4.731)
- Tactacan, G.B., Cho, S.Y., Cho, J.H., & Kim, I.H. (2016). Performance responses, nutrient digestibility, blood characteristics, and measures of gastrointestinal health in weanling pigs fed protease enzyme. *Asian Austral J Anim.* 29(7):998. [https://doi: 10.5713/ajas.15.0886](https://doi.org/10.5713/ajas.15.0886)
- Toghyani, M., Wu, S., Pérez.Maldonado, R., Iji, P., & Swick, R.A. (2017). Performance, nutrient utilization, and energy partitioning in broiler chickens offered high canola meal diets supplemented with multicomponent carbohydrase and monocomponent protease. *Poult Sci.* 96(11):3960–72. [https://doi: 10.3382/ps/pex212](https://doi.org/10.3382/ps/pex212)
- Woyengo, T., Beltranena, E., & Zijlstra, R. (2014). Nonruminant nutrition symposium: controlling feed cost by including alternative ingredients into pig diets: a review. *J Anim Sci.* 92(4):1293–305. [https://doi: 10.2527/jas.2013-7169](https://doi.org/10.2527/jas.2013-7169)
- Xu, X., Wang, H.L., Pan, L., Ma, X.K., Tian, Q.Y., Xu, Y.T., Long, S.F., Zhang, Z.H., & Piao, X.S. (2017). Effects of coated proteases on the performance, nutrient retention, gut morphology and carcass traits of broilers fed corn or sorghum based diets supplemented with soybean meal. *Anim. Feed Sci. Technol.* 223, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.10.015>
- Yang, Z., & Liao, S.F. (2019). Physiological effects of dietary amino acids on gut health and functions

of swine. *Front Vet Sci.* 6:169.<https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00169>
Yuan, L., Wang, M., Zhang, X., & Wang, Z. (2017). Effects of protease and non-starch polysaccharide enzyme on performance, digestive function, activity and gene expression of endogenous enzyme of broilers. *PLoS ONE.* 12:e0173941.<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173941>