



Effects of Phytase and Vitamin-Mineral Premix on Performance, Egg Quality, Metabolic Profile, and Nutrient Digestibility in Laying Hens Fed Diets With Different Energy and Nutrient Levels

Hossein Ali Ghasemi^{1✉}, Mohammad Azizollahi^{2✉}, Hamidreza Ghalamkari^{3✉}, Abbas Sanei^{3✉}

¹ Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environment, Arak University, Arak, Iran

² Graduated from the Faculty of Agriculture and Environment, Arak University, Arak, Iran

³ Sepahan Daneh Parsian Company, Isfahan, Iran

Received: 27Apr 2026, Reciver in revised from: 29 Jun 2026, Accepted: 29 Jun 2026, Available online: 22 Sep 2026

doi: 10.22059/jvr.2025.400978.3537

J Vet Res, Volume 81, Number 3, 2026, 149-163

Abstract

BACKGROUND: Reducing the concentration of energy and nutrients in laying hen diets, as a cost-saving strategy, can impair productive performance, eggshell quality, and physiological status. The use of feed additives, such as the phytase enzyme and a vitamin–mineral premix (VMP), has been proposed as a nutritional approach to compensate for these reductions.

OBJECTIVES: This study evaluated the effects of phytase (PHYTA GOLD) and VMP supplementation (SuperShell) in diets containing standard or reduced nutrient levels in laying hens.

METHODS: A total of 320 Lohmann LSL lite laying hens (54–66 weeks of age) were allocated to a completely randomized 2×4 factorial experiment with 8 replicates of 5 birds each. Experimental treatments included 2 nutrient levels (recommended level; SND, and low-nutrient diet; LND) and 4 supplementation regimens: (1) no supplement, (2) phytase, (3) VMP, and (4) phytase + VMP. Compared to the SND, the LND was formulated having 50 kcal/kg less metabolizable energy, 1% less crude protein, and 0.1% less of each available phosphorus and calcium.

RESULTS: A significant interaction between nutrient level and supplement type was observed for egg mass, feed conversion ratio, and the proportion of abnormal eggs ($P<0.05$). Dietary supplementation, particularly the combination of phytase and VMP in the LND, had greater effects than in the SND. Reducing nutrient intake in LND decreased yolk weight index, serum triglyceride and phosphorus concentrations, while increasing serum glucose and alkaline phosphatase activity ($P<0.05$). Phytase improved Haugh unit, energy digestibility, and nitrogen-corrected apparent metabolizable energy (AMEn), and reduced alkaline phosphatase activity, whereas VMP increased eggshell weight and thickness ($P<0.05$). The combined use of phytase and VMP improved eggshell breaking strength and crude protein digestibility ($P<0.05$).

CONCLUSIONS: The results indicated that phytase and VMP exert a synergistic effect on improving productive performance, eggshell quality, and nutrient digestibility, particularly in low-nutrient diets, and can be recommended as an effective strategy in laying hen nutrition management.

Keywords: Laying hens, Performance, Physiological responses, Phytase, Vitamin–mineral premix

Copyright © The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Hossein Ali Ghasemi, Tel/Fax: +9886-3277005 / +9886-32623620



How to cite this article:

Ghasemi HA, Azizollahi M, Ghalamkari H, Sanei A. Effects of phytase and vitamin-mineral premix on performance, egg quality, metabolic profile, and nutrient digestibility in laying hens fed diets with different energy and nutrient levels. Journal of Veterinary Research. 2026;81(3):149-163 (In Persian). doi: 10.22059/jvr.2025.400978.3537

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Feed ingredients and composition of experimental diets during different experimental periods.

Table 2. Effect of experimental treatments on productive performance of laying hens from 54 to 66 weeks of age. Means within the same column not sharing a common letter are significantly different ($P<0.05$).

Table 3. Effect of experimental treatments on egg quality traits in 66-week-old laying hens. Means within the same column not sharing a common letter are significantly different ($P<0.05$).

Table 4. Effect of experimental treatments on serum metabolites, electrolytes, and enzyme activities in 66-week-old laying hens. Means within the same column not sharing a common letter are significantly different ($P<0.05$).

Table 5. Effect of experimental treatments on nutrient digestibility and nitrogen-corrected apparent metabolizable energy (AMEn) in 66-week-old laying hens. Means within the same column not sharing a common letter are significantly different ($P<0.05$).



اثر فیتاز و مکمل ویتامین - مینرال بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ، پروفایل متابولیکی و قابلیت هضم مواد مغذی در مرغ های تخم گذار تغذیه شده با جیره های دارای سطوح مختلف انرژی و مواد مغذی

حسینعلی قاسمی^۱، محمد عزیزاللهی^۲، حمیدرضا قلمکاری^۳، عباس صانعی^۳

^۱ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران

^۲ دانش آموخته دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران

^۳ شرکت سپاهان دانه پارسین، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۷ اردیبهشت ۱۴۰۵، تاریخ بازنگری: ۸ تیر ۱۴۰۵، تاریخ پذیرش: ۱۴ تیر ۱۴۰۵، تاریخ انتشار: ۳۱ شهریور ۱۴۰۵

doi: 10.22059/jvr.2025.400978.3537

دوره ۸۱، شماره ۳، ۱۴۰۵، ۱۶۳-۱۴۹

چکیده

زمینه مطالعه: کاهش غلظت انرژی و مواد مغذی در جیره مرغ های تخم گذار، هرچند روشی برای کاهش هزینه خوراک است، اما می تواند عملکرد تولیدی، کیفیت پوسته و وضعیت فیزیولوژیکی پرنده را تضعیف کند. استفاده از مکمل هایی نظیر آنزیم فیتاز و پیش مخلوط ویتامین - مینرال (VMP) به عنوان راهکاری برای جبران این کاهش مطرح شده است.

هدف: در مطالعه حاضر اثرات مکمل فیتاز (فیتاگلد) و مکمل VMP (سوپرشل) در دو جیره حاوی سطوح استاندارد یا سطوح کاهش یافته مواد مغذی در مرغ های تخم گذار مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در مطالعه حاضر ۳۲۰ مرغ تخم گذار سویه لوهمن LSL سبک (۵۴ تا ۶۶ هفتگی) در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت فاکتوریل ۲×۴ با ۸ تکرار و ۵ پرنده در هر تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح مواد مغذی [(سطح توصیه شده (جیره SND) و سطح کم مواد مغذی (جیره LND)] و ۴ تیمار مکملی (۱. فاقد مکمل، ۲. حاوی مکمل فیتاز، ۳. حاوی مکمل VMP، ۴. حاوی فیتاز و VMP) بود. جیره LND نسبت به SND دارای ۵۰ کیلوکالری انرژی متابولیسمی کمتر، یک واحد پروتئین خام کمتر و ۰/۱ درصد فسفر قابل دسترس و کلسیم کمتر بود.

نتایج: اثر برهم کنش سطح مواد مغذی و نوع مکمل بر وزن توده ای تخم مرغ، ضریب تبدیل غذایی و درصد تخم مرغ های ناهنجار معنی دار بود ($P < 0/05$)، به طوری که مکمل های غذایی به ویژه ترکیب فیتاز و VMP در جیره LND اثر بیشتری نسبت به SND داشت. کاهش مواد مغذی در LND به کاهش شاخص وزن زرده، غلظت تری گلیسرید و فسفر سرم و در عوض افزایش گلوکز و فعالیت آلکالین فسفاتاز منجر شد ($P < 0/05$). فیتاز باعث بهبود شاخص ها و تخم مرغ، قابلیت هضم انرژی و میزان انرژی متابولیسمی تصحیح شده براساس ذخیره نیتروژن (AMEn) و کاهش فعالیت آلکالین فسفاتاز شد، درحالی که مکمل VMP وزن و ضخامت پوسته را افزایش داد ($P < 0/05$). استفاده هم زمان فیتاز و VMP موجب بهبود مقاومت به شکستگی پوسته و قابلیت هضم پروتئین خام شد ($P < 0/05$).

نتیجه گیری نهایی: ترکیب فیتاز و VMP دارای اثر هم افزایی در بهبود عملکرد تولیدی، کیفیت پوسته و قابلیت هضم مواد مغذی، به ویژه در جیره های با غلظت کمتر مواد مغذی بوده و می تواند به عنوان روشی مؤثر در مدیریت تغذیه مرغ های تخم گذار توصیه شود.

کلمات کلیدی: پاسخ های فیزیولوژیکی، عملکرد، فیتاز، مرغ های تخم گذار، مکمل ویتامین - مینرال

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

کپی رایت © نویسندگان.



نویسنده مسئول: حسینعلی قاسمی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران

مقدمه

استفاده از جیره های با انرژی قابل متابولیسم (ME) و مواد مغذی کاهش یافته، به ویژه پروتئین و اسیدهای آمینه، به عنوان رویکردی برای کاهش هزینه های خوراک و کاهش فشارهای زیست محیطی، مورد توجه محققین و صنعت طیور قرار گرفته است (۱). با این حال مطالعات متعددی گزارش کرده اند کاهش ME و مواد مغذی فراتر از یک حد مشخص می تواند بر مصرف خوراک، نرخ تولید و کیفیت محصول اثرات منفی برجای گذارد (۲، ۳). افزودن آنزیم های برون زادی به جیره به عنوان رویکردی کارآمد و کم هزینه برای بهبود بهره برداری از

مواد مغذی شناخته شده است. یکی از محدودیت‌های تغذیه‌ای مهم در طیور، ناتوانی گونه‌ها در هیدرولیز فیتات به دلیل فقدان آنزیم فیتاز درون‌زا است که موجب می‌شود فسفر متصل به فیتات در جیره‌های مبتنی بر ذرت و سویا قابل استفاده نباشد (۴، ۵). هرچند مقدار فیتات جیره ممکن است همیشه محدودکننده نباشد، اما ترکیبات فیتات می‌توانند به اتصال به انواع مواد مغذی، دسترسی زیستی آن‌ها را کاهش دهند (۶، ۷). مطالعات متعدد نشان داده‌اند مکمل‌سازی فیتاز می‌تواند بهبود قابل توجهی در قابلیت دسترسی فسفر، کلسیم و پروتئین ایجاد کند و در نهایت شاخص‌های تولیدی و معدنی شدن استخوان را ارتقا دهد (۸-۱۱). همچنین محققین (۱۲) گزارش کرده‌اند افزودن فیتاز در جیره‌های مبتنی بر ذرت می‌تواند قابلیت هضم نشاسته و استفاده از انرژی را از طریق بهبود هضم کربوهیدرات‌های غیرنشاسته‌ای افزایش دهد.

کیفیت پوسته تخم‌مرغ از نظر اقتصادی، بهداشتی و پذیرش مصرف‌کننده اهمیت بالایی دارد. افت کیفیت پوسته با افزایش سن مرغ‌ها شایع‌تر شده و به بروز ترک‌های مویی، نازکی، شکنندگی و عیوب ظاهری منجر می‌شود که ریسک نفوذ عوامل بیماری‌زا و خسارات اقتصادی را افزایش می‌دهد (۱۳). پوسته تخم‌مرغ یک ساختار بیوسرامیکی منظم است که حاصل برهم‌کنش کنترل‌شده اجزای معدنی و آلی بوده و وظایف کلیدی، مانند محافظت جنین، تنظیم تبادل گاز و رطوبت و تأمین کلسیم برای رشد جنین را برعهده دارد. گزارش شده است مدیریت تغذیه از مهم‌ترین ابزارها برای پیشگیری از عیوب مکانیکی و ساختاری پوسته است (۱۴). علاوه بر آنزیم‌ها، کیفیت و منبع ریزمغذی‌ها، به‌ویژه مواد معدنی و ویتامین‌ها نقش اساسی در تشکیل پوسته و استحکام آن دارند. همچنین گزارش شده است جایگزینی یا تقویت پیش‌مخلوط‌های مواد معدنی با منابع آلی یا کلاته، با بهبود زیست‌فراهمی عناصر کم‌نیاز مانند روی، منگنز، مس و آهن، می‌تواند ضخامت و استحکام پوسته را افزایش دهد و تعداد تخم‌های ترک‌دار را به‌ویژه در مرغ‌های مسن کاهش دهد (۱۵). استفاده از منابع آلی مینرال‌ها (کلات اسیدهای آمینه یا پروتئینات) به جای نمک‌های غیرآلی، علاوه بر بهبود کیفیت داخلی و خارجی تخم‌مرغ، دفع محیطی مواد معدنی را کاهش می‌دهد (۱۶). در زمینه ویتامین‌ها، اثرات تعاملی ویتامین‌های محلول در چربی A و K₃ در مرغ‌های تخم‌گذار مسن بررسی و مشخص شد مقادیر کافی این ویتامین‌ها موجب بهبود استحکام پوسته، رنگ زرده و وضعیت آنتی‌اکسیدانی غده پوسته می‌شود. درحالی‌که کمبود یا مصرف بیش از حد آن‌ها مزیتی ندارد (۱۷). ازسوی دیگر، مصرف سطوح بالاتر از نیاز ویتامین D₃ بهبود معنی‌داری در کیفیت پوسته ایجاد نکرده است که بر ضرورت تنظیم دقیق سطوح ریزمغذی‌ها و پرهیز از افراط و تفریط تأکید دارند (۱۸).

با وجود مطالعات متعدد درباره اثرات جداگانه فیتاز یا پیش‌مخلوط‌های انواع ویتامین‌ها و مواد معدنی بر عملکرد تولیدی، قابلیت هضم مواد مغذی و کیفیت پوسته، مطالعات اندکی به بررسی اثرات هم‌افزایی این مکمل‌ها در شرایط جیره‌های با تراکم کمتر مواد مغذی پرداخته‌اند. براین اساس این فرض مطرح می‌شود که در جیره‌های با سطح مواد مغذی استاندارد یا کاهش‌یافته، استفاده هم‌زمان از فیتاز و پیش‌مخلوط ویتامین - مینرال، می‌تواند از طریق افزایش زیست‌فراهمی فسفر و کلسیم، بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی غده پوسته و ارتقای جذب عناصر کم‌نیاز، افت عملکردی و کیفی ناشی از کاهش مواد مغذی را جبران کند، به‌ویژه در جیره‌های با غلظت کمتر مواد مغذی که خطر بروز عیوب پوسته بالاتر است؛ بنابراین اهداف مطالعه حاضر عبارت بودند از: بررسی اثرات جداگانه و ترکیبی فیتاز و پیش‌مخلوط ویتامین - مینرال بر عملکرد تولیدی، کیفیت پوسته تخم‌مرغ، پروفایل متابولیکی و قابلیت هضم مواد مغذی در مرغ‌های تخم‌گذار در دوره پایانی تولید.

مواد و روش کار

پرنده‌ها، جیره‌های آزمایشی و مدیریت پرورش: در مطالعه حاضر از ۳۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه لوهمن LSL سبک (سن بین ۵۴ تا ۶۶ هفتگی) و از آزمایش فاکتوریل ۲×۴ در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح مواد مغذی (سطح توصیه‌شده و سطح کم مواد مغذی) و چهار تیمار مکملی (۱. فاقد مکمل، ۲. حاوی مکمل فیتاز، ۳. حاوی مکمل تقویت پوسته، ۴. حاوی هر دو مکمل فیتاز و مکمل تقویت پوسته) بودند. هر تیمار شامل ۸ تکرار و هر تکرار شامل ۵ قطعه مرغ بود. جیره با مواد مغذی کم، شامل ۵۰ کیلوکالری در کیلوگرم کاهش در انرژی متابولیسمی، ۰/۱ واحد درصد کاهش در پروتئین خام (با بازتنظیم متناسب متیونین + سیستئین، لیزین و ترئونین براساس مقادیر قابل هضم) و ۰/۱ واحد درصد کاهش برای هر فسفر قابل دسترس و کلسیم بود؛ این سطوح مطابق با ماتریکس‌های اعتباری گزارش‌شده برای فیتاز در دُر ۵۰۰ واحد در کیلوگرم جیره غذایی و راهنمای فرمولاسیون تجاری مرغ‌های تخم‌گذار تعیین شد (۱۹، ۲۰). یک نمونه از هر ماده خوراکی برای تعیین ترکیب مواد مغذی براساس روش AOAC در سال ۲۰۰۶ (۲۱) مورد آنالیز قرار گرفت. اجزای خوراکی و ترکیب مواد مغذی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده است.

مطالعه حاضر در سالن مرغداری صنعتی شرکت تعاونی مرغداری نوک طلای قم انجام شد. برای کنترل دقیق مصرف خوراک، تیمارها در انتهای سالن استقرار یافتند و خط دان‌خوری اتوماتیک در آن بخش از مدار مسدود شد و خوراک مصرفی و باقیمانده خوراک هر تکرار به‌طور منظم ثبت شد. در طول دوره مطالعه، برنامه نوری سالن براساس توصیه‌های سویه، برابر با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در شبانه‌روز تنظیم شد. برنامه دمایی سالن به‌گونه‌ای تنظیم شد که دما در محدوده آسایش حرارتی برای مرغ‌های تخم‌گذار (۲۲ تا ۲۴ درجه سلسیوس) حفظ شود. پرنده‌ها به آب آشامیدنی سالم و تازه به‌صورت آزاد دسترسی داشتند و جیره‌های آزمایشی نیز به‌صورت آردی تازه تهیه‌شده، به‌طور آزاد در اختیار پرنده‌ها قرار گرفت. ترکیب مواد مغذی جیره‌ها براساس دستورالعمل سویه لوهمن LSL سبک تعیین و با کاهش مواد مغذی در جیره LND، نسبت مواد مغذی کلیدی براساس سطوح هدف تنظیم شد (جدول ۱).

آنزیم فیتاز مورد استفاده در مطالعه حاضر با نام تجاری فیتاگلد (PHYTA GOLD) بود که به‌عنوان نسل جدیدی از آنزیم‌های فیتاز (با منشأ قارچی و باکتریایی) شناخته می‌شوند که با کمک فناوری مهندسی آنزیم و DNA نو ترکیب حاصل شده است. نوع مکمل فیتاز استفاده‌شده از نوع فیتاز ۵۰۰۰ بود که به میزان ۱۰۰ گرم در تن در خوراک، برای تأمین ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز در هر کیلوگرم جیره غذایی استفاده شد. مکمل پیش‌مخلوط ویتامین - مینرال مورد استفاده در این مطالعه با نام تجاری سوپرشل (SuperShell) به میزان ۲ گرم در کیلوگرم خوراک مورد استفاده قرار گرفت. مکمل مورد استفاده دارای ۲۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۵۵۰ میلی‌گرم منادیون (ویتامین K₃)، ۲۲ درصد کلسیم، ۱۵ درصد فسفر قابل‌دسترس، ۷۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۷۵۰۰ میلی‌گرم روی، ۵۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰ میلی‌گرم سلنیوم بود. منابع مورد استفاده عناصر کم‌نیاز از نوع آلی و کلات اسیدهای آمینه این عناصر می‌باشد.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب جیره‌های آزمایشی.

اجزای جیره (گرم در کیلوگرم)	جیره استاندارد	جیره با غلظت کم مواد مغذی
ذرت	۵۹۰/۴	۵۹۳/۸
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین خام)	۲۴۱/۷	۲۳۶/۱
روغن سویا	۱۰/۱	۵/۰
سبوس گندم	-	۴۲/۵
پودر صدف	۵۰/۰	۵۰/۰
کربنات کلسیم	۵۲/۵	۵۳/۴
دی کلسیم فسفات	۱۴/۷	۸/۵
نمک	۲/۲	۱/۹
جوش شیرین	۰/۸	۱/۲
مکمل ویتامین - مواد معدنی ^۱	۵/۰	۰/۵
دی‌ال متیونین	۱/۸	۱/۶
ال لایزین، هیدروکلرید	۰/۵	۰/۷
ال ترئونین	۳/۰	۳/۰
ترکیب محاسبه‌شده		
انرژی قابل‌متابولیسم (کیلوکالری / کیلوگرم)	۲۷۰۰	۲۶۵۰
پروتئین خام (درصد)	۰/۱۷	۰/۱۶
کلسیم (درصد)	۳/۴	۲/۴
فسفر قابل‌دسترس (درصد)	۳۸/۰	۲۸/۰
متیونین + سیستئین قابل‌هضم (درصد)	۶۷/۰	۶۳/۰
لیزین قابل‌هضم (درصد)	۷۵/۰	۷۱/۰
ترئونین قابل‌هضم (درصد)	۵۲/۰	۴۹/۰
سدیم (درصد)	۱۶/۰	۱۶/۰
تعادل الکترولیتی جیره ^۲ (میلی‌اکی‌والان/کیلوگرم)	۲۳۰	۲۳۰

^۱ به ازای هر کیلوگرم جیره: ریتینول استات، ۸۸۰۰ واحد بین‌المللی؛ کوله‌کلسیفرول، ۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ α-توکوفرول استات، ۶/۶ میلی‌گرم؛ منادیون سدیم بی‌سولفیت، ۲/۵ میلی‌گرم؛ تیامین مونو نیترات، ۱/۵ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۴/۴ میلی‌گرم؛ اسید نیکوتینیک، ۲۰ میلی‌گرم؛ کلسیم D-پانتوتنات، ۸ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۲/۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۱/۱ میلی‌گرم؛ سیانو کوبالامین، ۰/۰۸ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ کلرید کولین، ۴۰۰ میلی‌گرم؛ منگنز (از سولفات منگنز)، ۶۰ میلی‌گرم؛ آهن (از سولفات آهن)، ۳۰ میلی‌گرم؛ روی (از سولفات روی)، ۶۶ میلی‌گرم؛ مس (از سولفات مس)، ۶ میلی‌گرم؛ ید (از یدات پتاسیم)، ۰/۸ میلی‌گرم؛ سلنیوم (از سدیم سلنیت)، ۰/۲ میلی‌گرم. ^۲ تعادل الکترولیتی جیره $DEB = (Na^+ + K^+) - Cl^-$

جدول ۲. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار در سن ۵۴ تا ۶۶ هفته‌گی.

جیره ^۱	مکمل ^۲	تولید	خوراک مصرفی	وزن تخم‌مرغ	وزن توده‌ای تخم‌مرغ	ضریب تبدیل خوراک	درصد تخم‌مرغ‌های غیرنرمال
گرم/مرغ/روز	گرم	گرم/مرغ/روز	گرم/مرغ/روز	گرم/مرغ/روز	گرم/مرغ/روز	گرم/مرغ/روز	گرم/مرغ/روز
SND	+	۸۸/۳۴	۱۱۳/۴	۶۲/۵۸	۵۵/۲۸ ^{bc}	۲/۰۵ ^{cd}	۳/۷۹
SND	+Phy	۸۹/۷۲	۱۱۳/۱	۶۲/۵۶	۵۷/۰۳ ^a	۱/۹۸ ^d	۲/۳۶
SND	+VMP	۸۸/۰۷	۱۱۳/۸	۶۳/۰۹	۵۵/۵۶ ^{abc}	۲/۰۵ ^{cd}	۲/۸۸
SND	+Phy+VMP	۸۹/۸۸	۱۱۴/۰	۶۲/۸۸	۵۶/۵۲ ^{ab}	۲/۰۳ ^{cd}	۱/۵۵
LND	+	۸۴/۴۷	۱۱۶/۱	۶۱/۶۵	۵۲/۰۸ ^d	۲/۲۳ ^a	۷/۳۴
LND	+Phy	۸۷/۱۸	۱۱۵/۹	۶۲/۴۰	۵۴/۴۰ ^c	۲/۱۳ ^b	۴/۵۲
LND	+VMP	۸۶/۴۱	۱۱۵/۵	۶۲/۵۸	۵۴/۰۸ ^c	۲/۱۴ ^b	۴/۷۸
LND	+Phy+VMP	۸۸/۳۲	۱۱۵/۶	۶۲/۸۲	۵۵/۴۸ ^{abc}	۲/۰۸ ^{bc}	۳/۹۲
SEM		۰/۵۲۳	۰/۵۳۵	۰/۲۱۵	۰/۳۶۹	۰/۰۱۵	۰/۴۸۳
اثرات اصلی							
جیره							
SND		۸۹/۰۰ ^a	۱۱۳/۶ ^b	۶۳/۰۳ ^a	۵۶/۱۰ ^a	۲/۰۳ ^b	۲/۶۴ ^b
LND		۸۶/۶۰ ^b	۱۱۵/۸ ^a	۶۲/۳۶ ^b	۵۴/۰۱ ^b	۲/۱۵ ^a	۵/۱۴ ^a
SEM		۰/۲۶۱	۰/۲۶۷	۰/۱۰۸	۰/۱۸۴	۰/۰۰۸	۰/۲۴۲
مکمل							
+		۸۶/۴۰ ^c	۱۱۴/۸	۶۲/۱۲ ^b	۵۳/۶۸ ^c	۲/۱۴ ^a	۵/۵۶ ^a
+Phy		۸۸/۴۵ ^{ab}	۱۱۴/۵	۶۲/۹۸ ^a	۵۵/۷۱ ^{ab}	۲/۰۶ ^b	۳/۴۴ ^b
+VMP		۸۷/۲۴ ^{bc}	۱۱۴/۶	۶۲/۸۴ ^a	۵۴/۸۲ ^b	۲/۰۹ ^b	۳/۸۲ ^b
+Phy+VMP		۸۹/۱۰ ^a	۱۱۴/۸	۶۲/۸۵ ^a	۵۶/۰۰ ^a	۲/۰۵ ^b	۲/۷۳ ^b
SEM		۰/۳۷۰	۰/۳۷۸	۰/۱۵۲	۰/۲۶۱	۰/۰۱۱	۰/۳۴۲
P-value							
جیره		<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
مکمل		<۰/۰۰۱	۰/۹۴۲	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
جیره × مکمل		۰/۱۱۰	۰/۵۶۸	۰/۰۶۶	۰/۰۱۷	۰/۰۰۱	۰/۳۴۰

– میانگین‌ها نمایانگر ۸ تکرار در هر تیمار و هر تکرار شامل ۵ مرغ می‌باشد. میانگین‌های موجود در یک ستون که حرف مشترکی ندارند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < ۰/۰۵$).

^۱ SND: جیره با مواد مغذی استاندارد (کافی از نظر تمام مواد مغذی); LND: جیره با مواد مغذی کم (۵۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل‌متابولیسمی کمتر، ۱۰ درصد پروتئین خام کمتر، ۰/۱۰ درصد کلسیم و فسفر قابل‌دسترس کمتر). ^۲ +: بدون افزودنی؛ +PHY: افزودن فیتاز؛ +VMP: افزودن مکمل ویتامینی – معدنی؛ +PHY+VMP: افزودن فیتاز و مکمل ویتامینی – معدنی. ^۳ تخم‌مرغ‌های بدون پوسته، با پوسته نرم، ترک‌خورده، پوسته چروکیده و پوسته زبر. ^۴ تخم‌مرغ‌های آلوده به لکه‌های خون، مدفوع و زرده چسبیده به سطح پوسته.

اندازه‌گیری عملکرد تولیدی: درصد تولید برحسب روز مرغ محاسبه شد. با ضرب کردن درصد تولید در میانگین وزن تخم‌مرغ، وزن توده‌ای تخم‌مرغ (Egg mass) محاسبه شد. ضریب تبدیل خوراک، از طریق تقسیم مقدار خوراک مصرفی به وزن توده‌ای تخم‌مرغ محاسبه شد. روزانه تعداد تخم‌مرغ بدون پوسته، شکسته و کودی ثبت شده و سپس درصد تخم‌مرغ‌های غیرنرمال از تقسیم تعداد تخم‌مرغ‌های بدون پوسته، شکسته و کودی بر تعداد کل تخم‌مرغ‌ها محاسبه شد.

پارامترهای کیفی تخم‌مرغ: در پایان دوره، تخم‌مرغ‌ها به مدت ۳ روز جمع‌آوری شدند و از هر واحد آزمایشی ۲ عدد تخم‌مرغ (۱۶ تخم‌مرغ به ازای هر تیمار) به صورت تصادفی انتخاب شد و تحت آزمایش‌های کیفی قرار گرفت. صفات کیفی موردبررسی در مطالعه حاضر عبارت بودند از: صفات کیفی سفیده (درصد وزنی سفیده، ارتفاع سفیده و واحد هاو)، صفات کیفی زرده (درصد وزنی زرده و رنگ زرده)، صفات کیفی پوسته (درصد وزنی پوسته، ضخامت پوسته تخم‌مرغ و مقاومت به شکستگی). سپس تخم‌مرغ‌ها شکسته شده و برای محاسبه واحدها و Haugh unit، ارتفاع سفیده غلیظ توسط دستگاه ارتفاع‌سنج استاندارد (مدل CE 300) اندازه‌گیری شد و سپس در فرمول محاسبه شاخص‌ها (HU) گنجانده شد (۲۲) که از فرمول شماره ۱ محاسبه گردید:

$$۱. HU = 100 \times \log_{10} (H - 1.7W^{0.37} + 7.6)$$

H ارتفاع سفیده تخم‌مرغ بر حسب میلی‌متر و W وزن تخم‌مرغ بر حسب گرم است.

جدول ۳. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر صفات کیفی تخم مرغ در مرغ های تخم گذار در سن ۶۶ هفتگی.

جیره ^۱	مکمل ^۲	وزن زرده	وزن سفیده	وزن پوسته	ارتفاع سفیده	شاخص هاو	رنگ زرده	ضخامت پوسته	مقاومت به شکستگی
		گرم	گرم	گرم	میلی متر			میلی متر	کیلوگرم
SND	+	۱۸/۴۹	۳۶/۷	۶/۲۴	۵/۶۶	۷۴/۵۷	۷/۶۳	۰/۳۳۴	۳/۱۴
SND	+Phy	۱۸/۷۶	۳۷/۳	۶/۴۳	۵/۸۹	۷۶/۱۸	۷/۷۵	۰/۳۴۷	۳/۴۰
SND	+VMP	۱۹/۱۷	۳۷/۰	۶/۶۲	۵/۷۰	۷۴/۷۳	۷/۸۸	۰/۳۵۱	۳/۶۱
SND	+Phy+VMP	۱۹/۲۲	۳۷/۴	۶/۷۱	۵/۸۵	۷۶/۰۱	۷/۶۳	۰/۳۵۷	۳/۶۸
LND	+	۱۷/۸۸	۳۶/۲	۶/۱۱	۵/۵۱	۷۳/۳۷	۷/۳۸	۰/۳۲۷	۳/۰۲
LND	+Phy	۱۸/۲۶	۳۶/۶	۶/۳۰	۵/۸۱	۷۵/۶۷	۷/۷۵	۰/۳۴۳	۳/۳۱
LND	+VMP	۱۸/۰۲	۳۶/۴	۶/۵۹	۵/۷۰	۷۴/۸۸	۷/۶۳	۰/۳۵۳	۳/۴۸
LND	+Phy+VMP	۱۸/۲۰	۳۶/۳	۶/۶۷	۵/۸۰	۷۵/۶۰	۷/۸۸	۰/۳۵۵	۳/۵۷
SEM		۰/۳۴۸	۰/۵۹۲	۰/۱۴۵	۰/۱۰۲	۰/۷۸۴	۰/۴۳۹	۰/۰۰۷۲	۰/۱۰۳
اثرات اصلی									
اثر جیره									
SND		۱۸/۹۱ ^a	۳۷/۱	۶/۵۰	۵/۷۸	۷۵/۳۷	۷/۷۲	۰/۳۴۷	۳/۴۶
LND		۱۸/۰۹ ^b	۳۶/۴	۶/۴۲	۵/۷۱	۷۴/۸۸	۷/۶۶	۰/۳۴۵	۳/۳۴
SEM		۰/۱۷۴	۰/۲۹۶	۰/۰۷۲	۰/۰۵۱	۰/۳۹۲	۰/۲۱۹	۰/۰۰۳۶	۰/۰۵۱
اثر مکمل									
+		۱۸/۱۸	۳۶/۴	۶/۱۸ ^b	۵/۵۹ ^b	۷۳/۹۷ ^b	۷/۵۰	۰/۳۳۱ ^b	۳/۰۸ ^c
+Phy		۱۸/۵۱	۳۷/۰	۶/۳۷ ^{ab}	۵/۸۵ ^a	۷۵/۹۳ ^a	۷/۷۵	۰/۳۴۵ ^{ab}	۳/۳۶ ^b
+VMP		۱۸/۵۹	۳۶/۷	۶/۶۰ ^a	۵/۷۰ ^{ab}	۷۴/۸۱ ^{ab}	۷/۷۵	۰/۳۵۲ ^a	۳/۵۵ ^{ab}
+Phy+VMP		۱۸/۷۱	۳۶/۹	۶/۶۹ ^a	۵/۸۳ ^a	۷۵/۸۰ ^a	۷/۷۵	۰/۳۵۶ ^a	۳/۶۳ ^a
SEM		۰/۲۴۶	۰/۴۱۸	۰/۱۰۲	۰/۰۷۲	۰/۵۵۴	۰/۳۱۰	۰/۰۰۵۱	۰/۰۷۲
P-value									
جیره		۰/۰۰۲	۰/۰۹۶	۰/۴۱۹	۰/۳۳۱	۰/۳۸۱	۰/۸۴۱	۰/۶۱۰	۰/۱۱۶
مکمل		۰/۴۸۴	۰/۸۲۱	۰/۰۰۳	۰/۰۴۳	۰/۰۵۰	۰/۹۲۱	۰/۰۰۵	<۰/۰۰۱
جیره × مکمل		۰/۷۴۱	۰/۹۶۷	۰/۹۷۴	۰/۸۹۲	۰/۸۶۰	۰/۹۳۰	۰/۹۴۱	۰/۹۹۸

- میانگین ها نمایانگر ۸ تکرار به ازای تیمار و هر تکرار شامل ۲ تخم مرغ می باشد. میانگین های موجود در یک ستون که حرف مشترکی ندارند، اختلاف معنی دار دارند ($P < 0.05$).
^۱ SND: جیره با مواد مغذی استاندارد (کافی از نظر تمام مواد مغذی); LND: جیره با مواد مغذی کم (۵۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل متابولیسمی کمتر، ۱- درصد پروتئین خام کمتر، ۰/۱- درصد کلسیم و فسفر قابل دسترس کمتر). ^۲ +: بدون افزودنی؛ +PHY: افزودن فیتاز؛ +VMP: افزودن مکمل ویتامینی معدنی؛ +PHY+VMP: افزودن فیتاز و مکمل ویتامینی معدنی.

شاخص رنگ زرده توسط روش Roche yolk color fan اندازه گیری شد که مقیاس آن از یک برای زرد کم رنگ تا ۱۵ برای نارنجی غلیظ متغیر بود. برای اندازه گیری وزن پوسته، ابتدا پوسته ها با آب شست و شو داده شدند و برای مدت ۱۵ ساعت در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد قرار گرفته و پس از سرد شدن به طور انفرادی وزن شدند. ضخامت پوسته تخم مرغ ها با استفاده از میکرومتر با دقت ۰/۰۱ میلی متر در وسط تخم مرغ و در سه نقطه اندازه گیری شد و میانگین آن ها به عنوان ضخامت نهایی پوسته در نظر گرفته شد. مقاومت به شکستگی پوسته با استفاده از دستگاه Texture Analyzer (مدل TA.XT plus، Godalming, UK، Stable Micro Systems Ltd.) مجهز به پروب فولادی با سرعت فشرده سازی ۱ میلی متر بر ثانیه اندازه گیری شد. هر تخم مرغ در وضعیت عمودی بین دو نگهدارنده ثابت قرار گرفت و نیروی لازم برای شکستن پوسته بر حسب کیلوگرم ثبت شد.

اندازه گیری فراسنجه های خونی: در پایان دوره آزمایش از هر تکرار یک مرغ انتخاب و از طریق سیاهرگ زیر بال خون گیری انجام و به لوله های انعقادی منتقل و سپس سانتریفیوژ شد. سرم به دست آمده تا شروع آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. متابولیت های خونی شامل گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین، اسید اوریک، کلسیم، فسفر، آنزیم های آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آسپارات ترانس آمیناز (AST) بودند. تجزیه و تحلیل همه فراسنجه ها با استفاده از کیت های تجاری (پارس آزمون، ایران) و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتری CLima-617 ساخت کشور اسپانیا انجام شد. پروتئین تام به روش بیوره، آلبومین به روش اتصال به رنگ با استفاده از رنگ برم کرزول گرین، اسید اوریک به روش آنزیمی اوریکاز، کلسیم به روش اورتو - کرسول فتالئین (Ortho-cresolphthalein)، فسفر به روش مولیبدات آمونیوم و آنزیم های خون به روش کالریمتریک اندازه گیری شدند.

جدول ۴. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت متابولیت‌ها، الکترولیت‌ها و فعالیت آنزیم‌های سرم خون در مرغ‌های تخم‌گذار در سن ۶۶ هفتگی.

ALT	AST	ALP	فسفر	کلسیم	اسید اوریک	البومین	پروتئین	تری گلیسرید	کلسترول	گلوکز	مکمل ^۲	جیره ^۱
واحد/لیتر	واحد/لیتر	واحد/لیتر	میلی گرم/دسی لیتر	میلی گرم/دسی لیتر	میلی گرم/دسی لیتر	گرم/دسی لیتر	گرم/دسی لیتر	میلی گرم/دسی لیتر	میلی گرم/دسی لیتر	میلی گرم/دسی لیتر		
۲۰/۱۹	۲۲۲/۳	۱۳۳۴	۶/۲۷	۲۹/۸۶	۸/۱۴	۲/۰۸	۴/۵۰	۱۲۷۶	۱۲۷/۱	۲۲۷/۹	۰+	SND
۲۱/۹۷	۲۲۴/۳	۱۰۸۱	۷/۰۱	۳۰/۲۰	۸/۰۶	۲/۱۵	۴/۵۶	۱۳۳۴	۱۲۵/۲	۲۳۳/۵	+Phy	SND
۱۹/۹۶	۲۰۸/۰	۱۱۴۷	۶/۶۴	۳۱/۳۳	۷/۹۶	۲/۱۹	۴/۵۸	۱۳۱۲	۱۳۰/۷	۲۳۷/۲	+VMP	SND
۱۹/۶۸	۲۱۷/۵	۱۰۹۹	۷/۲۴	۳۲/۳۶	۷/۹۹	۲/۱۳	۴/۶۹	۱۳۲۰	۱۳۳/۴	۲۳۹/۸	+Phy+VMP	SND
۲۶/۲۰	۲۴۵/۲	۱۵۱۱	۵/۶۶	۲۹/۶۴	۷/۷۲	۱/۹۲	۴/۲۲	۱۱۷۴	۱۲۲/۱	۲۵۰/۷	۰+	LND
۲۳/۳۷	۲۳۴/۶	۱۲۳۸	۶/۳۱	۳۱/۸۷	۷/۷۴	۲/۰۸	۴/۴۵	۱۱۹۷	۱۱۷/۵	۲۶۰/۳	+Phy	LND
۲۱/۳۶	۲۲۳/۵	۱۲۹۰	۶/۰۷	۳۳/۶۵	۷/۶۱	۲/۱۱	۴/۳۴	۱۲۰۴	۱۲۶/۳	۲۵۶/۰	+VMP	LND
۲۲/۲۵	۲۱۶/۰	۱۲۱۳	۶/۴۶	۳۴/۶۹	۷/۷۳	۲/۱۷	۴/۵۳	۱۲۸۴	۱۱۶/۲	۲۶۷/۳	+Phy+VMP	LND
۲/۲۷۹	۱۲/۲۳	۸۰/۳	-/۲۹۲	۲/۷۶	-/۳۴۸	-/۱۸۷	-/۲۰۲	۵۹/۷	۷/۱۰	۱۴/۴۲		SEM
اثرات اصلی												
اثر جیره												
۲۰/۴۵	۲۱۸/۰	۱۱۶۵ ^b	۶/۷۹ ^a	۳۰/۹	۸/۰۴	۲/۱۴	۴/۵۸	۱۳۱۱ ^a	۱۲۹/۱	۲۳۷/۱ ^b		SND
۲۲/۳۲	۲۲۹/۸	۱۳۱۳ ^a	۶/۱۲ ^b	۳۲/۵	۷/۷۰	۲/۰۷	۴/۳۹	۱۲۱۵ ^b	۱۲۰/۵	۲۵۸/۶ ^a		LND
۱/۱۳۹	۶/۱۱	۴۰/۲	-/۱۴۶	۱/۳۸	-/۱۷۴	-/۰۹۳	-/۱۰۱	۲۹/۹	۳/۵۵	۷/۲۱		SEM
اثر مکمل												
۲۳/۲۰	۲۳۳/۷	۱۴۲۳ ^a	۵/۹۶ ^b	۲۹/۷	۷/۹۳	۲/۰۰	۴/۳۶	۱۲۲۵	۱۲۴/۶	۲۳۹/۳	۰+	
۲۲/۶۷	۲۲۹/۵	۱۱۵۹ ^b	۶/۶۶ ^{ab}	۳۱/۰	۷/۹۰	۲/۱۲	۴/۵۱	۱۲۶۶	۱۲۱/۳	۲۴۶/۹	+Phy	
۲۰/۶۶	۲۱۵/۷	۱۲۱۹ ^{ab}	۶/۳۵ ^{ab}	۳۲/۵	۷/۷۹	۲/۱۵	۴/۴۶	۱۲۵۸	۱۲۸/۵	۲۴۶/۶	+VMP	
۲۱/۰۱	۲۱۶/۷	۱۱۵۶ ^b	۶/۸۵ ^a	۳۳/۵	۷/۸۶	۲/۱۵	۴/۶۱	۱۳۰۲	۱۲۴/۸	۲۵۸/۵	+Phy+VMP	
۱/۶۱۱	۸/۶۵	۵۶/۸	-/۲۰۷	۱/۹۵	-/۳۴۶	-/۱۳۲	-/۱۴۳	۴۲/۲	۵/۰۲	۱۰/۱۹		SEM
P-value												
-/۰۸۱	-/۱۷۷	-/۰۱۲	-/۰۰۲	-/۴۳۷	-/۱۷۵	-/۰۶۱۰	-/۰۶۸	-/۰۲۷	-/۰۹۳	-/۰۴۰		جیره
-/۰۶۲۵	-/۰۳۵۸	-/۰۰۰۴	-/۰۰۲۱	-/۰۵۴۳	-/۰۹۷۸	-/۰۸۳۶	-/۰۶۷۱	-/۰۶۴۴	-/۰۷۹۳	-/۰۶۱۱		مکمل
-/۰۷۱۴	-/۰۷۸۶	-/۰۹۸۲	-/۰۹۸۴	-/۰۹۶۲	-/۰۹۹۷	-/۰۹۵۶	-/۰۹۷۶	-/۰۸۵۷	-/۰۷۹۳	-/۰۹۸۸		جیره × مکمل

- میانگین‌ها نمایانگر ۸ تکرار به ازای هر تیمار می‌باشند. میانگین‌های موجود در یک ستون که حرف مشترکی ندارند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

^۱ SND: جیره با مواد مغذی استاندارد (کافی از نظر تمام مواد مغذی); LND: جیره با مواد مغذی کم (۵۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل متابولیسمی کمتر، ۱- درصد پروتئین خام کمتر، ۰/۱- درصد کلسیم و فسفر قابل دسترس کمتر). ^۲ ۰+۰: بدون افزودنی; +PHY: افزودن فیتاز; +VMP: افزودن مکمل ویتامینی معدنی; +PHY+VMP: افزودن فیتاز و مکمل ویتامینی معدنی. مخفف‌ها: ALP: آلکالین فسفاتاز; AST: آسپاراتات آمینوترانسفراز; ALT: آلانین آمینوترانسفراز.

اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد مغذی: برای اندازه‌گیری قابلیت هضم مواد مغذی در ایلئوم از نشانگر خاکستر نامحلول در اسید (AIA)

استفاده شد. به‌منظور تأمین AIA، مکمل سیلیت به تمام جیره‌ها به‌مدت ۴ روز قبل از پایان هفته ۶۶ اضافه شد (به میزان ۵ گرم در کیلوگرم جیره). در پایان مطالعه، از هر تکرار، یک مرغ تخم‌گذار به‌صورت تصادفی انتخاب و با روش جابه‌جایی مهره‌های گردن کشتار شدند. محتویات ایلئوم، از زائده مکمل تا محل اتصال ایلئوم به سکوم، جمع‌آوری و بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان انجام آنالیزهای بعدی ذخیره شد. نمونه‌ها سپس به روش freeze-drying خشک و آسیاب شده و از الک با قطر منافذ ۰/۵ میلی‌متر عبور داده شدند. تعیین ماده خشک، خاکستر خام، چربی خام، پروتئین خام، انرژی، کلسیم و فسفر در نمونه‌های خوراک و دفعیات با استفاده از روش استاندارد ذکرشده در AOAC (۲۱) صورت گرفت. قابلیت هضم ظاهری ایلئومی (AID) مواد مغذی با استفاده از فرمول شماره ۲ محاسبه شد:

$$2. \text{AID} = 1 - [(\text{marker}_{\text{diet}}/\text{marker}_{\text{id}}) \times (\text{nutrient}_{\text{id}}/\text{nutrient}_{\text{diet}})] \times 100$$

$\text{marker}_{\text{diet}}$ و $\text{nutrient}_{\text{diet}}$ غلظت مواد مغذی و AIA در جیره غذایی و $\text{marker}_{\text{id}}$ و $\text{nutrient}_{\text{id}}$ نشان‌دهنده غلظت همان مواد مغذی و AIA

در محتویات ایلئوم می‌باشند. همچنین از محتویات دفعی پرندگان (۸ تکرار به ازای هر تیمار) برای اندازه‌گیری انرژی متابولیسمی تصحیح شده براساس ذخیره نیتروژن (AMEn) استفاده شد. مقدار AMEn نیز با استفاده از فرمول شماره ۳ محاسبه شد:

$$3. \text{AME}_n (\text{kcal/kg of diet}) = \text{GE}_{\text{diet}} - [(\text{GE}_{\text{id}} \times \text{IF}) + (8.22 \times (\text{N}_{\text{diet}} - \text{N}_{\text{id}}) \times \text{IF})]$$

جدول ۵. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم مواد مغذی و انرژی متابولیسمی تصحیح‌شده بر مبنای ذخیره نیتروژن (AMEn) در مرغ‌های تخم‌گذار در سن ۶۶ هفتگی.

AMEn درصد								مکمل ^۲	جیره ^۱
کیلوکالری/کیلوگرم	انرژی	فسفر	کلسیم	خاکستر	چربی خام	پروتئین خام	ماده خشک		
۲۶۶۱	۷۱/۷۹	۵۸/۸۴ ^a	۳۹/۸۰	۵۰/۸۶ ^{bc}	۷۹/۹۰	۶۸/۳۸	۷۶/۶۳	۰+	SND
۲۶۸۶	۷۳/۰۳	۵۹/۲۸ ^a	۴۱/۶۸	۵۱/۱۷ ^{abc}	۸۱/۳۷	۷۰/۱۰	۷۷/۴۷	+Phy	SND
۲۶۷۵	۷۲/۷۲	۵۹/۵۵ ^a	۴۰/۸۱	۵۱/۶۳ ^{abc}	۸۰/۷۳	۶۹/۵۷	۷۷/۲۳	+VMP	SND
۲۶۸۷	۷۳/۴۷	۵۹/۸۲ ^a	۴۱/۳۴	۵۲/۱۴ ^{ab}	۸۱/۷۰	۷۰/۴۵	۷۸/۳۹	+Phy+VMP	SND
۲۶۰۲	۷۰/۸۱	۵۵/۹۵ ^b	۳۸/۴۱	۴۹/۰۱ ^c	۷۸/۹۷	۶۸/۵۳	۷۵/۴۹	۰+	LND
۲۶۲۷	۷۳/۴۵	۵۹/۵۶ ^a	۳۹/۸۱	۵۲/۲۸ ^{ab}	۸۰/۳۳	۷۰/۰۲	۷۷/۰۹	+Phy	LND
۲۶۱۴	۷۳/۳۶	۵۹/۴۱ ^a	۳۹/۲۱	۵۲/۹۸ ^{ab}	۷۹/۸۸	۶۹/۴۳	۷۶/۵۶	+VMP	LND
۲۶۳۳	۷۴/۰۴	۶۰/۵۲ ^a	۳۹/۹۸	۵۳/۶۹ ^a	۸۰/۷۴	۷۰/۳۹	۷۷/۶۵	+Phy+VMP	LND
۸/۷۷	۰/۷۱۱	۰/۵۶۹	۱/۲۲۰	۰/۶۱۱	۰/۸۶۰	۰/۷۱۹	۰/۷۵۸		SEM
اثرات اصلی									
اثر جیره									
۲۶۷۷ ^a	۷۲/۷۵ ^a	۵۹/۳۷ ^a	۴۰/۸۸	۵۱/۴۵ ^a	۸۰/۹۳	۶۹/۶۳	۷۷/۴۳		SND
۲۶۱۹ ^b	۷۱/۱۴ ^b	۵۷/۷۰ ^b	۳۹/۳۵	۴۹/۵۲ ^b	۷۹/۹۸	۶۹/۵۹	۷۶/۷۰		LND
۴/۳۹	۰/۳۵۵	۰/۲۸۵	۰/۶۱۰	۰/۳۰۶	۰/۴۳۰	۰/۳۶۰	۰/۳۷۹		SEM
اثر مکمل									
۲۶۳۳ ^b	۷۰/۴۴ ^b	۵۶/۸۴ ^b	۳۹/۱۰	۴۸/۷۷ ^b	۷۹/۴۴	۶۸/۴۵ ^b	۷۶/۰۶		۰+
۲۶۵۶ ^a	۷۲/۳۴ ^a	۵۸/۸۴ ^a	۴۰/۷۴	۵۰/۴۸ ^a	۸۰/۸۵	۷۰/۰۶ ^{ab}	۷۷/۲۸		+Phy
۲۶۴۵ ^{ab}	۷۲/۱۵ ^{ab}	۵۸/۸۹ ^a	۴۰/۰۱	۵۱/۰۴ ^a	۸۰/۳۱	۶۹/۵۰ ^{ab}	۷۶/۹۰		+VMP
۲۶۶۰ ^a	۷۲/۸۵ ^a	۵۹/۵۷ ^a	۴۰/۶۱	۵۱/۶۴ ^a	۸۱/۲۲	۷۰/۴۳ ^a	۷۸/۰۲		+Phy+VMP
۶/۲۰	۰/۵۰۲	۰/۴۰۲	۰/۸۶۳	۰/۴۳۲	۰/۶۰۸	۰/۵۰۸	۰/۵۳۶		SEM
P-value									
<۰/۰۰۱	۰/۷۴۲	۰/۲۰۸	۰/۰۸۱	۰/۲۱۶	۰/۱۲۵	۰/۹۴۶	۰/۱۷۸		جیره
۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	<۰/۰۰۱	۰/۵۲۷	<۰/۰۰۱	۰/۱۹۴	۰/۰۴۶	۰/۰۸۷		مکمل
۰/۹۷۵	۰/۶۲۸	۰/۰۱۱	۰/۹۹۵	۰/۰۳۳	۱/۰۰۰	۰/۹۹۸	۰/۹۶۷		جیره × مکمل

– میانگین‌ها نمایانگر ۸ تکرار به ازای هر تیمار می‌باشند. میانگین‌های موجود در یک ستون که حرف مشترکی ندارند، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < ۰/۰۵$).

^۱ SND: جیره با مواد مغذی استاندارد (کافی از نظر تمام مواد مغذی)؛ LND: جیره با مواد مغذی کم (۵۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل متابولیسمی کمتر، ۱- درصد پروتئین خام کمتر، ۰/۱- درصد کلسیم و فسفر قابل‌دسترس کمتر). ^۲ ۰+: بدون افزودنی؛ +PHY: افزودن فیتاز؛ +VMP: افزودن مکمل ویتامینی معدنی؛ +PHY+VMP: افزودن فیتاز و مکمل ویتامینی معدنی.

GE_{diet} انرژی خام در جیره غذایی (کیلوکالری در کیلوگرم) است و GE_{id} انرژی خام در محتویات دفعی (کیلوکالری / کیلوگرم) و IF معادل فاکتور تصحیح برای تعیین نسبت غیرقابل هضم مواد خوراکی ($\text{marker}_{\text{diet}}/\text{marker}_{\text{id}}$) است. N_{diet} غلظت نیتروژن در جیره غذایی و N_{id} غلظت نیتروژن در محتویات دفعی و ۸/۲۲ معادل انرژی اسید اوریک (kcal/g) است.

واکاوی آماری داده‌ها: داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس دوطرفه (2-way ANOVA) برای یک آزمایش فاکتوریل ۲×۴ با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها به ترتیب با آزمون‌های Shapiro-Wilk و Levene ارزیابی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی (Tukey's Test) و در سطح ۵ درصد انجام شد. نتایج به صورت میانگین‌ها به همراه خطای استاندارد میانگین (SEM) ارائه شد.

نتایج

عملکرد تولیدی: در جدول ۲، نتایج مرتبط با عملکرد تولیدی گله نشان داده شده است. برهم‌کنش بین نوع جیره غذایی و نوع مکمل بر صفات وزن توده‌ای تخم‌مرغ، ضریب تبدیل غذایی و درصد تخم‌مرغ‌های ناهنجار (از نظر شکل) معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). به طوری که افزودن مکمل‌های فیتاز و VMP در جیره LND در مقایسه با جیره‌های SND مؤثرتر بوده است. در مورد اثرات اصلی، جیره غذایی LND موجب کاهش تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ، وزن توده‌ای تخم‌مرغ و در عوض افزایش خوراک مصرفی، ضریب تبدیل خوراک، درصد تخم‌مرغ‌های ناهنجار، تخم‌مرغ‌های آلوده (مدفوع و خون) و درصد کل تخم‌مرغ‌های غیرطبیعی شد ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین افزودن آنزیم فیتاز به تنهایی یا همراه با VMP موجب افزایش درصد تولید و وزن توده‌ای تخم‌مرغ در مقایسه با تیمار فاقد مکمل شد ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین تیمار ترکیبی فیتاز با VMP

در مقایسه با تیمار VMP افزایش معنی‌داری در درصد تولید و وزن توده‌ای تخم‌مرغ نشان داد ($P < 0/001$). همه تیمارهای حاوی مکمل موجب افزایش وزن تخم‌مرغ و کاهش ضریب تبدیل غذایی، کاهش درصد تخم‌مرغ‌های ناهنجار و تعداد کل تخم‌مرغ‌های غیرطبیعی (ناهنجار + آلوده) در مقایسه با تیمار فاقد هرگونه مکمل شد ($P < 0/001$). همچنین یک کاهش در درصد تخم‌مرغ‌های آلوده (کودی و خونی) در گروه حاوی هر دو مکمل در مقایسه با تیمار فاقد مکمل مشاهده شد ($P < 0/01$).

ویژگی‌های کیفی تخم‌مرغ: نتایج مرتبط با ویژگی‌های کیفی تخم‌مرغ در **جدول ۳** نمایش داده شده است. برهم‌کنش بین نوع جیره غذایی و نوع مکمل مورد استفاده در جیره غذایی مشاهده نشد ($P > 0/05$). در مقابل جیره غذایی LND موجب کاهش شاخص وزن زرده در مقایسه با جیره غذایی SND شد ($P < 0/05$). افزودن آنزیم فیتاز به تنهایی یا همراه با مکمل VMP موجب افزایش ارتفاع سفیده تخم‌مرغ و شاخص هاو در مقایسه با جیره فاقد هر نوع مکمل شد ($P < 0/05$). همچنین افزودن مکمل VMP به تنهایی یا در ترکیب با آنزیم فیتاز موجب افزایش وزن و ضخامت پوسته تخم‌مرغ گردید ($P < 0/05$). همه مکمل‌های مورد استفاده در جیره غذایی موجب افزایش در مقاومت شکستگی پوسته تخم‌مرغ در مقایسه با تیمار شاهد شد ($P < 0/05$); به‌طوری‌که بالاترین مقاومت به شکستگی پوسته در تیمار ترکیبی آنزیم فیتاز و VMP مشاهده شد ($P < 0/05$).

فراسنجه‌های خونی: نتایج مرتبط با غلظت متابولیت‌ها، الکترولیت‌ها و فعالیت آنزیم‌ها در سرم خون در **جدول ۴** نشان داده شده است. اثر تیمارهای اصلی نوع جیره غذایی و نوع مکمل استفاده‌شده و همچنین برهم‌کنش بین آن‌ها بر مقادیر کلسترول، پروتئین، آلبومین، اسید اوریک، کلسیم و فعالیت آنزیم‌های AST و ALT معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). در مقابل کاهش غلظت مواد مغذی در جیره غذایی LND موجب افزایش غلظت گلوکز، کاهش غلظت تری‌گلیسرید، کاهش غلظت فسفر و افزایش فعالیت آنزیم ALP شد ($P < 0/05$). همچنین مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه‌شده با جیره‌های LND تمایل به کاهش غلظت کلسترول ($P = 0/093$) و افزایش فعالیت آنزیم ALT ($P = 0/081$) را در مقایسه با جیره SND نشان دادند. افزودن توأم آنزیم فیتاز و مکمل VMP موجب افزایش غلظت فسفر سرم خون شد ($P < 0/05$). همچنین افزودن آنزیم فیتاز به تنهایی یا هم‌زمان با مصرف مکمل VMP موجب کاهش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز شد ($P < 0/05$).

قابلیت هضم مواد مغذی: نتایج مرتبط با اثرات تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم مواد مغذی و میزان AMEn در **جدول ۵** نشان داده شده است. یک برهم‌کنش بین غلظت مواد مغذی جیره و نوع مکمل مورد استفاده در جیره بر قابلیت هضم خاکستر و فسفر معنی‌دار بود؛ به‌طوری‌که افزودن مکمل‌های فیتاز و VMP در جیره LND در مقایسه با جیره‌های SND مؤثرتر بود. در مورد اثرات اصلی، جیره غذایی LND موجب کاهش AMEn در مقایسه با جیره SND شد ($P < 0/01$). تمایل به کاهش قابلیت هضم کلسیم نیز در گروه LND مشاهده شد ($P = 0/081$). همه تیمارهای حاوی مکمل، موجب افزایش قابلیت هضم خاکستر و فسفر در مقایسه با تیمار فاقد هرگونه مکمل شدند ($P < 0/001$). تیمار ترکیبی فیتاز با VMP در مقایسه با تیمار فاقد مکمل افزایش معنی‌داری در قابلیت هضم پروتئین خام را نشان داد ($P < 0/05$). همچنین افزودن آنزیم فیتاز به تنهایی یا همراه با VMP موجب افزایش قابلیت هضم انرژی و مقدار AMEn شد ($P < 0/001$).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد کاهش غلظت انرژی و مواد مغذی جیره (کاهش ۵۰ کیلوکالری AMEn در کیلوگرم، یک واحد پروتئین خام و ۰/۱ درصد فسفر قابل‌دسترس و کلسیم) به افت معنی‌دار درصد تولید، وزن تخم و وزن توده‌ای تخم‌مرغ انجامید. درعین‌حال، مصرف خوراک به‌صورت جبرانی افزایش یافت. این الگو با گزارش‌های پیشین درباره افزایش مصرف در پاسخ به کاهش تراکم انرژی یا مواد مغذی هم‌راستا است و با پیش‌بینی مصرف خوراک با کاهش انرژی جیره (حدود ۱ درصد افزایش میانگین مصرف خوراک روزانه به‌ازای هر ۳۳ کیلوکالری کاهش AMEn) سازگار است (۱). درنتیجه همسوسازی غلظت پروتئین و ریزمغذی‌ها با سطح انرژی و الگوی مصرف برای پیشگیری از عدم‌توازن‌های تغذیه‌ای ضروری می‌باشد (۲۳). باوجوداین، تنظیم دقیق مصرف خوراک تحت تأثیر عوامل متعدد قرار دارد و در سویه‌های مدرن همواره قابل‌انکاف نیست (۲). افزون‌براین در مطالعه حاضر کاهش انرژی با کاهش هم‌زمان پروتئین، کلسیم و فسفر در جیره غذایی همراه بود؛ ازاین‌رو کاهش عملکرد به احتمال زیاد مرتبط با اثرات تجمعی کاهش این مواد مغذی به‌صورت

توأم می‌باشد. درحالی‌که در برخی شرایط، کاهش محدود کلسیم و فسفر به‌تنهایی الزاماً بر مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی مؤثر نیست (۲۴).

برهم‌کنش تراکم مواد مغذی×نوع مکمل بیانگر آن بود که کارایی فیتاز و مکمل VMP در جیره LND برجسته‌تر از جیره SND است؛ به‌گونه‌ای که در LND، هر دو مکمل و به‌ویژه تیمار ترکیبی فیتاز +VMP وزن توده‌ای تخم‌مرغ را افزایش داده، ضریب تبدیل غذایی را بهبود بخشیدند و سهم تخم‌های ناهنجار را کاهش دادند. این یافته‌ها با نتایج سایر مطالعات هم‌راستا است که نشان می‌دهند فیتاز می‌تواند افت‌های ناشی از کاهش هم‌زمان انرژی، پروتئین، کلسیم و فسفر را تا حدی جبران کند و شاخص‌های تولیدی را ارتقا دهد (۱۰، ۲۵). از منظر سازوکار، فیتاز با هیدرولیز فیتات و آزادسازی فسفر، بهبود فراهمی کلسیم و ارتقای قابلیت هضم اسیدهای آمینه و انرژی، بستر متابولیکی لازم برای سنتز اجزای تخم‌مرغ و افزایش سطح تولید را تقویت می‌کند؛ درحالی‌که VMP با تأمین مستقیم Ca و P و نیز ویتامین‌های D₃ و K₃ و عناصر کم‌نیاز (Mn, Zn, Cu, Se)، سنتز بخش‌های مختلف تخم‌مرغ (به‌ویژه پوسته) را برطرف می‌سازد. در تأیید نقش اجزای VMP، شواهد نشان می‌دهد افزایش کلسیم جیره غذایی به‌طور خطی نرخ تلفات تخم‌مرغ را از طریق بهبود کیفیت پوسته کاهش می‌دهد (۲۶) و ویتامین D₃ با القای پروتئین‌های متصل‌شونده به کلسیم و مشارکت در لیپوپروتئین‌سازی زرده، نرخ تخم‌گذاری، وزن توده‌ای و FCR را بهبود می‌بخشد (۲۷). ویتامین K₃ نیز به‌عنوان کوآنزیم ۷-کربوکسیلاز با فعال‌سازی پروتئین‌های ماتریکسی در بافت‌های کلسیفیه، به‌خصوص استخوان مدولاری، ذخایر معدنی را تقویت و بستر معدنی‌سازی پوسته را بهبود می‌دهد (۲۸). علاوه‌براین استفاده از فرم‌های آلی عناصر کم‌نیاز می‌تواند ذخیره و رسوب آن‌ها را در پوسته افزایش دهد و پایداری تولید و کیفیت را ارتقا بخشد (۲۹). نتایج نشان داد که به‌کارگیری هم‌زمان فیتاز و یک پیش‌مخلوط مؤثر ویتامین - مینرال راهکاری عملی برای پر کردن کاهش سطح انرژی و مواد مغذی و نزدیک‌سازی عملکرد تولیدی به سطوح مطلوب، به‌ویژه در فازهای پایانی تولید محسوب می‌شود. براساس نتایج مطالعه حاضر مصرف خوراک تحت تأثیر مکمل‌های آزمایشی قرار نگرفت. این نتیجه با فیزیولوژی تنظیم مصرف در مرغ‌های تخم‌گذار سازگار است. با وجود اینکه مصرف خوراک در مرغ‌های تخم‌گذار عمدتاً تابع غلظت انرژی جیره و شرایط محیطی است (۳۰)، فسفر قابل‌دسترس نیز در صورت کمبود یا برهم خوردن نسبت کلسیم به فسفر قابل‌دسترس می‌تواند اشتها را کاهش دهد (۳۱). در مطالعه حاضر، در جیره کم مواد مغذی سطح فسفر قابل‌دسترس اندکی پایین‌تر از توصیه مرجع بود، اما با کاهش متناسب کلسیم نسبت کلسیم به فسفر قابل‌دسترس تقریباً ثابت نگه داشته شد و حتی در تیمارهای حاوی فیتاز زیست‌فراهمی مؤثر فسفر ارتقا یافت. ازاین‌رو انتظار تغییر معنی‌دار در مصرف خوراک وجود نداشت و اثرات مشاهده‌شده از مسیر بهبود بهره‌برداری از مواد مغذی و شاخص‌های کارایی (هضم‌پذیری، ضریب تبدیل خوراک و کیفیت پوسته) بروز کرده‌اند.

در میان شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ، تنها وزن زرده نسبت به تراکم انرژی و مواد مغذی حساس بود؛ به‌گونه‌ای که با رقیق‌سازی جیره، وزن زرده از ۱۸/۹۰ به ۱۸/۰۹ گرم کاهش یافت. این یافته با گزارش‌هایی همخوان است که افزایش غلظت مواد مغذی و انرژی را عمدتاً از مسیر افزایش وزن زرده توضیح می‌دهند و نقش محوری انرژی را در تأمین ذخایر چربی و پروتئین زرده برجسته می‌کنند (۳۲). هم‌راستا با این نتایج، کاهش تدریجی انرژی متابولیسمی و سایر مواد مغذی تا ۹۲ درصد سطح توصیه‌شده، افت خطی وزن زرده و سفیده را در مرغ‌های تخم‌گذار در سن ۴۹ تا ۶۱ هفتگی نشان داده است (۳۳). در مقابل تغییری در اجزای داخلی تخم‌مرغ به‌واسطه تغییر در محتوای مواد مغذی جیره مشاهده نشد و صرفاً کاهش ضخامت و استحکام پوسته را گزارش کرده‌اند (۳۴). در مطالعه حاضر، افزایش جبرانی مصرف خوراک نتوانست کمبود انرژی، پروتئین، کلسیم و فسفر را جبران کند. افزون‌براین دسترس‌پذیری بیشتر چربی (به‌واسطه افزایش سطح روغن سویا) در جیره SND می‌تواند بخشی از وزن بالاتر زرده را توضیح دهد.

از منظر کیفیت پوسته که با افزایش سن افت می‌کند و پیامدهای اقتصادی و بهداشتی مستقیم دارد، نتایج مطالعه حاضر نشان داد فیتاز مستقل از تراکم مواد مغذی، ارتفاع آلبومن، شاخص‌ها و مقاومت به شکستگی پوسته را بهبود می‌دهد. این یافته‌ها همسو با گزارش‌های بهبود ضخامت و استحکام پوسته در جیره‌های با فسفر قابل‌دسترس کم پس از افزودن فیتاز (۲۵) و بهبود ضخامت پوسته با افزودن ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز در کیلوگرم جیره غذایی حتی بدون تغییر معنی‌دار در ارتفاع آلبومن و شاخص‌ها بود (۶). همچنین در مرغ‌های تخم‌گذار مسن‌تر، بهبود واحد‌هاو با فیتاز به بهینه‌سازی عملکرد روده و جذب روده‌ای نسبت داده شده است (۳۵). از منظر

مکانیسم، هیدرولیز فیتات و آزادسازی فسفر، کاهش برهم کنش های ضد تغذیه ای با کلسیم و بهبود قابلیت هضم پروتئین و انرژی، سنتز اجزای پوسته و کیفیت داخلی تخم را تقویت می کند.

مکمل پیش مخلوط VMP نیز فارغ از تراکم مواد مغذی کیفیت پوسته را ارتقا داد و هم افزایی آن با فیتاز، به ویژه در مرغ های تخم گذار مسن، استحکام شکست پوسته را مؤثرتر از استفاده تنها از مکمل فیتاز، افزایش داد. این هم افزایی با ماهیت ریزمغذی های مکمل VMP سازگار است: ویتامین D₃ با تنظیم هموستاز کلسیم و فسفر و القای ناقل های سلولی کلسیم (از جمله افزایش بیان CALB1 در غده پوسته و روده)، کیفیت پوسته را بهبود می دهد و اثرات فرم فعال (۲۵ - هیدروکسی کوله کلسیفرول) در فاز پایانی تولید برجسته تر است (۳۶). ویتامین K₃ به عنوان کوآنزیم ۷-کربوکسیلاز با فعال سازی پروتئین های ماتریکسی در بافت های کلسیفیه، به افزایش ضخامت پوسته منجر می شود (۱۷، ۲۸). در کنار مدیریت ویتامینی، تراز کلسیم و فسفر حیاتی است: کفایت فسفر کیفیت پوسته را پشتیبانی می کند، اما زیادی آن می تواند با جذب کلسیم تداخل کرده و کیفیت پوسته را کاهش دهد (۲۳). افزون بر این عناصر کم نیاز روی، منگنز و مس به عنوان کوفاکتورهای کلیدی در تشکیل غشا و ماتریکس پوسته و سازمان یابی کریستال های کلسیتی نقش دارند و مشخص شد استفاده از فرم های آلی این عناصر، افت مرتبط با سن را تعدیل کرده و استحکام پوسته را در انتهای دوره افزایش می دهد (۳۷). به طور کلی یافته های مطالعه حاضر نشان داد ترکیب فیتاز برای رفع محدودیت فیتاته و مکمل VMP با طراحی مینرالی و ویتامینی هدفمند، رویکردی مؤثر برای بهینه سازی کیفیت تخم مرغ به ویژه در گله های مسن در شرایط تغذیه با جیره های با کاهش غلظت مواد مغذی محسوب می شود.

متابولیت های خون منعکس کننده وضعیت متابولیکی و تغذیه ای پرندگان است (۹، ۲۷). در توافق با نتایج مطالعه حاضر، Zhao و همکاران در سال ۲۰۰۹ بیان کردند که کاهش هم زمان انرژی و پروتئین در جیره غذایی موجب افزایش غلظت گلوکز سرم خون در جوجه های گوشتی گردید (۳۸). در مطالعه حاضر، کاهش انرژی متابولیسمی و تراکم مواد مغذی به طور معنی داری موجب افزایش مصرف خوراک شد که احتمالاً تولید گلوکز را برای مرغ های تغذیه شده با جیره غذایی LND افزایش داد. براساس یافته های مطالعه حاضر، کاهش غلظت انرژی و مواد مغذی موجب کاهش غلظت تری گلیسرید و تمایل به کاهش غلظت کلسترول در مرغ های تخم گذار شد که احتمالاً مرتبط با کاهش میزان لیپوژن و سنتز کلسترول در داخل بدن باشد. اخیراً در یک مطالعه گزارش شده است که متابولیسم مرغ های تخم گذار به جای ذخیره سازی در طول دوره های کاهش انرژی، به نفع استفاده مداوم از انرژی برای برآوردن نیازهای تولید تخم مرغ در مقایسه با ذخیره به صورت چربی است (۳۲). همچنین کاهش میزان انرژی و مواد مغذی جیره در تیمار LND، تفاوت معنی داری در محتوای سرم AST یا ALT در مقایسه با تیمار SND ایجاد نکرد که ممکن است منعکس کننده این موضوع باشد که این حد تغییر در غلظت مواد مغذی جیره اثر منفی بر عملکرد کبد یا عضلات نداشته است. در مقابل کاهش در غلظت فسفر و افزایش فعالیت آنزیم ALP در سرم در گروه LND مشاهده شد. افزایش فعالیت ALP و کاهش غلظت فسفر در سرم با اختلالات استخوانی مرتبط است (۸) و ممکن است با کمبود کلسیم یا فسفر یا نسبت کلسیم به فسفر اضافی در جیره غذایی مرتبط باشد. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، مرغ های تغذیه شده با جیره غذایی حاوی مکمل فیتاز در مقایسه با گروه شاهد (فاقد مکمل) کاهش فعالیت سرمی ALP و افزایش غلظت فسفر سرم را نشان دادند. کاهش فعالیت ALP در پاسخ به افزودن فیتاز به جیره های کم فسفر احتمالاً به دلیل افزایش دسترسی به فسفر است (۱۱). در مطالعه حاضر، افزودن فیتاز (۵۰۰ FTU/kg) در جیره های دارای کمبود مواد مغذی (انرژی، پروتئین، فسفر قابل دسترس و کلسیم) می تواند غلظت فسفر سرم را افزایش و فعالیت ALP را در سرم کاهش دهد. با وجود تفاوت در نوع مکمل، کلسیم سرم بین گروه ها تغییر معنی داری نداشت که با فیزیولوژی هموستاز کلسیم در مرغ های تخم گذار سازگار است؛ زیرا تا وقتی جیره ها نیاز کلسیم و فسفر را تأمین کنند، غلظت سرمی در محدوده ثابت توسط هورمون ها و ذخایر استخوانی نگه داشته می شود و اثر مکمل ها بیشتر در کارایی استفاده از کلسیم و فسفر و کیفیت پوسته بروز می کند تا در غلظت سرمی (۳۹).

همسو با یافته های مطالعه حاضر، کاهش خفیف میزان انرژی و پروتئین الزاماً به افت قابلیت هضم منتهی نمی شود؛ چنان که در یک مطالعه در جوجه های گوشتی (۳) اثری از تغییرات انرژی یا پروتئین بر ضرایب هضمی مواد مغذی مشاهده نشد. به طور مشابه در مطالعه ای دیگر (۴۰) گزارش شد کاهش ۱۰۰ کیلوکالری انرژی متابولیسمی به ازای کیلوگرم خوراک، ضرایب هضم ماده خشک، پروتئین خام و چربی خام را تغییر نداد. با این حال مطابق انتظار، مقدار انرژی قابل متابولیسم جیره LND نسبت به جیره SND کمتر بود؛ الگویی که در طیور گوشتی و بوقلمون نیز گزارش شده است (۴۰، ۴۱). بنابر نتایج (جدول ۵)، برهم کنش نوع جیره×نوع مکمل برای هضم خاکستر و

فسفر معنی‌دار بود؛ به‌طوری‌که ترکیب فیتاز + VMP در جیره‌های LND بیش از SND هضم خاکستر و فسفر را بهبود بخشید. افزون‌براین، افزودن فیتاز به‌تنهایی ضرایب هضم پروتئین خام و انرژی و نیز AMEn را بهبود داد. این یافته‌ها با نتایج مطالعه Sajadi Hezaveh و همکاران در سال ۲۰۲۰ (۴۲) همسو بود که در آن بهبود هضم مواد مغذی در بلدرچین ژاپنی با ۵۰۰ FYT/kg فیتاز مشاهده شد. این بهبود در قابلیت هضم مواد مغذی با سازوکارهای شناخته‌شده فیتاز، شامل هیدرولیز فیتات و آزادسازی مواد مغذی فراتر از فسفر مرتبط است (۱۲). ازسوی دیگر، مشاهده کاهش اتلاف درون‌زاد اسیدهای آمینه با استفاده از فیتاز منشأ *E. coli* در مطالعه‌ای دیگر (۴) می‌تواند دلیل احتمالی دیگر برای هضم بالاتر پروتئین در تیمارهای فیتاز (به‌ویژه در ترکیب با VMP) ارائه کند. مکمل VMP (به‌تنهایی یا همراه فیتاز) نیز هضم خاکستر و فسفر را خصوصاً در جیره LND بهبود بخشید که احتمالاً به تأمین کلسیم و ویتامین D₃ و بهبود جذب معدنی در بخش فوقانی روده باریک (دئودنوم و ژژونوم) مربوط است. هم‌راستا با نتایج مطالعه حاضر، هضم فسفر در مرغ‌های مسن (۶۶ هفته‌گی) با سطوح بالاتر کلسیم افزایش یافت و شواهد دیگر نشان می‌دهد کوله‌کلسیفرول هضم ایلئومی فسفر را در جوجه‌های گوشتی، احتمالاً از طریق تسهیل هیدرولیز فیتات و کاهش فسفر باقی‌مانده در ایلئوم بهبود می‌دهد (۷). همچنین در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که ۲۵ - هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول هضم کلسیم را در مرغ‌های تخم‌گذار بهبود می‌بخشد (۴۳). مجموع این داده‌ها بر کارآمدی راهبردی فیتاز + VMP در ارتقای بهره‌وری هضمی انرژی و مواد معدنی به‌ویژه تحت جیره‌های کم‌تراکم تأکید دارد.

در مطالعه حاضر، نوع جیره بر قابلیت هضم پروتئین اثر معنی‌داری نداشت؛ زیرا منابع و کیفیت پروتئین در همه جیره‌ها ثابت بود و فرمولاسیون بر مبنای اسیدهای آمینه قابل‌هضم انجام شد. در چنین شرایطی انتظار می‌رود تغییرات هضم پروتئین ناچیز باشد. همچنین در خصوص قابلیت هضم کلسیم، نوع جیره تنها تمایل به اثرگذاری نشان داد که با کنترل فیزیولوژیکی دامنه کلسیم سرم و روده در مرغ‌های تخم‌گذار قابل توضیح است (۳۹). افزون‌براین نوع مکمل (فیتاز یا ویتامین - مینرال) بر قابلیت هضم ظاهری کلسیم اثر معنی‌داری نداشت. این نتیجه با مطالعات قبلی همخوان است؛ به‌طوری‌که وقتی منبع و اندازه ذرات سنگ آهک و نسبت کلسیم به فسفر ثابت باشد و یا تغییرات بسیار مختصری داشته باشد، فیتاز در دُزهای مرسوم غالباً اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم کلسیم در مرغ‌های تخم‌گذار نشان نمی‌دهد و تنظیم فیزیولوژیک جذب یا بازجذب کلسیم دامنه تغییر را محدود می‌کند (۴۴، ۴۵).

نتیجه‌گیری نهایی: یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد اثر هم‌افزایی مکمل‌های فیتاز (فیتاگلد) و پیش‌مخلوط ویتامین - مینرال (سوپر شل) به‌طور معنی‌داری شاخص‌های تولید را در مرغ‌های تخم‌گذار، به‌ویژه در شرایط تغذیه با غلظت کمتر از حد استاندارد مواد مغذی، بهبود می‌دهد. درحالی‌که هر دو مکمل فیتا گلد و سوپر شل به‌طور جداگانه به بهبود عملکرد تولیدی و پارامترهای فیزیولوژیکی کمک می‌کنند. استفاده ترکیبی از این ۲ مکمل مزایای بارزتری در کیفیت پوسته تخم‌مرغ و قابلیت هضم مواد مغذی دارد. نتایج نشان داد این مکمل‌های راهبردی می‌توانند سلامت و بهره‌وری طیور را به‌ویژه زمانی که سطح مواد مغذی کمتر از استانداردهای تجاری باشد، بهینه کنند.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر توسط معاونت پژوهشی دانشگاه اراک با کد RD.ARAKU.1402.30990 مورد تصویب قرار گرفت.

سپاسگزاری

نگارندگان از واحد تحقیقات و توسعه شرکت دانش‌بنیان سپاهان‌دانه پارسیان بابت حمایت فنی و مالی در این پروژه و همچنین از مدیریت شرکت نوک طلای قم برای انجام بخش فارمی مطالعه تقدیر و تشکر می‌کنند.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Wu G, Bryant MM, Voitle RA, Roland DA Sr. Effect of dietary energy on performance and egg composition of Bovans White and Dekalb White hens during Phase I. *Poult Sci*. 2005;84(10):1610–1615. [doi: 10.1093/ps/84.10.1610](https://doi.org/10.1093/ps/84.10.1610) PMID: 16335131
2. Classen HL. Diet energy and feed intake in chickens. *Anim Feed Sci Technol*. 2017;233:13–21. [doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.03.004](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.004)
3. Upadhaya S, Rudeaux F, Kim I. Effects of inclusion of *Bacillus subtilis* (Gallipro) to energy- and protein-reduced diet on growth performance, nutrient digestibility, and meat quality and gas emission in broilers. *Poult Sci*. 2019;98(5):2169–2178. [doi: 10.3382/ps/pey573](https://doi.org/10.3382/ps/pey573) PMID: 30615142
4. Liu N, Ru Y. Effect of phytate and phytase on the ileal flows of endogenous minerals and amino acids for growing broiler chickens fed purified diets. *Anim Feed Sci Technol*. 2010;156(3–4):126–130. [doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.01.008](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.01.008)
5. Rahimi ZS, Modirsanei M, Mansoori B, Rezaeian M, Farkhoy M, Honarзад J. The influence of enzymatic pre-treatment of corn or soybean meal on their phytate content under different in vitro conditions. *Iran J Vet Med*. 2017;11(4):323–335. [doi: 10.22059/ijvm.2017.230602.1004802](https://doi.org/10.22059/ijvm.2017.230602.1004802)
6. Eltahan HM, Cho S, Rana MM, Saleh AA, Elkomy AE, Wadaan MAM, et al. Dietary exogenous phytase improves egg quality, reproductive hormones, and prolongs the lifetime of the aging Hy-Line brown laying hens fed nonphytate phosphorus. *Poult Sci*. 2023;102(9):102895. [doi: 10.1016/j.psj.2023.102895](https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102895) PMID: 37441904
7. Imuetinyan II, Ien-Oa IJ. Ileal phosphorus digestibility in broiler chickens fed low calcium and phosphorus diets supplemented with phytase and cholecalciferol. *Acta Sci Vet Sci*. 2024;6(2):79–84. [doi: 10.31080/asvs.2024.06.0818](https://doi.org/10.31080/asvs.2024.06.0818)
8. Nari N, Ghasemi HA. Growth performance, nutrient digestibility, bone mineralization, and hormone profile in broilers fed with phosphorus-deficient diets supplemented with butyric acid and *Saccharomyces boulardii*. *Poult Sci*. 2020;99(2):926–935. [doi: 10.1016/j.psj.2019.10.046](https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.046) PMID: 32029169
9. Rasoli S, Aliakbarpour HR, Hosseini S. Comparative study of the effects of different sources of phytase on growth performance, blood parameters, along with bone and carcass characteristics of male broilers. *J Vet Res*. 2022;76(4):421–431. [doi: 10.22059/jvr.2022.326829.3174](https://doi.org/10.22059/jvr.2022.326829.3174)
10. Ahmadi M, Ghasemi HA, Hajkhodadadi I, Khaligh F. Effect of an *Escherichia coli*-derived phytase and a carbohydrase–protease cocktail derived from *Bacillus* spp. on performance, digestibility, bone mineralization and gut morphology in broilers fed different nutrient density diets. *Vet Med Sci*. 2024;10:e1344. [doi: 10.1002/vms3.1344](https://doi.org/10.1002/vms3.1344) PMID: 38227704
11. Liu Y, Zhang K, Zhang Y, Bai S, Ding X, Wang J, et al. Effects of graded levels of phytase supplementation on growth performance, serum biochemistry, tibia mineralization, and nutrient utilization in Pekin ducks. *Poult Sci*. 2020;99(10):4845–4852. [doi: 10.1016/j.psj.2020.06.047](https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.047) PMID: 32988521
12. Moss AF, Khoddami A, Chrystal PV, Sorbara JB, Cowieson AJ, Selle PH, et al. Starch digestibility and energy utilisation of maize- and wheat-based diets is superior to sorghum-based diets in broiler chickens offered diets supplemented with phytase and xylanase. *Anim Feed Sci Technol*. 2020;264:114475. [doi: 10.1016/j.anifeedsci.2020.114475](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114475)
13. Mansoori B, Modirsanei M. Effect of dietary available phosphorus and phytase on production performance of old laying hens and tibia bone quality. *Iran J Vet Med*. 2015;9(2):125–134 [doi: 10.22059/ijvm.2015.54011](https://doi.org/10.22059/ijvm.2015.54011)
14. Cheng X, Ning Z. Research progress on bird eggshell quality defects: a review. *Poult Sci*. 2023;102:102283. [doi: 10.1016/j.psj.2022.102283](https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102283) PMID: 36399932
15. Akbari Moghaddam Kakhki R, Christy RJ, Kim HS, Habibian M, Adewole D, Kiarie EG, et al. Effect of organic or inorganic mineral premix in the diet on laying performance of aged laying hens and eggshell quality. *Poult Sci*. 2022;101(12):102122. [doi: 10.1016/j.psj.2022.102122](https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102122) PMID: 36167016

16. Qiu J, Sun W, Wang Z, Wei C, Wu C, Jiang S. Effects of replacing inorganic with organic trace minerals in laying hens on performance, egg quality, mineral retention, and antioxidant status. *Food Chem.* 2021;365:130481. [doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130481](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130481) PMID: 34237566
17. Hao X, Lu Y, Wang Z, Zhang J, Li J, Li Y. Interactive effects of vitamins A and K3 on laying performance, egg quality, tibia attributes and antioxidative status of aged Roman Pink laying hens. *Anim Feed Sci Technol.* 2023;305:115734. [doi: 10.1016/j.anifeedsci.2023.115734](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115734)
18. Sun W, Zhang H, Qiu J, Liu J, Wang Z, Jiang S. Effect of dietary boric acid and vitamin D₃ on laying performance, egg quality, and yolk fatty acid composition of laying hens. *Biol Trace Elem Res.* 2024;202(1):321–331. [doi: 10.1007/s12011-024-04121-8](https://doi.org/10.1007/s12011-024-04121-8) PMID: 38424327
19. Selle PH, Ravindran V. Microbial phytase in poultry nutrition. *Anim Feed Sci Technol.* 2007;135:1-41. [doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.06.010](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.010)
20. Cowieson AJ, Wilcock RP, Bedford MR. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *World's Poult Sci J.* 2011;67:225–236. [doi: 10.1017/S0043933911000250](https://doi.org/10.1017/S0043933911000250)
21. AOAC. International Official methods of analysis of AOAC International, 18th edn. Gaithersburg (MD), USA. 2006. p. 2590
22. Eisen EJ, Bohren BB, McKean HE. The Haugh unit as a measure of egg albumen quality. *Poult Sci.* 1962;41(5):1461–1468. [doi: 10.3382/ps.0411461](https://doi.org/10.3382/ps.0411461)
23. Li F, Zhang LM, Wu XH, Li CY, Yang XJ, Dong Y, et al. Effects of metabolizable energy and balanced protein on egg production, quality, and components of Lohmann Brown laying hens. *J Appl Poult Res.* 2013;22:36–46. [doi: 10.3382/japr.2012-00568](https://doi.org/10.3382/japr.2012-00568)
24. Dijkslag MA, Kwakkel RP, Martin-Chaves E, Alfonso-Carrillo C, Navarro-Villa A. Long-term effects of dietary calcium and phosphorus level, and feed form during rearing on egg production, eggshell quality, and bone traits in brown laying hens from 30 to 89 wk of age. *Poult Sci.* 2023;102:102618. [doi: 10.1016/j.psj.2023.102618](https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102618) PMID: 36972675
25. Pirzado SA, Liu G, Purba MA, Cai H. Enhancing the production performance and nutrient utilization of laying hens by augmenting energy, phosphorus, and calcium deficient diets with fungal phytase (*Trichoderma reesei*) supplementation. *Animals.* 2024;14:376. [doi: 10.3390/ani14030376](https://doi.org/10.3390/ani14030376)
26. An SH, Kim DW, An BK. Effects of dietary calcium levels on productive performance, eggshell quality and overall calcium status in aged laying hens. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2016;29:1477–1482. [doi: 10.5713/ajas.15.0655](https://doi.org/10.5713/ajas.15.0655) PMID: 26954217
27. Attia YA, Al Harthi MA, El Maaty HMA. Calcium and cholecalciferol levels in late-phase laying hens: effects on productive traits, egg quality, blood biochemistry, and immune responses. *Front Vet Sci.* 2020;7:389. [doi: 10.3389/fvets.2020.00389](https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00389) PMID: 32850998
28. Guo S, Niu J, Xv J, Fang B, Zhang Z, Zhao D, et al. Interactive effects of vitamins A and K₃ on laying performance, egg quality, tibia attributes and antioxidative status of aged Roman Pink laying hens. *Animal.* 2021;15(6):100242. [doi: 10.1016/j.animal.2021.100242](https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100242) PMID: 34091224
29. Ghasemi HA, Hajkhodadadi I, Hafizi M, Fakharzadeh S, Abbasi M, Kalanaky S, et al. Effect of advanced chelate compounds-based mineral supplement in laying hen diet on the performance, egg quality, yolk mineral content, fatty acid composition, and oxidative status. *Food Chem.* 2022;366:130636. [doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130636](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130636) PMID: 34314929
30. National Research Council. Nutrient requirements of poultry (9th rev. ed.). Washington, (DC), USA: National Academies Press. 1994. p.176.
31. Nie W, Yang Y, Yuan J, Wang Z, Guo Y. Effect of dietary nonphytate phosphorus on laying performance and small intestinal epithelial phosphate transporter expression in Dwarf pink-shell laying hens. *J Animal Sci Biotechnol.* 2013;4:34. [doi: 10.1186/2049-1891-4-34](https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-34)

32. Li A, Hu H, Huang Y, Yang F, Mi Q, Jin L, et al. Effects of dietary metabolizable energy level on hepatic lipid metabolism and cecal microbiota in aged laying hens. *Poult Sci.* 2024;103(7):103855. [doi: 10.1016/j.psj.2024.103855](https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103855) [PMID: 38796988](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38796988/)
33. Khatibi SMR, Zarghi H, Golian A. Effect of diet nutrients density on performance and egg quality of laying hens during the post-peak production phase of the first laying cycle under subtropical climate. *Ital J Anim Sci.* 2021;20:559–570. [doi: 10.1080/1828051x.2021.1900753](https://doi.org/10.1080/1828051x.2021.1900753)
34. Muir WI, Akter Y, Bruerton K, Groves PJ. The influence of hen size and diet nutrient density in early lay on hen performance, egg quality, and hen health in late lay. *Poult Sci.* 2022;101:102041. [doi: 10.1016/j.psj.2022.102041](https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102041) [PMID: 35233095](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35233095/)
35. Sun HY, Kim IH. Effects of microbial phytase supplementation on egg production and egg quality in Hy-line brown hens during the late laying period. *J Poult Sci.* 2021;58(3):171–176. [doi: 10.2141/jpsa.0200001](https://doi.org/10.2141/jpsa.0200001) [PMID: 34447281](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34447281/)
36. Li D, Ding X, Bai S, Wang J, Zeng Q, Peng H, et al. Effects of supplementation of 25-hydroxyvitamin D₃ as a vitamin D₃ substitute on performance, bone traits, and egg quality of laying hens from 1 day to 72 weeks of age. *Agriculture.* 2023;13:383. [doi: 10.3390/agriculture13020383](https://doi.org/10.3390/agriculture13020383)
37. Elnesr SS, Mahmoud BY, da Silva Pires PG, Moraes P, Elwan HAM, El-Shall NA, et al. Trace minerals in laying hen diets and their effects on egg quality. *Biol Trace Elem Res.* 2024;202(12):5664–5679. [doi: 10.1007/s12011-024-04121-8](https://doi.org/10.1007/s12011-024-04121-8) [PMID: 38424327](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38424327/)
38. Zhao J, Chen J, Zhao G, Zheng M, Jiang R, Wen J. Live performance, carcass composition, and blood metabolite responses to dietary nutrient density in two distinct broiler breeds of male chickens. *Poult Sci.* 2009;88(12):2575–2584. [doi: 10.3382/ps.2009-00245](https://doi.org/10.3382/ps.2009-00245) [PMID: 19903956](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19903956/)
39. Bar A. Calcium transport in strongly calcifying laying birds: Mechanisms and regulation. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2009;152:447–469. [doi: 10.1016/j.cbpa.2008.11.020](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.11.020) [PMID: 19118637](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19118637/)
40. Majdolhosseini L, Ghasemi HA, Hajkhodadadi I, Moradi MH. Nutritional and physiological responses of broiler chickens to dietary supplementation with de-oiled soybean lecithin at different metabolisable energy levels and various fat sources. *Br J Nutr.* 2019;122(8):863–872. [doi: 10.1017/S000711451900182X](https://doi.org/10.1017/S000711451900182X) [PMID: 31599223](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31599223/)
41. Nemati M, Ghasemi HA, Hajkhodadadi I, Moradi MH. De-oiled soy lecithin positively influenced growth performance, nutrient digestibility, histological intestinal alteration, and antioxidant status in turkeys fed with low energy diets. *Br Poult Sci.* 2021;62(6):858–867. [doi: 10.1080/00071668.2021.1943312](https://doi.org/10.1080/00071668.2021.1943312) [PMID: 34142909](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34142909/)
42. Sajadi Hezaveh MS, Ghasemi HA, Hajkhodadadi I, Moradi MH. Single and combined effects of phytase and citric acid on growth performance, nutrient digestibility, bone characteristics, intestinal morphology, and blood components in meat-type quails fed low-phosphorous diets. *Anim Feed Sci Technol.* 2020;269:114677. [doi: 10.1016/j.anifeedsci.2020.114677](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114677)
43. Lim CI, Ryu KS. Interactive effect of dietary levels of calcium and 25-hydroxy vitamin D₃ on the performance, serum biochemical concentration and digestibility of laying hens from 61 to 70 weeks of age. *Anim Biosci.* 2022;35(9):1426–1433. [doi: 10.5713/ab.22.0003](https://doi.org/10.5713/ab.22.0003) [PMID: 35507839](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35507839/)
44. Sinclair-Black M, Garcia-Mejia RA, Ellestad LE. Physiological regulation of calcium and phosphorus utilization in laying hens. *Front Physiol.* 2023;14:1112499. [doi: 10.3389/fphys.2023.1112499](https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1112499) [PMID: 36824471](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36824471/)
45. Waters CA, Wamsley KGS, Elliot MA, Bedford MR, Wyatt C, Kim WK, et al. The response of laying hen production, performance, bone health, and inositol levels to limestone particle size ratios and phytase levels supplemented during the post-peak period (40–60 wk of age). *J Appl Poult Res.* 2024;33:100407. [doi: 10.1016/j.japr.2024.100407](https://doi.org/10.1016/j.japr.2024.100407)