

## اثر استفاده سطوح مختلف منابع آلی (کیلات با متیونین) و معدنی (سولفات منگنز) بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و متابولیت‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار سویه های-لاین W36 در شرایط تنش گرمایی

علیرضا خامسی<sup>۱</sup>، ایمان حاج خدادادی<sup>۲\*</sup>، حسینعلی قاسمی<sup>۲</sup> و مهدی خدایی مطلق<sup>۲</sup>  
۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اراک  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۳)

### چکیده

در این تحقیق تأثیر دو نوع منبع (آلی-متیونینه و معدنی-سولفات) و سه سطح منگنز (۲۵، ۹۰ و ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ و فراسنجه‌های خونی در مرغ تخم‌گذار نژاد های-لاین W36 در شرایط تنش گرمایی مورد مطالعه قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل افزایش؛ ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز سولفات (تیمار ۱)، ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز سولفات (تیمار ۲)، ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز سولفات (تیمار ۳)، ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز آلی (تیمار ۴)، ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز آلی (تیمار ۵) و ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز آلی (تیمار ۶)، به جیره پایه بودند. در این آزمایش از ۳۶۰ قطعه مرغ تخم‌گذار در سن ۲۲ هفته‌گی و به صورت فاکتوریل ۲×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ۶ تیمار و ۴ تکرار (۱۵ پرنده در هر تکرار) استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که در مورد صفات تولیدی، منبع منگنز تأثیری بر درصد تولید نداشت، ولی افزایش سطح منگنز منجر به بهبود درصد تولید، ضریب تبدیل غذایی و توده تخم‌مرغ تولیدی گردید. استفاده از مکمل آلی و یا افزایش سطح منگنز، مصرف خوراک را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. منبع و سطح منگنز تأثیر معنی‌داری بر وزن سفیده و زرده تخم‌مرغ نداشتند، ولی سطح منگنز بر وزن پوسته، ارتفاع سفیده، منگنز و فسفر خون تأثیر معنی‌داری داشت. اگرچه منبع منگنز بر متابولیت‌های خون تأثیر نداشت، اما فعالیت سوپراکسید دسموتاز سرم در گروه‌هایی که منگنز آلی مصرف کردند، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی، مکمل جیره با منگنز با سطح ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌خصوص از منبع کیلاته متیونین منجر به بهبود صفات عملکردی و به‌ویژه کیفیت پوسته تخم‌مرغ در فاز اول تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار تحت شرایط تنش گرمایی گردید.

واژه‌های کلیدی: تنش حرارتی، درصد تولید، منگنز آلی، منگنز معدنی، مرغ تخم‌گذار.

## Evaluation of different levels of organic (met-Mn) and inorganic (MnSO<sub>4</sub>) form of Mn on performance, egg quality and blood metabolites of Hy line W36 layer hen under heat stress condition

Alireza Khamesi<sup>1</sup>, Iman Hajkhodadadi<sup>2\*</sup>, Hossein Ali Ghasemi<sup>2</sup> and Mahdi Khodaei Motlagh<sup>2</sup>  
1, 2. M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Animal Science, Arak University, Arak, Iran  
(Received: Oct. 24, 2020 - Accepted: Feb. 22, 2021)

### ABSTRACT

In this study, the effect of two sources (met-Mn and MnSO<sub>4</sub>) and three-level of manganese (25, 90, 135 mg/Kg) was evaluated on performance, egg quality and blood parameters in Hy-line w36 laying hens under heat stress condition. The experimental treatments contained basal diet with; 25 mg/Kg MnSO<sub>4</sub> (treatment 1), 90 mg/Kg MnSO<sub>4</sub> (treatment 2), 135 mg/Kg MnSO<sub>4</sub> (treatment 3), 25 mg/Kg met-Mn (treatment 4), 90 mg/Kg met-Mn (treatment 5), or 135 mg/Kg met-Mn (treatment 6). A total of 360 hens, 22 weeks of age, were used in a 2×3 factorial arrangement in a completely randomized design with 6 treatments and 4 replicates (15 hens per replicate). Our results showed that Mn source had no significant effect on production traits but higher Mn level significantly improved egg production, feed conversion and egg mass (P<0.05). The use of organic source or increasing dietary Mn level significantly decreased feed intake (P<0.05). The sources and levels of dietary had no significant effect on the weights of egg white and yolk, but the level of Mn had significant effect on shell weight, albumin height, and serum Mn and phosphorus. Although Mn source did not affect the blood metabolites, but the serum superoxide dismutase activity significantly increased in groups that consumed organic Mn (P<0.05). In conclusion, supplementary Mn at 135 mg/kg from any source especially chelated form, may increase production performance and egg quality traits in the early pre-peak production phase of laying hen, under heat stress condition.

**Keywords:** Heat Stress, Laying hen, Organic Manganese, Production Performance.

\* Corresponding author E-mail: iman.hajkhodadadi@gmail.com

### مقدمه

دمای محیطی بالا یک نگرانی عمده در صنعت پرورش طیور می‌باشد. مصرف خوراک، وزن بدن، تلفات، خصوصیات لاشه و دیگر ویژگی‌های مهم در موفقیت صنعت طیور، به‌طور منفی تحت تأثیر تنش گرمایی قرار می‌گیرد (Klasing, 2007). از دست دادن گرما در طیور به‌واسطه وجود چربی‌ها و فقدان غده‌های عرق محدود است. هنگامی که دما و رطوبت نسبی از سطح آسایش پرنده بالاتر رود، پرنده توانایی‌اش را برای این‌که به‌طور مؤثری گرما را پراکنده سازد، از دست می‌دهد. این امر منجر به تغییرات فیزیولوژیکی می‌شود که با تغییر در وضعیت هورمون‌ها و کاهش در مصرف خوراک به منظور کاهش گرما همراه است (Belay & Teeter, 1996). بنابراین تنش ممکن است کمبود ویتامین‌ها و مواد معدنی را تشدید کرده یا ممکن است منجر به افزایش نیاز به مواد معدنی و ویتامین‌ها شود (Mcdowell, 2003). در آزمایشی گزارش شد که دمای محیطی بالا نرخ ابقای کلسیم، آهن، پتاسیم، سدیم و روی را در طیور گوشتی کاهش می‌دهد (El-Husseiny & Creger, 2012). نقش مکمل‌های جیره غذایی از قبیل ویتامین‌ها برای تخفیف آثار ناشی از تنش گرمایی در طیور به‌طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است (Rozenboim *et al.*, 2007).

منگنز به فرم‌های مختلف یکی از بهترین مواد مغذی است که نه تنها مقاومت پرنده را در برابر گرما بالا می‌برد، بلکه جزو مواد تغذیه‌ای ضروری است که بدن طیور به آن نیاز دارد. کمپلکس‌های ترکیبات آلی منگنز حاوی یک اتم فلز مرکزی همراه با لیگاند (به عنوان مثال پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه) هستند. اشکال آلی عناصر که محافظت شده‌اند روی عملکرد، سوخت و ساز و وضعیت پرنده و همچنین زیست‌فراهمی اثر مثبت دارند (Swinkels *et al.*, 1994). مطالعات بسیاری به بررسی اثر تنش‌های محیطی بر تغییر نیاز به عناصر کم نیاز پرداخته است. نگاه کلی اغلب این تحقیقات بر این امر استوار است که تنش‌های محیطی از طرق مختلف می‌تواند نیاز پرنده را تغییر دهند. ثابت شده است که تنش محیطی به‌ویژه تنش گرمایی منجر به آثار مضر بر عملکرد پرنده می‌گردد. (Inal *et al.*, 2001) بیان کردند که سطح ۲۵

میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز در جیره برای حفظ مقادیر بهینه تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک کفایت می‌کند، اما نیاز پرندگان تخم‌گذار به منگنز برای کیفیت بهینه پوسته خیلی بیشتر است. همچنین در مطالعه Gheisari *et al.* (2011)، کاهش سطوح مکمل روی و منگنز در جیره غذایی به‌ترتیب از ۶۵ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به میزان ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (از منابع سولفات) اثر منفی کمی روی عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار داشت. در تحقیقی در مورد بررسی منگنز بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار نشان داده شد که منگنز به‌علت نقش کوفاکتوری در آنزیم‌های سازنده موکوپلی‌ساکاریدها نقش مهمی در عملکرد و به‌ویژه کیفیت تخم‌مرغ دارد (Swiatkiewicz & Koreleski, 2008). همچنین در تحقیقی دیگر بیان گردید که افزایش سطح منگنز از ۴۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره در دوره دوم تولید موجب بهبود عملکرد تولیدی و کیفیت تخم‌مرغ می‌گردد (Fassani *et al.*, 2000). با این‌حال، براساس مطالعات ما پژوهش‌های کمی در رابطه با بررسی اثر فرم‌های مختلف منگنز بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار به‌ویژه تحت شرایط تنش حرارتی تابستان انجام شده است. به این ترتیب مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر استفاده از منابع (آلی و معدنی) و سطوح مختلف عنصر کم نیاز منگنز در جیره غذایی بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ و متابولیت‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار سویه های‌لاین W36 در شرایط تنش حرارتی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

جهت انجام آزمایش قفسه‌ها به‌طور تصادفی بین تیمارهای آزمایشی توزیع شدند و دانخوری هر قفس توسط جداکننده از قفس‌های مجاور جدا گردید، به گونه‌ای که مرغ‌های هر قفس تنها به جیره خاص خود دسترسی داشتند. در زمان شروع آزمایش، پرنده‌ها در سن ۲۲ هفتگی قرار داشتند و طول دوره آزمایش به‌مدت ۸۳ روز معادل ۱۲ هفته تولیدی بود. روشنایی سالن توسط لامپ‌های ۶۰ واتی تأمین می‌شد. برنامه نوری نیز به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت خاموشی در نظر گرفته شده بود. خوراک روزانه سه مرتبه ساعت ۴، ۹ و ۱۴ به‌صورت دستی بین پرنده‌ها

توصیه شده کاتالوگ (۹۰ میلی گرم در کیلوگرم)، و تیمار ۶ شامل فرم آلی منگنز - ۵۰ درصد بالاتر از سطح توصیه شده کاتالوگ پرورشی (۱۳۵ میلی گرم در کیلوگرم).

سطح انرژی و پروتئین قابل دسترس و سدیم در تمام جیره ها یکسان بود. تخم مرغها به صورت روزانه و در ساعت مشخصی جمع آوری و توزین می شدند. جیره های آزمایشی براساس احتیاجات مندرج در راهنمای پرورش مرغ تخم گذار سویه های لاین دلیو ۳۶ (Hy-line W36) برای همه مواد مغذی به جز منگنز تنظیم شدند. کلیه جیره ها بر پایه ذرت-سویا بود. جیره های آزمایش در این تحقیق فقط از لحاظ نوع و سطح منگنز مورد استفاده در مکمل معدنی با هم تفاوت داشتند. پرنده ها در طول آزمایش در شرایط دمایی تابستان پرورش یافتند، به طوری که دما بین ساعات ۹ الی ۱۶، تابعی از دمای محیط در شرایط پرورش تابستانی با میانگین دمای  $29 \pm 0.1$  درجه سانتی گراد و رطوبت ۲۵ درصد بود. در کاتالوگ پرورشی تأمین گردید (Rozenboim *et al.*, 2007).

توزیع می شد. تعداد ۳۶۰ مرغ تخم گذار نژاد های-لاین دلیو ۳۶ (Hy line w36) در یک آزمایش فاکتوریل  $2 \times 3$  در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۶ تیمار و ۴ تکرار تخصیص داده شدند. هر تکرار شامل ۵ قفس و هر قفس حاوی ۳ قطعه مرغ بود. دو فاکتور مورد مطالعه شامل دو نوع منگنز آلی (کیلات منگنز با میتونین) و منگنز معدنی (سولفات منگنز) بود که هر یک در سه سطح ۲۵، ۹۰ و ۱۳۵ میلی گرم در کیلوگرم جیره پایه که به ترتیب سطح پیشنهادی NRC 1994، مقدار توصیه شده کاتالوگ شرکت و ۱۵۰ درصد مقدار توصیه شده کاتالوگ بود، استفاده شدند.

بدین ترتیب تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از تیمار ۱ شامل فرم معدنی منگنز- سطح توصیه شده NRC (۲۵ میلی گرم در کیلوگرم)، تیمار ۲ شامل فرم معدنی منگنز- سطح توصیه شده کاتالوگ (۹۰ میلی گرم در کیلوگرم)، تیمار ۳ شامل فرم معدنی منگنز - ۵۰ درصد بالاتر از سطح توصیه شده کاتالوگ پرورشی (۱۳۵ میلی گرم در کیلوگرم)، تیمار ۴ شامل فرم آلی منگنز- سطح توصیه شده NRC (۲۵ میلی گرم در کیلوگرم)، تیمار ۵ شامل فرم آلی منگنز- سطح

جدول ۱. ترکیبات مواد خوراکی و اجزای شیمیایی جیره های آزمایشی در تیمارهای مختلف

Table 1- Ingredient and chemical composition of the experimental diets

Ingredients (g/kg)	Diet min	Diet min	Diet min	Diet Org	Diet Org	Diet Org
	Mn25	Mn90	Mn135	Mn25	Mn90	Mn135
Corn	451.36	451.36	451.36	451.36	451.36	451.36
Soybean meal (44% cp)	339.00	339.00	339.00	339.00	339.00	339.00
Di-calcium phosphate	21.60	21.60	21.60	21.60	21.60	21.60
Wheat bran	57.04	57.04	57.04	57.04	57.04	57.04
Calcium carbonate	115.20	115.20	115.20	115.20	115.20	115.20
Sodium chloride	4.90	4.90	4.90	4.90	4.90	4.90
DL-Met	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20
Lysine	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Threonine	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Vitamin premix <sup>1</sup>	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Mineral mineral <sup>2</sup>	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Sand as inert filler (mg/kg)	1573.20	1356.50	1256.50	1349.76	552.00	---
Mnso <sub>4</sub> (mg/kg)	83.30	300	400	---	---	---
Met-Mn (mg/kg)	---	---	---	306.74	1104.50	1656.50
Calculated composition						
AME, kcal/kg	2800	2800	2800	2800	2800	2800
CP, g/kg	19.20	19.20	19.20	19.20	19.20	19.20
Calcium, g/kg	4.94	4.94	4.94	4.94	4.94	4.94
Available Phosphor, g/kg	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58
Sodium, g/kg	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
Lys, g/kg	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05	1.05
Met, g/kg	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91
Thr, g/kg	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79
Manganese, mg/kg (Analyzed) <sup>3</sup>	23.5	85.4	133.20	22.6	88.4	132.77

۱ و ۲. هر کیلوگرم خوراک حاوی ۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۳۳۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D، ۲۰۰۰۰ میلی گرم ویتامین E، ۲۵۰۰ میلی گرم ویتامین K، ۲۳ میلی گرم کوبالامین، ۲۵۰۰ میلی گرم تیامین، ۵۵۰۰ میلی گرم ریبولفلاوین، ۸۰۰۰ میلی گرم پانتوتنیک اسید، ۳۰۰۰۰ میلی گرم نیاسین، ۴۰۰۰ میلی گرم پیریدوکسین، ۷۵ میلی گرم بیوتین و ۱۱۰ گرم کولین کلراید بود. ۲. هر کیلوگرم خوراک حاوی ۹۰ گرم منگنز، ۸۰ گرم روی، ۴۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۱/۲ گرم ید، و ۰/۲۳ گرم سلنیوم بود.

۳. آنالیز در هر نمونه با ۲ بار تکرار صورت گرفت.

1, 2. Supplied per kg diet: Vitamin A, 8000000 IU; vitamin D3, 3300000 IU; vitamin E, 20000 mg; vitamin K, 2500 mg; cobalamin, 23 mg; vitamin B1 (thiamine), 2500 mg; vitamin B2 (riboflavin), 5500 mg; pantothenic acid, 8000 mg; niacin, 3000 mg; vitamin B6 (pyridoxine), 4000 mg; biotin, 75 mg; choline chloride, 110 mg; Mn, 90 g; Zn, 80 g; Fe, 40 g; Cu, 8 g; I, 2.1 g; Se, 8 g.

3. Each sample was analyzed in two replicate.

نیز در سه نقطه از آن (منطقه کیسه هوایی، وسط و ناحیه باریک تخم مرغ) و به وسیله ریزسنج<sup>۳</sup> اندازه گیری شد و میانگین این سه عدد برای آنالیز داده ها استفاده گردید. ارتفاع سفیده (در سه نقطه و به فاصله نیم سانتی متر از زرده) با کولیس اندازه گیری و واحد هاو با استفاده از رابطه مربوطه محاسبه گردید (Rozenboim *et al.*, 2007).

#### فراسنجه های خونی و آنزیم های آنتی اکسیدانی

در پایان دوره آزمایش از هر واحد آزمایشی یک پرندۀ به صورت تصادفی انتخاب و نمونه های خون (۶ ساعت قبل از خوراک دهی) با استفاده از سرنگ های ۲ میلی لیتری، از ورید بال جمع آوری و در لوله های آزمایشی شماره گذاری شده بدون هیپارین، برای بدست آوردن سرم ریخته شد. نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و پلاسما ی سرم حاصل در اپندورف های شماره گذاری شده ریخته شده و تا زمان انتقال به آزمایشگاه در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند. سپس نمونه ها جهت تعیین فراسنجه های بیوشیمیایی به آزمایشگاه منتقل شدند. فراسنجه های سرم خون شامل کلسترول کل، تری گلیسرید، لیپوپروتئین های با چگالی بالا (HDL)، فعالیت آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، گلوبولین، آلبومین، پروتئین کل و آنزیم های آنتی اکسیدانی شامل گلوتاتیون پراکسیداز و سوپر اکسید دسموتاز بودند که با کیت های پارس آزمون ساخت ایران و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر هیتاچی (Auto Analyzer Hitachi 717)، ساخت ژاپن اندازه گیری شدند (Neijat *et al.*, 2014).

#### آنالیز آماری

در ابتدا نرمال بودن داده های جمع آوری شده توسط نرم افزار آماری SAS مورد بررسی قرار گرفت، سپس با استفاده از رویه MIX به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + (A \times B)_{ij} + e_{ijkl}$$

صفات مورد بررسی در این آزمایش شامل صفات عملکردی (درصد تولید تخم مرغ، میانگین وزن تخم مرغ، میزان خوراک مصرفی، بازده تولید تخم مرغ، ضریب تبدیل غذایی، توده تخم مرغ، درصد تخم مرغ های غیر طبیعی و وزن توده بدن)، صفات کیفیت تخم مرغ (وزن سفیده و زرده، وزن پوسته، ارتفاع سفیده و واحد هاو) بودند.

منگنز مورد استفاده در این تحقیق در فرم معدنی به صورت سولفات منگنز با فرمول شیمیایی  $MnSO_4 \cdot H_2O$  بود، که منگنز به فرم خالص در ساختار آن وجود داشت. فرم آلی منگنز مورد استفاده به صورت کیلات منگنز با متیونین بود که مقدار ۷ درصد منگنز به صورت خالص در ساختار آن وجود داشت. در هر دو مکمل مقدار خالص منگنز برای ایجاد مقادیر موجود در تیمارهای آزمایشی مورد محاسبه و استفاده قرار گرفت.

#### صفات عملکردی

تولید در هر واحد آزمایشی به صورت هفتگی ثبت شده و براساس تعداد پرندۀ به صورت درصد محاسبه شد. دان باقیمانده در داخل دانخوری های مربوط به هر واحد آزمایشی نیز در پایان هر هفته به دقت توزین و از کل غذاهای داده شده در طول یک دوره کسر گردید تا میزان خوراک مصرفی هر واحد آزمایشی در طول یک دوره به دست آید. ضریب تبدیل غذایی نیز برای هر دوره محاسبه شد.

#### صفات کیفی

در پایان هر دوره ۲۱ روزه، ۶ عدد تخم مرغ از هر واحد آزمایشی برای اندازه گیری صفات کیفی شامل ضخامت پوسته، واحد هاو<sup>۱</sup>، استحکام پوسته و وزن پوسته به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه وزن تخم مرغ (گرم)، ضخامت پوسته (میلی متر)، وزن زرده (گرم)، وزن سفیده (گرم)، ارتفاع سفیده (میلی متر)، و وزن پوسته (گرم) اندازه گیری گردید. ضخامت تخم مرغ، با استفاده از کولیس<sup>۲</sup> اندازه گیری شد. ضخامت پوسته

3. Cantilever system (Teclock Ogawa Seiki Co., Tokyo, Japan)

1. Haugh Unit

2. Calliper (Mitutoyo 531-129 Series 531, Kawasaki, Japan)

جدول ۲ ارائه شده است. مقایسه درصد تولید تخم مرغ، بین تیمارهای مختلف آزمایشی نشان داد که منبع منگنز مورد استفاده تأثیر معنی داری بر این صفت نداشت ( $P > 0.05$ )، ولی سطح منگنز مورد استفاده منجر به تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی گردید ( $P < 0.05$ )، بدین صورت که سطح ۱۳۵ میلی گرم در کیلوگرم منگنز در مقایسه با دو سطح ۲۵ و ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم موجب افزایش درصد تولید شد. اثر دوره در مورد این صفت معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). اثر متقابل منبع در سطح، منبع در دوره، سطح در دوره و اثر متقابل سه گانه نیز در مورد این صفت معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). در مورد توده تخم مرغ طی دوره‌های مختلف، منبع منگنز تأثیر معنی داری را نشان نداد ( $P > 0.05$ )، ولی سطح منگنز مورد استفاده منجر به تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی گردید ( $P > 0.05$ )، بدین صورت که سطح ۱۳۵ میلی گرم در کیلوگرم منجر به توده تخم مرغ بالاتری نسبت به ۲۵ و ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم گردید. با افزایش دوره آزمایش توده تخم مرغ تولیدی به طور معنی دار افزایش یافت. آثار متقابل موجود در هیچ موردی معنی دار نبودند ( $P > 0.05$ ).

در مورد صفاتی که چندین بار در طول آزمایش اندازه گیری شده بودند، آنالیز به صورت تکرار شده در زمان انجام گردید. مدل آماری مورد استفاده در آزمایش به صورت زیر بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + P_k + (A \times B)_{ij} + (A \times P)_{ik} + (B \times P)_{jk} + (A \times B \times P)_{ijk} + e_{ijkl}$$

در فرمول‌های بالا،  $Y_{ij}$  = مقدار هر مشاهده،  $\mu$  = میانگین کل،  $A_i$  = اثر منبع منگنز،  $B_j$  = اثر سطح استفاده،  $P_k$  = اثر دوره آزمایش،  $(A \times B)_{ij}$  = اثر متقابل بین منبع و سطح،  $(A \times P)_{ik}$  = اثر متقابل بین منبع و دوره،  $(B \times P)_{jk}$  = اثر متقابل بین سطح و دوره،  $(A \times B \times P)_{ijk}$  = اثر متقابل بین منبع و سطح و دوره،  $e_{ijkl}$  = اثر باقیمانده (اشتباه آزمایشی). بررسی معنی دار بودن اختلافات بین میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون مقایسه‌ای توکی در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج مربوط به بررسی اثر منبع و سطح منگنز مورد استفاده بر صفات عملکردی مثل درصد تولید، توده تخم تولیدی، وزن تخم مرغ، مصرف خوراک و ضریب تبدیل در

جدول ۲. اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر صفات عملکردی در مرغ‌های تخم‌گذارهای -لین دلبیو ۳۶ در سن ۲۲ تا ۳۴ هفتهگی

Table 2. The effect dietary treatments on performance traits of w36 layer hen at 22-34 weeks of age

Variables	Egg production (%)	Egg mass (g/h/d)	Egg weight (g)	Daily feed intake (g)	Feed conversion ratio (g/g)
Mn Source					
Organic	89.58	47.53	53.03	85.40 <sup>b</sup>	1.82
Mineral	91.66	48.70	53.11	87.58 <sup>a</sup>	1.81
SEM	0.823	0.62	0.51	0.245	0.025
Mn Level (mg/kg)					
25	86.71 <sup>b</sup>	45.96 <sup>b</sup>	52.93	86.78 <sup>a</sup>	1.90 <sup>a</sup>
90	89.45 <sup>b</sup>	47.84 <sup>b</sup>	53.51	86.89 <sup>a</sup>	1.83 <sup>ab</sup>
135	95.70 <sup>a</sup>	50.55 <sup>a</sup>	52.78	85.80 <sup>b</sup>	1.71 <sup>b</sup>
SEM	1.00	0.76	0.63	0.300	0.031
Week					
22-25 wks	88.54	45.31 <sup>c</sup>	51.06 <sup>b</sup>	79.00 <sup>b</sup>	1.71
25-28 wks	90.62	47.58 <sup>bc</sup>	52.48 <sup>ab</sup>	89.10 <sup>a</sup>	1.72
28-31 wks	92.18	49.51 <sup>ab</sup>	53.76 <sup>a</sup>	86.97 <sup>ab</sup>	1.78
31-34 wks	91.14	50.06 <sup>a</sup>	54.98 <sup>a</sup>	90.90 <sup>a</sup>	1.88
SEM	1.47	1.00	0.69	0.363	0.051
P-Value					
Mn Source	0.090	0.198	0.915	0.0001	0.855
Mn Level	0.0001	0.001	0.696	0.035	0.001
Week	0.417	0.008	0.001	0.000	0.114
Mn Source×Mn Level	0.103	0.106	0.542	0.414	0.150
Mn Source×Week	0.491	0.665	0.757	0.052	0.740
Mn Level×Week	0.373	0.538	0.327	0.231	0.498
Mn Source×Mn Level×Week	0.065	0.151	0.448	0.245	0.244

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار آماری در سطح ۰/۰۵ است. تعداد تکرار ۴. هر دوره بررسی شامل ۳ هفته.

a, b: mean value in a column not sharing a superscript are different at  $P < 0.05$ . Number of replicate=4. Each period containing 3 weeks.

کردند که سطح ۲۵ mg/kg منگنز در جیره برای مقادیر بهینه تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک کفایت می‌کند، اما برای کیفیت بهینه پوسته نیاز پرندگان تخم‌گذار خیلی بیشتر است. همچنین در مطالعه Gheisari *et al.* (2011)، کاهش سطح هر دو مکمل روی و منگنز به ترتیب از ۶۵ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی به ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (از منابع سولفات) اثر منفی کمی روی عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار داشت و افزایش معنی‌داری روی درصد تخم‌مرغ‌های شکسته از ۰/۳۳ درصد به ۱/۵۹ درصد مشاهده شد.

سطح و منبع منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر وزن تخم‌مرغ تولیدی در طول آزمایش نداشتند ( $P > 0/05$ )، ولی اثر دوره بر وزن تخم‌مرغ تولیدی معنی‌دار بود و با افزایش زمان وزن تخم‌مرغ تولیدی افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). در مورد وزن تخم‌مرغ اگرچه در تحقیق حاضر اندازه تخم‌مرغ تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت، همسو با نتایج حاضر در تحقیقی بیان شد که با جیره حاوی مکمل منگنز به فرم معدنی وزن تخم‌مرغ تحت تأثیر قرار نگرفت (Xiao *et al.*, 2015)، اما بیان شد که تأثیر این مکمل روی تراکم پوسته به مطالعه بیشتری نیاز دارد. مقایسه مصرف خوراک بین گروه‌های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. منبع و سطح منگنز بر مصرف خوراک تأثیر معنی‌داری نشان داد ( $P < 0/05$ )، همچنین اثر دوره بر مصرف خوراک در طول آزمایش معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). آثار متقابل مختلف در مورد مصرف خوراک معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ).

در مورد ضریب تبدیل غذایی برای تولید تخم‌مرغ، منبع منگنز تأثیر معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد ( $P > 0/05$ )، درحالی‌که سطح منگنز منجر به تفاوت معنی‌داری در ضریب تبدیل خوراک گردید؛ به طوری که با افزایش سطح از ۲۵ تا ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ضریب تبدیل به طور معنی‌داری بهبود یافت ( $P < 0/05$ ). در مطالعه Zhang *et al.* (2017)، با استفاده از تیمارهای حاوی منگنز آلی (اسید آمینه) و فرم سولفات منگنز در سطوح ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم برای مدت ۸ هفته، نشان داده شد که مصرف

اگرچه مطالعات متعددی به بررسی اثر عناصر کم نیاز بر عملکرد تولیدی پرند‌های مختلف در سنین متفاوت پرداخته‌اند، ولی بررسی منگنز در بسیاری از دوره‌های تولید تحقیقات محدودتری را شامل می‌شود (Stefanello *et al.*, 2014; Xiao *et al.*, 2014; 2015). به طور مثال، Sazzad (1994) گزارش کرد که منگنز موجود در جیره بر پایه ذرت-کنجاله سویا (۲۵mg/kg) برای حفظ عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط نرمال و مدیریت بهینه کافی است. این سطح پیشنهادی برای منگنز جیره همان سطح پیشنهاد شده توسط NRC (1994) بود. مطالعات متعددی نشان داد که در شرایط مدیریتی بهینه و بدون تنش محیطی مکمل کردن جیره غذایی با منگنز هیچ تأثیری روی عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار ندارد (Stefanello *et al.*, 2014; Xiao *et al.*, 2014). در بسیاری از مطالعات به بررسی اثر تنش‌های محیطی بر تغییر نیاز به عناصر کم نیاز پرداخته شده است. نگاه کلی اغلب این تحقیقات بر این امر استوار است که تنش‌های محیطی از طرق مختلف می‌تواند نیاز پرنده را تغییر دهد. ثابت شده است که تنش محیطی به‌ویژه تنش گرمایی آثار مضر بر عملکرد پرنده دارد و یکی از ابتدایی‌ترین این آثار کاهش مصرف خوراک است. کاهش مصرف خوراک پرنده به‌ویژه در طی تنش گرمایی منجر به دریافت کمتر کل مواد مغذی از جمله منگنز می‌گردد. لذا دریافت کمتر مواد مغذی به‌ویژه عناصر ممکن است تولید را در مرغ‌های پایان دوره با مخاطراتی همراه کند. در این تحقیق در شرایط تنش حرارتی نشان داده شد که صرف نظر از نوع منبع منگنز، سطح منگنز می‌تواند تأثیر بسیار مفیدی بر افزایش تولید در دوره پایانی تخم‌گذاری داشته باشد که با یافته محققین مختلف مطابقت داشت. در مقابل برخی مطالعات (Stefanello *et al.*, 2014; Xiao *et al.*, 2014; 2015)، نشان دادند جیره مکمل شده با سطوح بالاتر از حد نیاز منگنز معدنی، حتی با دوره تغذیه ۱۲ هفته، هیچ تأثیر معنی‌داری روی عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار نداشته است که با یافته‌های این تحقیق همخوانی نداشت. همسو با نتایج این تحقیق در مورد عملکرد پرنده‌ها Inal *et al.* (2001) بیان

تخم مرغ، وزن زرده تخم مرغ، وزن پوسته تخم مرغ و ارتفاع سفیده تخم مرغ، در جدول ۳ ارائه شده است. مقایسه وزن سفیده تخم مرغ، بین تیمارهای مختلف آزمایشی نشان داد که منبع منگنز مورد استفاده تأثیر معنی داری بر این صفت نداشت ( $P>0/05$ )، ولی سطح منگنز مورد استفاده، موجب تمایل به تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی گردید ( $P<0/05$ ). در مقابل، زمان یا دوره آزمایش تأثیر معنی داری بر این صفت نداشت ( $P>0/05$ ).

مقایسه تیمارهای مختلف آزمایشی نشان داد که منبع منگنز مورد استفاده تمایل به تأثیر معنی دار بر وزن زرده تخم مرغ داشت، ولی سطح منگنز مورد استفاده منجر به تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی نگردید ( $P>0/05$ )، زمان یا دوره آزمایش نیز تأثیر معنی داری بر این صفت نداشت ( $P>0/05$ ).

مقایسه وزن پوسته تخم مرغ، بین تیمارهای مختلف آزمایشی نشان داد که منبع منگنز مورد استفاده تأثیر معنی داری بر این صفت نداشت ( $P>0/05$ )، ولی سطح منگنز مورد استفاده تمایل به تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی گردید. زمان یا دوره آزمایش تأثیر معنی داری بر این صفت نداشت ( $P>0/05$ ).

خوراک، ضریب تبدیل غذایی و درصد تخم مرغ‌های شکسته تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار می‌گیرد و کمترین مصرف خوراک روزانه، تولید تخم مرغ، تولید توده تخم مرغ و درصد تخم مرغ‌های شکسته (تا ۱/۵ درصد) در گروه‌های حاوی مکمل معدنی منگنز در مقایسه با سطح پیشنهاد شده NRC مشاهده شد. جایگزینی کامل منابع اکسید روی و منگنز با منابع سولفاتشان مصرف خوراک و درصد تولید تخم مرغ را افزایش داد و در عوض درصد تخم مرغ‌های شکسته را نیز کاهش داد (از ۷۸ درصد به ۳۳ درصد). مشابه با این تحقیق در مورد مصرف خوراک روزانه، در تحقیقی با استفاده از کمپلکس آلی مواد معدنی کم نیاز نشان داده شد که مقادیر کمتر میانگین مصرف خوراک روزانه (۹۰/۵g/hen) و ضریب تبدیل غذایی (۱/۷۴ g/g) برای کل دوره آزمایش (۳۸ تا ۵۳ هفته) در مرغ‌هایی که با ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی، ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز و ۷ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از کمپلکس متال آمینواسید تغذیه کردند، مشاهده شد (Gheisari et al., 2011).

### صفات کیفی تخم مرغ

نتایج مربوط به بررسی اثر منبع و سطح منگنز مورد استفاده بر صفات کیفیت تخم مرغ مثل وزن سفیده

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر برخی فراسنجه‌های کیفیت تخم مرغ در مرغ‌های تخم‌گذارهای-لاین دلیو ۳۶ در ۲۲ تا ۳۴ هفته‌گی

Variables	Egg white weight (g)	Egg yolk weight (g)	Egg shell weight (g)	Egg white height (mm)	Haug unit
Mn Source					
Organic	32.54	12.94	7.33	9.73 <sup>a</sup>	86.99 <sup>a</sup>
Mineral	31.39	13.56	7.13	9.13 <sup>b</sup>	83.65 <sup>b</sup>
SEM	0.365	0.144	0.094	0.100	1.05
Mn Level (mg/kg)					
25	31.15	13.29	6.86 <sup>b</sup>	9.31 <sup>b</sup>	86.24
90	32.56	13.43	7.17 <sup>ab</sup>	9.81 <sup>a</sup>	85.44
135	32.99	13.04	7.66 <sup>a</sup>	9.21 <sup>b</sup>	86.75
SEM	0.447	0.174	0.115	0.122	1.99
Week					
25-28 wks	32.42	13.37	7.26	9.55	84.05
28-31 wks	31.82	12.80	7.24	9.23	83.22
31-34 wks	32.46	13.59	7.19	9.52	82.95
SEM	0.492	0.201	0.154	0.212	1.52
P-Value					
Mn Source	0.281	0.052	0.169	0.005	0.004
Mn Level	0.060	0.346	0.007	0.018	0.114
Week	0.627	0.055	0.964	0.619	0.326
Mn Source×Mn Level	0.055	0.071	0.589	0.763	0.245
Mn Source×Week	0.488	0.216	0.768	0.980	0.958
Mn Level×Week	0.755	0.279	0.168	0.550	0.455
Mn Source×Mn Level×Week	0.705	0.579	0.190	0.241	0.844

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۰/۰۵ است. تعداد تکرار ۴.

a, b: Mean value in a column not sharing a superscript are different at  $P<0.05$ . Number of replicate=4.

آنها با منابع آلی مواد معدنی می‌توانند تولید تخم‌مرغ و درصد تخم‌مرغ‌های شکسته را در مرغ‌های تخم‌گذار بهبود بخشد. در تطابق با نتایج این تحقیق، Swiatkiewicz & Koreleski (2008) گزارش کردند که در نسبت پوسته تخم‌مرغ در مرغ‌های ۳۵ تا ۷۰ هفته که جیره حاوی مکمل منگنز و روی به فرم‌های آلی (اسید آمینه) یا معدنی (سولفات) دریافت کردند، تفاوت وجود دارد. ولی در مورد بهبود کیفیت پوسته ناشی از سطوح بالاتر منگنز توسط Young *et al.* (2007) نشان داده شد که یک ارتباط مثبت بین استحکام پوسته و محتوای سولفات GAGs وجود دارد، در این رابطه افزایش محتوای سولفات GAGs غشا ممکن است به بهبود استحکام پوسته به‌ویژه در گروه حاوی مکمل آلی منگنز کمک کند (Stefanello *et al.*, 2014).

برخی از محققین بیان کردند که جیره مکمل شده با منگنز با فرم معدنی یا آلی ضخامت پوسته را افزایش می‌دهد (Xiao *et al.*, 2014, 2015). در مطالعه Zhang *et al.* (2017) نشان داده شد که استحکام پوسته تخم‌مرغ در ۲ هفته اول تحت تأثیر مکمل‌سازی جیره با منگنز با هر دو فرم آلی و معدنی قرار نگرفت، ولی در سنین بالای ۶ هفته استحکام پوسته تحت تأثیر مکمل‌سازی جیره با هر دو نوع فرم آلی و معدنی منگنز افزایش پیدا کرد. این نتیجه نشان داد که تأثیر منگنز به تدریج توسعه می‌یابد و برای اثر بخشی این مکمل روی استحکام پوسته تخم‌مرغ به یک دوره طولانی‌تر از ۲ هفته نیاز است.

در این تحقیق، همسو با سایر تحقیقات مرتبط در مورد وزن پوسته (Mabe *et al.*, 2003; Stefanello *et al.*, 2014)، هیچ تفاوتی بین دو گروه آلی و معدنی روی استحکام پوسته تخم‌مرغ مشاهده نشد. در تضاد با این مطالعات تعدادی از محققان بیان کردند که مکمل‌سازی جیره با منگنز از ۲۵ تا ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلو گرم علاوه بر یک جیره پایه حاوی منگنز استحکام پوسته تخم‌مرغ را بهبود می‌بخشد و فرم آلی آن تأثیر بیشتری روی استحکام پوسته داشته است (Xiao *et al.*, 2015). تفاوت بین مطالعات را می‌توان به غلظت‌های بالاتر منگنز (۳۲/۷ میلی‌گرم در کیلو گرم در مقایسه با ۱۴/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) در جیره

در مورد ارتفاع سفیده، منبع منگنز مورد استفاده منجر به تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی گردید، به‌طوری که از بین دو منبع مورد استفاده، بالاترین مقدار ارتفاع سفیده مربوط به منبع آلی بود. سطح منگنز مورد استفاده نیز ارتفاع سفیده را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد و سطح ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز، بدون توجه به نوع آن بهترین مقدار را در این صفت نشان داد. دوره آزمایش تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت ( $P > 0.05$ ). در مورد واحد هاو نیز منبع منگنز، تأثیر معنی‌داری داشت و بهترین واحد هاو مربوط به تیمار منبع آلی منگنز بود که با منگنز معدنی تفاوت معنی‌داری نشان داد. در مقابل، سطح منگنز مورد استفاده و دوره آزمایش تأثیر معنی‌داری بر واحد هاو نداشتند ( $P > 0.05$ ). در مورد تمام صفات مورد بررسی اثر متقابل منبع در سطح، منبع در دوره، سطح در دوره و اثر متقابل سه‌گانه معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ).

یکی از ویژگی‌های مطلوب در مرغ‌های تخم‌گذار تجاری که اهمیت اقتصادی دارد، افزایش مقاومت پوسته تخم‌مرغ است. تعداد زیادی از مطالعات نشان داده است که وزن پوسته تخم‌مرغ عامل مهم تعیین کننده برای ارزیابی کیفیت پوسته و بهبود وضعیت تخم‌مرغ است (Van Toledo, 1982; Amataya *et al.*, 2004). مطالعات قبلی نشان داده است که استحکام و ضخامت پوسته تخم‌مرغ‌ها با استفاده از جیره مکمل شده با منگنز یا ترکیبی از مجموعه عناصر منگنز، مس و روی افزایش پیدا می‌کند (Mabe *et al.*, 2003; Stefanello *et al.*, 2014). همسو با نتایج این تحقیق، در مطالعه Fassan *et al.* (2000)، ضخامت پوسته تخم‌مرغ در جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز در مقایسه با جیره حاوی سطح ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز افزایش یافت. در مطالعه این محققین همچنین مشاهده شد که استفاده از جیره غذایی حاوی سولفات روی و سولفات منگنز و کاهش غلظت مکمل جیره به ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم موجب افزایش وقوع آنتاگونیست‌های بین عناصر کم‌نیاز در روده پرنده‌ها می‌گردد. این محققین نتیجه گرفتند که در سطوح پایین مکمل معدنی در جیره غذایی، جایگزینی



تغذیه‌شده با جیره حاوی مکمل منگنز آلی بهبود پیدا می‌کند (Zhang *et al.*, 2017). به هر حال سطوح مکمل منگنز و منابع جیره تأثیری روی سختی پوسته تخم‌مرغ نداشت (Zamani *et al.*, 2005 b; Xiao *et al.*, 2015). همچنین گروهی از محققان یافتند که مکمل آلی منگنز یک اثر درجه دوم روی شکستگی ساختار پوسته دارد در حالی که هیچ تأثیری از منبع معدنی مشاهده نشد (Zhang *et al.*, 2017). شکستن ساختار براساس ضخامت و استحکام پوسته محاسبه می‌شود. افزایش مؤثر ضخامت پوسته با مکمل منگنز ممکن است در نتیجه افزایش سولفات و کندروایتین سولفات پوسته تخم‌مرغ باشد.

#### متابولیت‌های خونی

نتایج مربوط به بررسی اثر منبع و سطح منگنز مورد استفاده بر برخی متابولیت‌های خونی، در جدول ۴ ارائه شده است. کلسترول کل سرم به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر منبع منگنز مورد استفاده قرار گرفته است ( $P < 0/05$ )، در حالی که سطح منگنز تأثیر معنی‌داری بر کلسترول کل سرم نداشت. منبع و سطح منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بر میزان تری‌گلیسیرید سرم داشت، به‌طوری‌که منگنز آلی منجر به افزایش غلظت تری‌گلیسیرید سرم نسبت به منگنز معدنی گردید. همچنین از بین سطوح مورد استفاده، سطح ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز بالاترین غلظت تری‌گلیسیرید سرم را نشان داد. لیپوپروتئین با چگالی پایین تحت تأثیر منبع منگنز قرار گرفت ولی سطح منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت ( $P > 0/05$ ). سطح و منبع منگنز مورد استفاده در این تحقیق تأثیر معنی‌داری بر لیپوپروتئین با چگالی بالا نداشت ( $P > 0/05$ ). در مورد تمام صفات مورد بررسی اثر متقابل منبع در سطح معنی‌دار نبود ( $P > 0/05$ ). تأثیر منگنز در بسیاری از فرایندهای مرتبط با متابولیسم چربی مورد بررسی و تأیید قرار گرفته است. تأثیر بیوشیمیایی منگنز در واسطه‌های متابولیسم انرژی به دلیل نقش آن در متالوآنزیم پیروات کربوکسیلاز است. پیروات کربوکسیلاز در سوخت‌وساز چربی و

مرغ‌های جوان‌تر (۵۵ هفته در مقایسه با ۶۲ هفته) نسبت داد (Zhang *et al.*, 2017). همسو با این تحقیق Zhang *et al.* (2017) دریافته‌اند که ضخامت پوسته تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار با افزایش سطوح منگنز جیره غذایی از صفر به ۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بدون هیچ تفاوتی در منابع آلی و معدنی افزایش پیدا می‌کند. همچنین به‌طور مشابه ضخامت پوسته در پرندگان تخم‌گذار با جیره حاوی افزایش سطح مکمل منگنز از ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به ۱۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم (Sazzad *et al.*, 1994) یا از ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در دوره دوم تولید مرغ‌ها افزایش پیدا می‌کند (Fassani *et al.*, 2000).

برخی تحقیقات نشان دادند که جیره مکمل شده با منگنز با افزایش سطح منگنز از ۲۵ mg/kg به ۲۰۰ mg/kg ضخامت پوسته تخم‌مرغ‌ها را بدون در نظر گرفتن منبع افزایش می‌دهد (Xiao *et al.*, 2015). این مطالعه نشان داد که استحکام و ضخامت پوسته تخم‌مرغ با جیره حاوی مکمل منگنز مخصوصاً در مرغ‌های سالم بهبود می‌یابد. همچنین این محققین نشان دادند که تفاوت بین منگنز آلی و معدنی از لحاظ تأثیر روی استحکام و ضخامت پوسته با توجه به سطوح منگنز در جیره پایه، سطوح مکمل منگنز و سن مرغ‌های تخم‌گذار متفاوت است.

به هر حال Stefanello (2008) نشان داد که یک اثر خطی روی نسبت پوسته و یک رابطه درجه دوم در افزایش ضخامت پوسته تخم‌مرغ در جیره‌های حاوی مکمل معدنی منگنز وجود دارد. بنابراین اثر مکمل منگنز جیره بر وزن پوسته تخم‌مرغ و نسبت پوسته نیاز به مطالعه بیشتر دارد. سختی پوسته تخم‌مرغ، کشسانی و شکستگی ساختار از فراسنجه‌های ارزیابی خواص مکانیکی پوسته تخم‌مرغ است. محققان دریافته‌اند که سختی پوسته به وسیله جیره حاوی مکمل منگنز در فرم‌های معدنی و آلی تحت تأثیر قرار نگرفت، اما در گروه‌های حاوی فرم آلی نسبت به گروه‌های حاوی فرم معدنی سختی پوسته بیشتر بود و این به این معنی است که قابلیت بازیابی پوسته برای مقاومت در برابر تنش‌های خارجی در پرندگان

کربوهیدرات نقش بارزی دارد که کمبود منگنز به دلیل اختلال در این آنزیم منجر به تغییر متابولیسم چربی و در نهایت تغییر تجمع چربی در محوطه بطنی می‌گردد (Plumlee *et al.*, 1956).  
منبع و سطح منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین کل سرم نداشتند ( $P>0.05$ ). در مقابل، آلبومین سرم تحت تأثیر منبع منگنز مورد استفاده قرار گرفت ( $P<0.05$ ) و بالاترین سطح آلبومین مربوط به منگنز آلی بود، ولی سطح منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت ( $P>0.05$ ).

جدول ۴. اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر برخی فراسنجه‌های سرم در مرغ‌های تخم‌گذارهای لاین دلبلیو ۳۶ در ۲۲ تا ۳۴ هفته‌گی

Table 4. The effect dietary treatments on serum parameters of w36 layer hen at 22-34 weeks of age

Variables		Total Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)
Mn Source	Mn Level				
Mineral	25	155.66	62.00	65.66	123.66
Mineral	90	168.66	53.33	62.00	131.00
Mineral	135	145.33	65.33	63.00	115.66
Organic	25	184.66	62.00	67.00	121.00
Organic	90	160.66	60.33	72.33	130.00
Organic	135	176.66	74.66	68.33	98.33
SEM		10.16	4.30	3.39	15.78
Mn Source					
Mineral		156.55 <sup>b</sup>	60.22 <sup>b</sup>	63.55 <sup>b</sup>	123.44
Organic		174.00 <sup>a</sup>	65.66 <sup>a</sup>	69.22 <sup>a</sup>	111.77
SEM		5.84	2.48	1.96	9.11
Mn Level (mg/kg)					
25		170.16	62.00 <sup>ab</sup>	66.33	122.33
90		164.66	56.83 <sup>b</sup>	67.16	130.50
135		161.00	70.00 <sup>a</sup>	65.66	100.00
SEM		7.18	3.04	2.40	11.16
P-Value					
Mn Source		0.047	0.147	0.063	0.383
Mn Level		0.671	0.030	0.907	0.178
Mn Source× Mn Level		0.137	0.546	0.440	0.573

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۰/۰۵ است. تعداد تکرار ۴.

a, b mean value in a column not sharing a superscript are different at  $P<0.05$ . Number of replicate=4.

ادامه جدول ۵. اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر برخی فراسنجه‌های سرم در مرغ‌های تخم‌گذارهای لاین دلبلیو ۳۶ در ۲۲ تا ۳۴ هفته‌گی

Continued table 4. The effect dietary treatments on serum parameters of w36 layer hen at 22-34 weeks of age

Variables		Total protein (mg/dl)	Albumin (mg/dl)	Globulin (mg/dl)	AST (U/dl)	ALT (U/dl)
Mn Source	Mn Level					
Mineral	25	4.13	1.40	2.73	378.56	2.06
Mineral	90	3.43	1.86	1.56	223.40	3.36
Mineral	135	5.13	1.73	3.40	928.96	3.30
Organic	25	3.46	2.10	1.36	303.13	3.20
Organic	90	3.56	1.93	1.63	973.03	3.83
Organic	135	3.63	1.83	1.80	296.56	2.83
SEM		0.669	0.144	0.112	75.50	0.332
Mn Source						
Mineral		4.23	1.66 <sup>b</sup>	2.56	510.31 <sup>a</sup>	2.91
Organic		3.55	1.95 <sup>a</sup>	1.60	326.24 <sup>b</sup>	2.95
SEM		0.386	0.083	0.439	55.79	0.19
Mn Level (mg/kg)						
25		3.80	1.75	2.05	340.85	2.63
90		3.50	1.90	1.60	598.21	3.60
135		4.38	1.78	2.60	612.76	2.56
SEM		0.473	0.101	0.538	25.52	0.235
P-Value						
Mn Source		0.239	0.030	0.145	0.004	0.872
Mn Level		0.432	0.565	0.445	0.724	0.115
Mn Source×Mn Level		0.496	0.084	0.514	0.221	0.245

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۰/۰۵ است. تعداد تکرار ۴.

a, b mean value in a column not sharing a superscript are different at  $P<0.05$ . Number of replicate=4.

از عناصر دسترسی بالاتری نسبت به فرم اکسید و غیره دارد. در تحقیقی توسط Baker *et al.* (2011) گزارش شد که زیست‌فراهمی منگنز در منابع اکسید روی و اکسید منگنز برای پرنده‌ها در مقایسه با سولفات روی و سولفات منگنز کمتر است.

#### آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج مربوط به بررسی اثر منبع و سطح منگنز مورد استفاده بر برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خون، در جدول ۵ ارائه شده است. منبع و سطح منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیداز دسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز نداشت ( $P > 0.05$ ). اثر متقابل منبع در سطح بر فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دسموتاز معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ )، بدین صورت که تیمار منبع آلی با سطح ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بالاترین مقدار را در بین تیمارهای مختلف آزمایشی نشان داد که با تیمارهای معدنی در تمام سطوح اختلاف معنی‌داری داشت.

ساخت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل سوپراکسید دسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز برحسب پاسخ حیوان به تنش گرمایی مهم است. اگرچه این پاسخ تنها زمانی مؤثر خواهد بود که کوفاکتورهایی نظیر سلنیوم برای آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و مس، روی و منگنز برای آنزیم SOD در دسترس باشند.

سطح منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر میزان گلوبولین سرم، آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز نداشت ( $P > 0.05$ ). ولی منبع منگنز تأثیر معنی‌داری بر سطح آسپاراتات آمینوترانسفراز داشت ( $P < 0.05$ ) و تیمارهای حاوی منگنز آلی دارای سطح پایینتری از این آنزیم بودند. در مورد تمام صفات مورد بررسی، اثر متقابل منبع در سطح معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). منگنز جذب‌شده در روده به آلفا-2 ماکروگلوبولین و آلبومین متصل شده و به کبد می‌رود. سپس منگنز به ترانسفرین متصل شده و کبد را ترک می‌نماید. همچنین، منگنز تنفسی و تزریق شده به خون نیز به ترانسفرین متصل می‌شود و ترانسفرین که مربوط به گروه آلبومین است، مهم‌ترین حامل منگنز بین مغز و کبد است (Andersen *et al.*, 1999).

در بسیاری از صفات مربوط به متابولیت‌های خونی در این تحقیق تأثیر معنی‌داری مشاهده نشد. اگرچه برخی از محققین بیان کردند که مکمل کردن عناصر کم نیاز به فرم آلی آن به‌ویژه فرم متیونینه تأثیر مثبتی بر آلبومین خون و یا پروتئین کل دارد (Young *et al.*, 2007)، ولی در این تحقیق تأثیری مشاهده نشد. این امر ممکن است به‌علت سهم بسیار کم مکمل آلی در جیره‌ها باشد. نکته بعدی در مورد عدم تفاوت معنی‌دار این دو منبع بر بسیاری از متابولیت‌های خونی دسترسی بالای فرم معدنی است، زیرا نشان داده شده است که فرم سولفات در بسیاری

جدول ۶. اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سرم در مرغ‌های تخم‌گذار های-لاین دبلو ۳۶ در ۲۲ تا ۳۴ هفتگی

Table 5. The effect dietary treatments on serum antioxidant enzyme of w36 layer hen at 22-34 weeks of age.

Variables	Mn Level	SOD (u/l)	GPX (m/l)
Mn Source			
Mineral	25	190.33 <sup>b</sup>	4395.00
Mineral	90	190.66 <sup>b</sup>	4563.00
Mineral	135	184.66 <sup>b</sup>	4580.00
Organic	25	198.00 <sup>ab</sup>	4290.00
Organic	90	192.66 <sup>ab</sup>	4675.00
Organic	135	223.00 <sup>a</sup>	4423.66
SEM		9.49	204.80
Mn Source			
Mineral		190.55	4512.66
Organic		200.55	4462.88
SEM		5.48	118.24
Mn Level (mg/kg)			
25		191.16	4342.50
90		191.66	4619.00
135		203.83	4501.83
SEM		6.71	144.81
P-Value			
Mn Source		0.221	0.771
Mn Level		0.352	0.425
Mn Source×Mn Level		0.041	0.788

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۰/۰۵ است. تعداد تکرار ۴.

a, b mean value in a column not sharing a superscript are different at  $P < 0.05$ . Number of replicate=4.

SOD است. کمبود مس باعث کاهش SOD مس و روی و افزایش فعالیت SOD منگنز در سلول‌های کبد می‌شود (Lai et al., 1994). مشابه با آن کمبود روی، رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد و باعث کاهش فعالیت SOD مس و روی در موش می‌شود (Cao & Chen, 1991). منگنز جیره، تا زمانی که غلظت منگنز موجود در جیره طیور ۸۰ mg/kg باشد سبب افزایش فعالیت SOD منگنز بافت قلب می‌شود (Lu et al., 2016). در مطالعه‌ی Perez et al. (2017) نشان داده شد که در پرند‌های دارای کمبود روی و منگنز در جیره غذایی افزودن مکمل این عناصر به فرم هیدروکسی کلراید سبب بهبود فعالیت SOD می‌شود. دسترسی هیدروکسی کلراید معدنی روی در نشخوارکننده‌ها (Spears & Kegley, 2002; Wagner et al., 2016) و طیور (Batal et al., 2001) به‌طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. گزارش شده است که زیست‌فراهمی روی موجود در خوراک به فرم OHCL به میزان ۱۲۲ درصد بیشتر از فرم سولفات آن می‌باشد (Batal et al., 2001). در مطالعه‌ای دیگر، روی موجود در خوراک به فرم هیدروکسی کلراید سبب افزایش روی موجود در استخوان، در مقایسه با فرم سولفات آن گردید (Cao et al., 2000). مشابه با آن افزایش زیست‌فراهمی فرم هیدروکسی کلراید مس در پرندگان مشاهده شده است (Miles et al., 1998). افزایش قابلیت هضم و دسترسی روی می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم SOD در پرند‌های تغذیه شده با روی هیدروکسی کلراید توضیح داده شود؛ به علاوه فرم معدنی هیدروکسی کلراید با دیگر مواد معدنی و ویتامین‌ها در خوراک کمتر واکنش نشان می‌دهد (Lu et al., 2010). در مطالعه‌ای گزارش شد که با کاهش فعالیت SOD در پرند‌های تغذیه شده با جیره حاوی کمبود روی و منگنز انتظار می‌رود تنش اکسیداتیو افزایش پیدا کند (Surai, 2015). در پرند‌های تغذیه شده با جیره حاوی کمبود مقدار روی و منگنز به فرم سولفات فعالیت SOD کاهش می‌یابد و افزایش غلظت روی و منگنز جیره یا تغذیه روی و منگنز به فرم هیدروکسی کلراید به‌طور

در سطح سلولی افزایش دما و عوامل تنش مختلف نظیر فاکتورهای فیزیولوژیکی و شیمیایی، تابش، سموم، عفونت‌های ویروسی، اتانول، آرسنیت، اکسیژنه شدن بعد از کمبود اکسیژن، بیان ژن سنتز پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) را افزایش می‌دهد که به‌عنوان پروتئین‌های تنشی شناخته شده‌اند. افزایش پروتئین‌های شوک گرمایی سلول‌ها را در برابر تنش بیش‌تر محافظت می‌کند که این موضوع از طریق محافظت سلول‌ها در برابر آسیب‌های مضر صورت می‌گیرد که سلول‌ها را در برابر مرگ مقاوم می‌کند (Perez et al., 2017).

برخی از تحقیقات نشان دادند که تغذیه جوجه‌های تخم‌گذار با جیره‌های غذایی دارای کمبود جزئی عناصر روی و منگنز به فرم سولفات، فعالیت SOD را کاهش می‌دهد و مکمل روی و منگنز به فرم هیدروکسی کلراید (OHCL) فعالیت SOD را افزایش می‌دهد. در یک مطالعه، در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره دارای کمبود روی و منگنز به فرم سولفات، فعالیت SOD کاهش یافت، درحالی‌که مکمل‌سازی خوراک با روی هیدروکسی کلراید (ZnOHCL) فعالیت SOD را افزایش داد (Perez et al., 2017). همچنین افزایش منگنز هیدروکسی کلراید (MnOHCL) در جیره غذایی با سطح بالای روی هیدروکسی کلراید (ZnOHCL) فعالیت SOD را افزایش داد (Perez et al., 2017). در مطالعه‌ی Perez et al. (2017) کاهش فعالیت SOD در هتروفیل‌ها و لئوسیت‌ها در پرند‌هایی که کمبود هر دو مورد روی و منگنز را داشتند، مشاهده شد. هتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها در پرندگان در پاسخ به محرک التهابی SOD تولید می‌کنند (Gou et al., 2015) و SOD رادیکال‌های سوپراکسید را برای محافظت از سلول‌ها علیه آسیب اکسیداتیو کاتالیز می‌کند (Abreu & Cabelli, 2010). سه ایزوفرم آنزیم SOD شامل SOD منگنز میتوکندریایی، SOD مس و روی درون سلولی و SOD خارج سلولی در طیور شناخته شده است (Surai, 2015). اصلاح و کاهش آنزیم SOD شامل یک تعامل پیچیده بین سطوح منابع معدنی و تنش اکسیداتیو و ایزوفرم‌های

گردید. در مورد عناصر سرم، اثر متقابل بین منبع و سطح منگنز معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ).

با بررسی وضعیت سرمی برخی عناصر در سرم خون نشان داده شد که مقدار این عناصر در این تحقیق تحت تأثیر سطح و منبع منگنز قرار نگرفته است، اگرچه در بررسی منابع مشخص بود که افزایش سطح منگنز تا سطح ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم تا رسیدن به سطح سمی عنصر فاصله بسیار زیادی دارد، ولی بررسی عناصر خون نشان داد که این سطح نیز تأثیر منفی بر سایر عناصر مهم سرمی مانند کلسیم نداشت، اگرچه سطح بالای منگنز منجر به کاهش در سطح فسفر خون گردید. نکته قابل توجه تابعیت تقریباً خطی منگنز سرم پرند از منگنز جیره است که نشان می‌دهد صرف‌نظر از نوع منبع مورد استفاده، منگنز سرم با افزایش منگنز جیره از ۲۵ تا ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌طور خطی افزایش می‌یابد. اگرچه در این تحقیق منگنز پوسته مورد بررسی مستقیم قرار نگرفت، ولی به نظر می‌رسد منگنز پوسته تابعی از منگنز سرمی باشد.

همزمان سبب افزایش فعالیت SOD در سلولهای ایمنی می‌شود (Perez et al., 2017, Aksu et al., 2012).

### عناصر سرم

نتایج مربوط به بررسی اثر منبع و سطح منگنز مورد استفاده بر برخی عناصر سرم، در جدول ۶ ارائه شده است. منبع منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر میزان منگنز سرم خون نداشت، ولی سطح منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر منگنز سرم داشت ( $P < 0.05$ )، به‌طوری که به موازات افزایش سطح منگنز در جیره سطح منگنز خون هم افزایش یافت، همچنین از بین سطوح مورد استفاده، سطح ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز موجب بالاترین سطح منگنز خون شد. منبع و سطح منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر میزان کلسیم سرم نداشت ( $P > 0.05$ ). منبع منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر میزان فسفر سرم خون نداشت، ولی سطح منگنز مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر فسفر سرم داشت ( $P < 0.05$ )، به‌طوری که به موازات افزایش سطح منگنز در جیره موجب کاهش غلظت فسفر سرم خون

جدول ۷. اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر برخی عناصر سرم در مرغ‌های تخم‌گذار های-لاین دلبیو ۳۶ در ۲۲ تا ۳۴ هفتهگی

Table 6. The effect dietary treatments on some blood elements of w36 layer hen at 22-34 wks.

Variables		Mn (ng/dl)	Ca (ng/dl)	P (ng/dl)
Mn Source	Mn Level			
Mineral	25	98.33	7.86	7.73
Mineral	90	85.00	9.20	7.80
Mineral	135	81.66	7.93	6.96
Organic	25	90.33	8.40	7.83
Organic	90	90.00	7.80	7.16
Organic	135	77.66	7.85	7.00
SEM		5.69	0.503	0.261
Mn Source				
Mineral		88.33	8.43	7.50
Organic		86.00	7.66	7.33
SEM		3.28	0.290	0.151
Mn Level (mg/kg)				
25		79.66 <sup>c</sup>	8.13	7.78 <sup>a</sup>
90		87.50 <sup>b</sup>	8.15	7.48 <sup>a</sup>
135		94.33 <sup>a</sup>	7.86	6.98 <sup>b</sup>
SEM		4.02	0.356	0.185
P-Value				
Mn Source		0.624	0.086	0.450
Mn Level		0.041	0.822	0.022
Mn Source×Mn Level		0.523	0.117	0.334

حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ۰/۰۵ است. تعداد تکرار ۴.

a, b: Mean value in a column not sharing a superscript are different at  $P < 0.05$ . Number of replicate=4.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که سطح منگنز بدون در نظر گرفتن نوع منبع آن، بر درصد تولید، وزن پوسته، ارتفاع سفیده، منگنز خون مرغ تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری داشت و اغلب منجر به بهبود صفات مذکور در شرایط تولید تحت تنش شد. همچنین منبع منگنز، بر صفات ارتفاع سفیده، واحد هاو، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز دارای تأثیر معنی‌داری بود و در مورد این صفات فرم آلی (متیونینه) عملکرد بهتری داشته است. اثر متقابل منبع منگنز و سطح، تنها در مورد آنزیم سوپراکسید دسموتاز سرم معنی‌دار بود که نشان داده شد که فرم آلی منگنز در سطح ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، نسبت به سایر تیمارها دارای تأثیر مثبت بر این صفت می‌باشد. با بررسی کلی تیمارهای آزمایشی این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت

که استفاده از مکمل منگنز در مقدار ۱۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌تواند تأثیر مثبتی بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخم‌گذار در شرایط تنش گرمایی داشته باشد، ولی استفاده از فرم کیلات متیونینی در این سطح مفیدتر خواهد بود.

### سپاسگزاری

این مقاله از پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته علوم دامی در دانشگاه اراک استخراج گردیده است. لذا نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه اراک به‌خاطر حمایت‌های مالی از این تحقیق کمال تشکر را دارند. همچنین از کارشناس گروه و کارکنان مزرعه نیکپا گلپایگان آقای خامسی بابت مساعدت در انجام این تحقیق، تشکر قدردانی می‌گردد.

### REFERENCES

1. Abreu, I.A. & Cabelli, D. E. (2010). Superoxide dismutases-A review of the metal-associated mechanistic variations. *Biochimistry Biophysics Acta*, 1804, 263-274.
2. Aksu, D. S., Aksu, T. & Önel, S. E. (2012). Does inclusion at low levels of organically complexed minerals versus inorganic forms create a weakness in performance or antioxidant defense system in broiler diets. *International Journal of Poultry Science*, 11, 666-672.
3. Amataya, J. L., Haldar, S. & Ghosh, T. K. (2004). Effects of chromium supplementation from inorganic and organic sources on nutrient utilization, mineral metabolism and meat quality in broiler chickens exposed to natural heat stress. *Animal Science*, 79, 241-253.
4. Baker, D. H. & Halpin, K. M. (2011). Efficacy of a manganese-protein chelates compared with that of manganese sulfate for chicks. *Poultry Science*, 66, 1561-1563.
5. Batal, A. B., Parr, T. M. & Baker, D. H. (2001). Zinc bioavailability in tetrabasic zinc chloride and the dietary zinc requirement of young chicks fed soy concentrate diet. *Poultry Science*, 80, 87-90.
6. Belay, T. & Teeter, R. G. (1996). Effects of environmental temperature on broiler mineral balance partitioned into urinary and fecal loss. *British Poultry Science*, 37, 423-433.
7. Cao, G. H. & Chen, J. D. (1991). Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation, and superoxide dismutase in trained mice. *Archive Biochemistry and Biophysics*, 291, 147-153.
8. EL-Husseiny, O. M., Hashish, S. M., Ali, R. A., Arafa, S. A., EL-Samee, LD. A. & Olemi, A. A. (2012). Effects of feeding organic zinc, manganese and copper on broiler growth, carcass characteristics, bone quality and mineral content in bone, liver and excreta. *International Journal of Poultry Science*, 11, 368-377.
9. Fassani, J. E., Bertechini, A. G., De Oliveira, B. L., Goncalves, T. & Fialho, E. T. (2000). Manganese in nutrition of the leghorn hens in the second cycle of production. *Ciência e Agrotecnologia*, 24, 468-478.
10. Gheisari, A. & Toghyani, M. (2011). Effect of diets supplemented with different levels of manganese, zinc, and copper from their organic sources on egg production characteristics in laying hen. *Biological Trace Element Research*, 142, 557-571
11. Gou, Z., Jiang, S., Zheng, C., Tian, Z. & Lin, X. (2015). Equol inhibits LPS-induced oxidative stress and enhances the immune response in chicken HD11 macrophages. *Cellular Physiology Biochemistry*, 36, 611-62.
12. Inal, F., Coskun, B., Gulsen, N. & Kurtoglu, V. (2001). The effects of withdrawal of vitamin and trace mineral supplements from layer diets on egg yield and trace mineral composition. *British Poultry Science*, 42, 77-80.
13. Klasing, K. C. (2007). Nutrition and the immune system. *British poultry science*, 48(5), 525-537.
14. Lai, C. C., Huang, W. H., Askari, A., Wang, Y., Sarvazyan, N., Klevay, L. M. & Chiu, T. H. (1994). Differential regulation of superoxide dismutase in copper-deficient rat organs. *Free Radical Biology Medicine*, 16, 613-620.

15. McDowell, L. R. (2003). Minerals in Animal and Human Nutrition. 2nd Edition. *Elsevier Science B.V. Amsterdam, The Netherland*.
16. Miles, R. D., Keefe, S.F. O., Henry, P. R., Ammerman, C. B. & Luo, X. G. (1998). The effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and dietary prooxidant activity. *Poultry Science*, 77, 416-425.
17. Neijat, M., Gakhar, N., Neufeld, J. & House, J. D. (2014). Performance, egg quality, and blood plasma chemistry of laying hens fed hempseed and hempseed oil. *Poultry Science*, 93, 2827-2840.
18. NRC. (1994). Nutrient Requirements of Poultry. 9th Rev. Edition. Natl. Acad. Press, *Washington, DC*.
19. Perez, V., Shanmugasundaram, R., Sifri, M., Parr, T. M. & Selvaraj, R. K. (2017). Effects of hydroxychloride and sulfate form of zinc and manganese supplementation on superoxide dismutase activity and immune responses post lipopolysaccharide challenge in poultry fed marginally lower doses of zinc and manganese. *Poultry Science*, 96, 4200-4207.
20. Plumlee, M. P., Thrasher, D. M., Beeson, W. M., Andrews, F. N. & Parker, H. E. (1956). The effects of a man-ganese deficiency upon the growth, development, and reproduction of swine. *Journal of Animal Science* 15, 352-367.
21. Rozenboim, I., Tako, E., Gal-Garber, O., Proudman, J. A. & Uni, Z. (2007). The effect of heat stress on ovarian function of laying hens. *Poultry Science*, 86, 1760-1765.
22. SAS. (2014). Statistical Analysis System. Version 9.02. *SAS Institute, Inc., Cary, NC*.
23. Sazzad, H. M., Bertechini, A. G. & Nobre, P. TC. (1994). Egg production, tissue deposition and mineral metabolism in two strains of commercial layers with various levels of manganese in diets. *Animal Feed Science and Technology*, 46, 271-275.
24. Spears, J. W. & Kegley, E. B. (2002). Effect of zinc source (zinc oxide vs zinc proteinate) and level on performance, carcass characteristics, and immune response of growing and finishing steers. *Journal of Animal Science*, 80, 2747-2752.
25. Stefanello, C., Santos, T., Murakami, A., Martins, E. & Carneiro, T. (2014). Productive performance, eggshell quality, and eggshell ultrastructure of laying hens fed diets supplemented with organic trace minerals. *Poultry Science*, 93, 104-113.
26. Surai, P. F. (2015). Anti-oxidant systems in poultry biology: Superoxide dismutase. *Journal of Animal Research and Nutrition*, 1, 1-17.
27. Swiatkiewicz, S. & Koreleski, J. (2008). The effect of zinc and manganese source in the diet for laying henson eggshell and bones quality. *Veterinary Medicine*, 53, 555-563.
28. Swinkels, G.W.G.M., Kornegay, E. T. & Verstegen, M. WA. (1994). Biology of zinc and biological value of dietary zinc complexes and chelates. *Nutritional Research Review*, 7, 129-149.
29. Van Toledo, B., Parsons, A. H. & Combs, G. F. (1982). Role of ultrastructure in determining eggshell strength. *Poultry Science*, 61, 569-572.
30. Wagner, J. J., Engle, T. E., Caldera, E., Neuhold, K. L., Woerner, D. R., Spears, J. W., Heldt, J. S. & Laudert, S. B. (2016). The effects of zinc hydroxychloride and basic copper chloride on growth performance, carcass characteristics, and liver zinc and copper status at slaughter in laying hen. *Poultry Science*, 120, 124-152.
31. Xiao, J.F., Wu, S.G., Zhang, H. J., Yue, H.Y., Wang, J., Ji, F. & Qi, G.H. (2015). Bioefficacy comparison of organic manganese with inorganic manganese for eggshell quality in Hy-Line Brown laying hens. *Poultry Science*, 94, 1871-1878.
32. Xiao, J.F., Zhang, Y.N., Wu, S.G., Zhang, H.J., Yue, H.Y. & Qi, G.H. (2014). Manganese supplementation enhances the synthesis of glycosaminoglycan in eggshell membrane: A strategy to improve eggshell quality in laying hens. *Poultry Science*, 93, 380-388.
33. Young, W. H., Son, M. J., Yun, K. S. & Kim, Y. S. (2007). Relationship between eggshell strength and keratin sulfate of eggshell membranes. *Comparative. Biochemistry and Physiological part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147, 1109-1115.
34. Zamani, A., Rahmani, H. R. & Pourreza, J. (2005). Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese and zinc improves eggshell quality in laying hens. *Pakistan Journal of Biological Science*, 8, 1311-1317.
35. Zhang, Y.N., Wang, J., Zhang, H.J., Wu, S.G. & Qi, G.H. (2017). Effect of dietary supplementation of organic or inorganic manganese on eggshell quality, ultrastructure, and components in laying hens. *Poultry Science*, 96, 2184-2193.