



Influence of limestone particle size and phytase enzyme on performance, egg quality, and total tract retention of Ca in commercial laying hens

Mohammed Abd Oun Jawad², Soudabeh Moradi¹, Mohammad Reza Abdollahi³

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. Email: mohamedalmaory92@gmail.com

2. Corresponding author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. Email: s.moradi@razi.ac.ir

3. Monogastric Research Center, School of Agriculture and Environment, Massey University, Palmerston North, 4442, New Zealand. Email: [m.abdollahi@massey.ac.ir](mailto:m.abdollahi@massey.ac.nz)

Article Info	ABSTRACT	
Article type: Research Article	The aim of this study was to evaluate the effect of limestone particle size and phytase enzyme supplementation on production performance, egg quality traits, and coefficient of apparent digestibility of calcium of commercial laying hens. A total of 216 laying hens were randomly distributed in six treatments, and six replicates per each. The design consisted of a factorial arrangement of three particle sizes of limestone from the same source (fine (<0.5 mm), medium (0.5-2 mm) and coarse (2-4 mm)) and two phytase levels (0 and 300 (FTU)/kg) in a completely randomized design. Egg production and egg mass were not influenced by experimental diets. Phytase inclusion numerically increased egg weight in second (P=0.06) and whole trial period (20-26 wk, P=0.1). Fine and coarse particles of limestone increased shell thickness (P < 0.01), compared to medium particles, also phytase supplementation improved shell percent (P < 0.01). Fine and medium sizes of limestone resulted in a higher apparent digestibility coefficient of Ca compared to coarse size ((P < 0.0001), 0.43, and 0.45 vs. 0.33). Diets containing medium limestone size showed lighter yolk color than those containing fine and coarse particles (P<0.05). Medium size of limestone significantly increased digestibility of DM compared to fine and coarse particles. In conclusion, productive performance of laying hens did not respond to limestone particle size, however, fine and medium sizes of limestone through enhancing effect on Ca digestibility, is more suitable than coarse particles for practical applications in young layers.	
Article history: Received: 24 November 2022 Received in revised form: 4 March 2023 Accepted: 7 March 2023 Published online: 23 September 2023		
Keywords: limestone, phytase enzyme, particle size, laying hens, apparent digestibility of Ca.		
Cite this article: Abd Oun Jawad. M., Moradi, S., & Abdollahi, M. R. (2023). Influence of limestone particle size and phytase enzyme on performance, egg quality, and total tract retention of Ca in commercial laying hens. <i>Iranian Journal of Animal Science</i> , 54 (4), 403-417. DOI: http://doi.org/10.22059/IJAS.2023.351169.653919		
 © The Author(s). Publisher: The University of Tehran Press. DOI: http://doi.org/10.22059/IJAS.2023.351169.653919		

Extended Abstract

Calcium is a critical factor for egg production, but little is known about the optimal way of providing this for laying hens. Limestone, the predominant Ca source in poultry feeds worldwide, can have particle sizes that are widely different which will impact the concentration of reactive (soluble) Ca, also, through chelation with phytate, can have a profound impact on the efficacy of phytase. This study was carried out to determine the effects of limestone particle size, and phytase enzyme supplementation production performance, egg quality traits, and coefficient of apparent digestibility of calcium in commercial laying hens.

Materials and Methods

All animal care procedures were approved by the Razi University Animal Care and Use Committee. A total of 216 laying hens of comparable BW at 18 wk of age was randomly distributed in six treatments, and six replicates per each. The design consisted of a factorial arrangement of three particle sizes of limestone from the same source (fine (<0.5 mm), medium (0.5-2 mm) and coarse (2-4 mm)) and two phytase levels (0 and 300 (FTU)/kg) in a completely randomized design. Productive performance was recorded during the experimental period. Egg samples were collected, and digestibility studies were conducted at week 6 of the experiment. Replicate (n = 6) was taken as the experimental unit, except where noted otherwise, 2 sampled birds per replicate were used. The effects of particle size and phytase enzyme were analyzed by the 2-way ANOVA procedure of SAS (SAS Institute Inc., 9.4.1, 2014) with $P < 0.05$ indicating significance.

Results

Results showed that egg production and egg mass were not influenced by experimental diets. Phytase inclusion numerically increased egg weight in second ($P=0.06$) and whole trial period (20-26 wk, $P=0.1$). Fine and coarse particles of limestone increased shell thickness ($P < 0.01$), compared to medium particles, also phytase supplementation improved shell percent ($P < 0.01$). Fine and medium sizes of limestone resulted in a higher apparent digestibility coefficient of Ca compared to coarse size ($P < 0.0001$), 0.43, and 0.45 vs. 0.33). Diets containing medium limestone size showed lighter yolk color than those containing fine and coarse particles ($P<0.05$). Medium size of limestone significantly increased digestibility of DM compared to fine and coarse particles.

Conclusion

In conclusion, productive performance of laying hens did not respond to limestone particle size, however, fine and medium sizes of limestone through enhancing effect on Ca digestibility, is more suitable than coarse particles for practical applications in young layers. Also, inclusion of phytase enzyme improved egg shell quality.

تأثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم و آنزیم فیتاز بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و قابلیت هضم ظاهری کلسیم در مرغان تخمگذار تجاری

محمد عبدعون جواد^۱ | سودابه مرادی^۲ | محمدرضا عبداللهی^۳

۱. گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: mohamedalmaory92@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران رایانامه: s.moradi@razi.ac.ir
۳. مرکز تحقیقات تک معده ای‌ها، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه مسی، نیویورک. رایانامه: m.abdollahi@massey.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	این پژوهش به منظور بررسی اثر اندازه ذرات کربنات کلسیم و آنزیم فیتاز بر عملکرد تولیدی، صفات کیفی تخم مرغ و قابلیت هضم ظاهری کلسیم، در مرغان تخمگذار تجاری انجام شد. آزمایش با ۲۱۶ قطعه مرغ تخمگذار در قالب طرح کاملاً تصادفی و بصورت آزمایش فاکتوریل در شش تیمار آزمایشی و شش تکرار به ازاء هر تیمار از سن ۱۹-۲۶ هفتگی انجام شد. عوامل مورد مطالعه شامل سه اندازه ذرات کربنات کلسیم (ریز (کمتر از ۰/۵ میلی‌متر)، متوسط (۰/۵-۲ میلی‌متر) و درشت (۲-۴ میلی‌متر)) و دو سطح آنزیم فیتاز (۰ و ۳۰۰ واحد در کیلوگرم جیره) بودند. درصد تولید تخم مرغ و گرم تخم مرغ تولیدی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. افزودن فیتاز به جیره موجب افزایش عددی وزن تخم مرغ در ۳ هفته دوم آزمایش ($P=0.06$) و کل دوره آزمایش گردید ($P=0.1$). اندازه ذرات ریز و درشت کربنات کلسیم، ضخامت پوسته تخم مرغ را در مقایسه با اندازه متوسط ($P<0.01$) افزایش داد و افزودن آنزیم فیتاز، موجب افزایش درصد پوسته تخم مرغ گردید ($P<0.05$). ضریب قابلیت هضم ظاهری کلسیم در جیره‌های حاوی کربنات کلسیم با اندازه ریز و متوسط بالاتر از اندازه درشت ($P<0.0001$) بود. اندازه ذرات متوسط ($P<0.05$) موجب کاهش رنگ زرده گردید. اندازه ذرات متوسط کربنات کلسیم موجب بهبود قابلیت هضم ماده خشک در مقایسه با اندازه ریز و درشت گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که اندازه ذرات کربنات کلسیم بر صفات تولیدی تأثیرگذار نیست، اندازه ریز و متوسط کربنات کلسیم بدلیل افزایش قابلیت هضم کلسیم در دستگاه گوارش در مقایسه با اندازه درشت (۲-۴ میلی‌متر) در مرغ‌های جوان توصیه می‌گردد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۵ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۷ تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۷/۰۱	
کلیدواژه‌ها: کربنات کلسیم، آنزیم فیتاز، اندازه ذرات، مرغ تخمگذار، قابلیت هضم ظاهری کلسیم.	

استناد: عبدعون جواد، محمد؛ مرادی، سودابه؛ و عبداللهی، محمدرضا (۱۴۰۲). تأثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم و آنزیم فیتاز بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و قابلیت هضم ظاهری کلسیم در مرغان تخمگذار تجاری. نشریه علوم دامی ایران، ۵۴ (۴)، ۴۱۷-۴۰۳. DOI: <http://doi.org/10.22059/IJAS.2023.351169.653919>



© نویسندگان.

DOI: <http://doi.org/10.22059/IJAS.2023.351169.653919>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

کلسیم، فراوانترین ماده معدنی موجود در بدن بوده و عملکردهای حیاتی نظیر معدنی شدن استخوان، انعقاد خون، انتقال پیام‌های عصبی و انقباض ماهیچه دارد (Majeed et al., 2020). بدلیل ارزان بودن منابع تامین کلسیم، امروزه از سطوح بالای کلسیم در جیره‌های تجاری استفاده می‌شود، سطح بالای کلسیم باعث کاهش قابلیت استفاده از فسفر و سایر مواد معدنی و کاهش فعالیت آنزیم فیتاز در جیره می‌گردد. افزایش غلظت کلسیم در جیره از ۲ به ۷ گرم در کیلوگرم موجب کاهش قابلیت هضم ایلئومی فیتات از ۰/۶۹ به ۰/۲۵، فسفر از ۰/۶۸ به ۰/۲۹ و فسفر غیر فیتاته (NPP) از ۰/۶۵ به ۰/۳۹ می‌گردد (Tamim et al., 2004).

لذا امروزه پیشنهاد شده که از سیستم کلسیم و فسفر قابل هضم در تنظیم جیره‌های طیور استفاده شود (WPSA, 2013). کربنات کلسیم، عمدتترین منبع تامین کلسیم معدنی در صنعت طیور می‌باشد و بخش قابل توجهی از جیره (حدود ۱۰٪) را در دوره تولید مرغ‌های تخمگذار شامل می‌شود. کلسیم برای تولید مرغ‌های تخمگذار ضروری می‌باشد اما دانش ما در مورد بهترین روش استفاده محدود می‌باشد. منبع و اندازه ذرات کربنات کلسیم و پودر صدف برحالییت و زیست‌فراهمی کلسیم با ایجاد تغییر در سرعت آزادسازی کلسیم در دستگاه گوارش موثر می‌باشد (Reid and Weber, 1976). در مرغ‌های تخمگذار، گزارش شده که با افزایش اندازه ذرات کربنات کلسیم، وزن پوسته، ضخامت پوسته و استحکام استخوان افزایش یافته است (Cheng and Coon, 1990). فرض بر اینست که ذرات درشت‌تر، مدت زمان بیشتری در سنگدان، توقف دارند، بنابراین، حلالیت و قابلیت استفاده از کلسیم (Zhang and Coon, 1997) افزایش می‌یابد و تداخل کمتری با pH دستگاه گوارش بر قابلیت هضم فسفر معدنی ایجاد می‌شود. محققین گزارش کرد که قابلیت هضم کلسیم در جوجه‌های گوشتی در کربنات با اندازه ریز (۰/۱۵ میلی‌متر) در مقایسه با اندازه متوسط (۰/۸-۰/۶ میلی‌متر) و اندازه درشت (< ۱/۱۸ میلی‌متر) افزایش می‌یابد (Guinotte et al., 1991). اگر چه، Safaa et al. (2008) گزارش کردند که جایگزینی ۴۰٪ کربنات کلسیم ریز با درشت تاثیری بر عملکرد تولیدی، کیفیت پوسته تخم مرغ و خاکستر استخوان درشت‌نی در آخر دوره تولید ندارد و فقط تراکم پوسته تحت تاثیر قرار گرفت.

به کار بردن سیستم کلسیم قابل هضم در تنظیم جیره‌های طیور، بدلیل اختلاف در روش‌های اندازه‌گیری، نوسانات در مواد مورد استفاده، اندازه ذرت منبع کلسیم، تفاوت در نسبت کلسیم به فسفر، حضور یا عدم حضور فیتات در جیره و سن پرندگان، هنوز بصورت عملی مورد استفاده قرار نگرفته است. گزارش شده که ضریب قابلیت هضم کلسیم برای چهار منبع مختلف کربنات کلسیم از ۰/۲۴ تا ۰/۶۹، متغیر است (Kim et al., 2018). بخشی از تغییرات در نتایج آزمایش‌های مختلف مربوط به اثر متقابل بین کلسیم و اسید فایتیک در دستگاه گوارش می‌باشد و می‌تواند به وسیله تجزیه فیتات توسط آنزیم فیتاز تحت تاثیر قرار بگیرد (Walk et al., 2021).

در پرندگان، فیتاز میکروبی، بصورت وسیعی به عنوان یک راهکار موثر برای بهبود قابلیت استفاده از فسفر فیتاته جیره به کار برده می‌شود. استفاده از آنزیم فیتاز علاوه بر افزایش قابلیت دسترسی فسفر فیتاته، منجر به بهبود زیست‌فراهمی سایر مواد معدنی از قبیل کلسیم، بهبود کارایی آنزیم‌های گوارشی و افزایش عملکرد آنها و بهبود زیست‌فراهمی پروتئین و اسیدهای آمینه می‌گردد. مقادیر اضافی کلسیم در جیره، به فیتات متصل شده و کمپلکس کلسیم-فیتات را تشکیل داده و در مقابل تجزیه توسط فیتاز، مقاومت می‌کند و تاثیر منفی بر عملکرد فیتاز دارد (Majeed et al., 2020). اندازه‌های مختلف کربنات کلسیم هم امروزه در مرغ‌های تخمگذار استفاده می‌شود. فرض بر اینست که قابلیت هضم کلسیم در دستگاه گوارش مرغ‌های تخمگذار تحت تاثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم و آزاد شدن کمپلکس‌های تشکیل شده در دستگاه گوارش (کلسیم-فیتات) توسط آنزیم فیتاز قرار می‌گیرد. کلسیم بیشترین تاثیر را بر تشکیل کمپلکس مینرال-فیتات و زیست‌فراهمی فسفر فیتاته و غیر فیتاته در پرند ها، به ویژه در مرغ‌های تخمگذار که درصد کلسیم جیره، بالا می‌باشد، دارد (Angel et al., 2002). حلالیت

کمپلکس مینرال-فیتات وابسته به pH می باشد و رسوب این کمپلکس در pH بین ۴-۶ اتفاق می افتد (Chamoagne, 1988). رسوب کلسیم-فسفات در دستگاه گوارش با افزایش pH در نتیجه درصد بالای کلسیم، اتفاق می افتد. با توجه به اینکه، نتایج متناقض در مورد اثرات اندازه ذرات کربنات کلسیم بر عملکرد و قابلیت هضم کلسیم در مرغ های تخمگذار وجود دارد و بر اساس اطلاعات نویسندگان، اثرات متقابل آنزیم فیتاز و اندازه ذرات کربنات کلسیم در مرغ های تخمگذار تا کنون گزارش نشده است، این آزمایش با هدف تعیین اثر اندازه ذرات (ریز، متوسط، درشت) کربنات کلسیم و اثر متقابل آن با آنزیم فیتاز بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ، قابلیت هضم ظاهری کلسیم در مرغ های تخمگذار از سن ۱۹-۲۶ هفتگی انجام شد.

مواد و روش ها

آزمایش های صورت گرفته به وسیله کمیته اخلاق کار با حیوانات دانشگاه رازی تایید شد (IR.RAZI.REC.1401.025). در این تحقیق از ۲۱۶ قطعه مرغ تخمگذار سویه لوهمن (LSL-Lite) در قالب طرح کاملاً تصادفی و به روش آزمایش فاکتوریل با شش تیمار و شش تکرار و شش قطعه پرند در هر تکرار به مدت هفت هفته از سن ۱۹-۲۶ هفتگی استفاده شد. بعد از یک هفته، دوره سازش پذیری، جمع آوری داده های آزمایشی، آغاز گردید. تیمارهای آزمایشی شامل: منبع معدنی کربنات کلسیم با اندازه ذرات ریز (زیر ۰/۵ میلی متر)، متوسط (۰/۵-۲ میلی متر) و درشت (۲-۴ میلی متر) و ۲ سطح آنزیم فیتاز صفر و ۳۰۰ واحد (FTU) در کیلوگرم جیره بود. جیره پایه بر اساس نیازمندی های تغذیه ای مرغ تخمگذار لوهمن (LSL-Lite) (جدول ۱) تنظیم شد. فیتاز مورد استفاده، فیتاز باکتریایی (۶-فیتاز) بصورت گرانوله با فعالیت آنزیمی ۱۰۰۰۰ واحد در هر گرم آنزیم بود (Endo-Phos, Easy-Bio) که به جیره پایه افزوده شد (۳۰ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره). کربنات کلسیم از شرکت البرز تهیه شد. خوراک بصورت محدود و بر اساس کاتالوگ سویه پرورشی از ۹۰ گرم در روز در ابتدای دوره به ۱۰۵ گرم در پایان دوره آزمایش رسید. دامنه دمای سالن در روزهای آزمایش ۲۳-۱۸ درجه سلسیوس و برنامه نوری سالن به صورت ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت خاموشی اعمال شد. در طول دوره آزمایش، پرندگان به آب آشامیدنی آزادانه دسترسی داشتند. سیستم آبخوری سالن بصورت پستانکی و دانخوری ناودانی استفاده گردید.

در طول شش هفته دوره آزمایش، تعداد تخم مرغ و وزن تخم مرغ ها بصورت روزانه ثبت گردید و گرم تخم مرغ تولیدی، محاسبه گردید. باقیمانده خوراک در پایان هر هفته اندازه گیری و مصرف خوراک هفتگی و ضریب تبدیل غذایی محاسبه گردید. در پایان دوره آزمایش، تخم مرغ های یک روز کل پرندگان تحت آزمایش، جمع آوری گردید و صفات کیفی شامل وزن تخم مرغ، وزن زرده، وزن سفیده، وزن پوسته، ضخامت پوسته و رنگ زرده ارزیابی شد.

برای تعیین میانگین هندسی قطر ذرات کربنات کلسیم و جیره های آزمایشی، مقدار ۱۰۰ گرم از هر نمونه توزین و با استفاده از شیکر الک دار با اندازه های مختلف الک با قطر منافذ ۴۷۵۰، ۳۳۵۰، ۲۳۶۰، ۱۴۰۰، ۸۵۰، ۶۰۰، ۳۰۰ و ۷۵ میکرومتر به مدت ۱۵ دقیقه الک شد. سپس مقدار باقی مانده روی هر الک وزن شده و به صورت نسبتی از کل نمونه اولیه بیان شد. در نهایت میانگین هندسی قطر و انحراف استاندارد میانگین هندسی قطر ذرات محاسبه شد.

برای اندازه گیری ضریب قابلیت هضم ظاهری کلسیم (Apparent digestibility coefficient of nutrient) در سن ۲۶ هفتگی، از نشانگر دی اکسید تیتانیوم (EMSURE, Merck KGaA, Germany) به میزان سه گرم در هر کیلوگرم در جیره های آزمایشی استفاده شد (Mutucumarana et al., 2014). پس از هشت ساعت گرسنگی و تخلیه دستگاه گوارش، جیره های آزمایشی حاوی دی اکسید تیتانیوم به مدت سه روز تغذیه گردید، نمونه هایی از فضولات هر تکرار بصورت جداگانه، یکبار در روز جمع آوری و در پایان سه روز با هم مخلوط گردید و نمونه برداری برای اندازه گیری های آزمایشگاهی انجام شد. نمونه های خوراک و فضولات، به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس، در آون خشک، میزان ماده خشک محاسبه و سپس آسیاب گردید. کلسیم فضولات و جیره بر اساس روش تیتراسیون یا حجم سنجی (AOAC, 2005) و میزان دی اکسید

تیتانیوم با روش اسپکتروفوتومتر (Short et al., 1996) انجام گردید. قابلیت هضم ظاهری کلسیم بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{کلسیم فضولات (\%)} \times \frac{\left(\frac{\text{دی اکسید تیتانیوم جیره (\%)}}{\text{دی اکسید تیتانیوم فضولات (\%)}} \right) \times (100 - 100 \times \text{قابلیت هضم ظاهری کلسیم})}{100} = \text{قابلیت هضم ظاهری کلسیم}$$

حالات آزمایشگاهی منابع کربنات کلسیم بر اساس روش Zhang and Coon (1997) انجام شد بدین ترتیب که ۲۰۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴۲ درجه با بن ماری، گرم شد و دو گرم از هر نمونه کربنات، اضافه گردید بعد از ۱۰ دقیقه، با کاغذ صافی واتمن ۷۲۰، فیلتراسیون انجام گردید، سپس کاغذ صافی فیلتر شده به مدت ۱۰ ساعت در آون ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و پس از توزین، درصد حلالیت محاسبه گردید. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم فیتاز در جیره، از روش رنگ سنجی با دستگاه اسپکتروفوتومتر و طول موج ۴۰۵ نانومتر (AOAC 2000.12)، استفاده شد. در این روش یک واحد فیتاز (FTU) بعنوان مقدار آنزیمی که یک مول ارتو فسفات معدنی در دقیقه تحت شرایط سنجش آزاد می کند تعریف می شود.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده ها بصورت آزمایش فاکتوریل ۲×۳ (سه اندازه ذرات کربنات کلسیم و دو سطح آنزیم فیتاز) با شش تکرار آزمایشی، با استفاده از نرم افزار آماری SAS (9.4.1, 2014) با رویه GLM آنالیز گردید. هر تکرار که شامل شش قطعه مرغ بود به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح معنی داری پنج درصد انجام شد.

جدول ۱. ترکیب مواد غذایی و ترکیب شیمیایی محاسبه شده و آنالیز شده جیره پایه

ترکیب جیره	مقدار (گرم در کیلوگرم)
ذرت	۵۴۴
کنجاله سویا (cp:42%)	۲۸۳
سیوس گندم	۳۰
روغن گیاهی	۲۲/۵
کربنات کلسیم ^۱	۹۰/۵
دی کلسیم فسفات	۱۸
نمک	۲/۳
بی کربنات سدیم	۱/۵
مکمل ویتامینه و معدنی ^۱	۶
دی ال - متیونین	۲/۲
مواد مغذی تامین شده	
انرژی قابل متابولیسم، kcal/kg	۲۶۸۰
پروتئین خام، %	۱۷/۱
اسید لینولئیک، %	۲/۵
کلسیم، %	۳/۹
فسفر قابل دسترس، %	۰/۴
متیونین+سیستین، %	۰/۷۵
لیزین، %	۰/۹۳
مواد مغذی آنالیز شده	
ماده خشک، %	۹۵/۳
کلسیم، %	۴/۴۵
فسفر کل، %	۰/۹۲

Supplied per kilogram of diet: antioxidant, 100 mg; Vit. A, 9000 IU; Vit. D3, 4000 IU; Vit. E1, 12 mg; Vit. K3, 2.58 mg; Thiamin, ^۱ 0.6 mg; Riboflavin, 5.4 mg; niacin, 24.24 mg; Pantothenic acid, 8.4 mg; Pyridoxine, 1.2 mg; B9, 0.72 mg; B12, 0.016 mg; Biotin, 0.016 mg; choline chloride, 400 mg; Cu, 17.2 mg; Fe, 32.4 mg; I, 1.44 mg; Mn, 65 mg; Se, 0.3 mg; Zn, 75.6 mg.

نتایج و بحث

درصد کلسیم نمونه های ریز، متوسط و کربنات کلسیم به ترتیب ۳۹/۵۶، ۳۹/۸ و ۳۹/۴۴ بود که در زمان تنظیم جیره ها، ۳۸ درصد لحاظ شده بود به همین دلیل، میزان آنالیز شده کلسیم جیره ها بالاتر از مقدار محاسبه شده بود و مقادیر آنالیز شده جیره ها در محاسبه ضرایب ابقا، مورد استفاده قرار گرفت. داده های حاصل از توزیع اندازه ذرات کربنات کلسیم در جدول ۲ گزارش شده است. میانگین هندسی قطر ذرات کربنات کلسیم با اندازه ذرات ریز، متوسط و درشت به ترتیب ۱۳۸۹، ۱۳۵ و ۲۲۴۲ میکرومتر بود که با افزایش اندازه ذرات، میزان حلالیت آزمایشگاهی کاهش یافت. میزان حلالیت به ترتیب ۰/۸۵، ۰/۴۱ و ۰/۳۷ برای کربنات کلسیم با اندازه ریز، متوسط و درشت بود که مطابق با پژوهش های Zhang and Coon (1997) و Anwar et al. (2016) می باشد. میزان فیتات جیره پایه، بر اساس میانگین همه جیره های آزمایشی، ۰/۳۰۸ درصد بود. فعالیت آنزیم فیتاز در جیره های حاوی کربنات کلسیم ریز، متوسط و درشت که با آنزیم فیتاز، مکمل شده بودند به ترتیب ۳۴۷، ۳۶۲ و ۳۵۱ واحد در هر کیلوگرم جیره بود که بالاتر از میزان مورد انتظار (۳۰۰ واحد در هر کیلوگرم) بود.

جدول ۲. توزیع اندازه ذرات، میانگین هندسی قطر، انحراف استاندارد میانگین هندسی و حلالیت آزمایشگاهی نمونه های کربنات کلسیم

اندازه ذرات (میلی متر)	ریز	متوسط	درشت
$\geq 3/35$			۹/۰۴
۳/۳۵-۲/۳۶			۴۱/۴۸
۲/۳۶-۱/۴		۵۳/۱۴	۴۷/۹
۱/۴-۰/۸۵		۴۵/۳۴	.
۰/۸۵-۰/۶	۳/۲۴	۰/۲۸	.
۰/۶-۰/۳	۲۶/۲۶	.	.
۰/۳-۰/۰۷۵	۳۰/۱۶	۰/۵۸	۰/۷۴
$\leq 0/075$	۴۰/۳۴	۰/۶۶	۰/۸۴
میانگین هندسی قطر (μm)	۱۳۵	۱۳۸۹	۲۲۴۲
انحراف استاندارد میانگین هندسی (μm)	۲/۴	۱/۵	۱/۶
حلالیت، %	۰/۸۵	۰/۴۱	۰/۳۷

اثرات اندازه ذرات کربنات کلسیم و مکمل کردن آنزیم فیتاز در جیره بر عملکرد تولیدی مرغان تخمگذار در اوایل دوره تولید در جدول ۳ و ۴ گزارش شده است. در کل دوره آزمایش، تولید تخم مرغ و گرم تخم مرغ تولیدی تحت تاثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم و افزودن آنزیم فیتاز قرار نگرفت ($P>0.05$). افزودن فیتاز به جیره موجب افزایش عددی وزن تخم مرغ ($P=0.06$) در سه هفته دوم آزمایش و کل دوره آزمایش گردید ($P=0.1$). اثر متقابل متمایل به معنی داری ($P=0.07$) بین اندازه ذرات کربنات کلسیم و آنزیم فیتاز برای ضریب تبدیل غذایی مشاهده شد، بطوریکه بالاترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار حاوی اندازه متوسط بدون آنزیم فیتاز و کمترین مربوط به اندازه درشت بدون آنزیم فیتاز بود. اطلاعات در مورد اثر اندازه ذرات کربنات کلسیم بر تولید مرغان تخمگذار محدود می باشد. در تحقیق Wang et al. (2014) کربنات کلسیم با اندازه ذرات بین ۲۰-۰/۸۵ میلی متر موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی و گرم تخم مرغ تولیدی در مقایسه با اندازه ذرات کمتر از ۰/۱ میلی متر در اردک های تخم گذار گردید. در مطالعه Skirvan et al. (2010)، به کار بردن اندازه ذرات کربنات کلسیم در محدوده ۲۰-۰/۸ میلی متر، تولید تخم مرغ را در مقایسه با اندازه ذرات کوچکتر از ۰/۵ میلی متر در مرغان تخمگذار لوهمن قهوه ای بهبود داد. اما در تحقیق Koreleski and Swaiatkiewicz (2004)، تغییری در تولید تخم مرغ، زمانی که نصف کربنات کلسیم با اندازه ریز ($\geq 0/4$ میلی متر) با اندازه ۲-۴ میلی متر جایگزین شد، مشاهده نشد و زمانی که کل کربنات کلسیم

جیره از اندازه ۲-۴ میلی متر تامین شد، عملکرد کاهش یافت و باقیمانده ذرات کربنات کلسیم در دانخوریها، افزایش یافت. همچنین مشابه نتایج این آزمایش، چندین محقق (Guinotte and Nys, 1991; Araujo *et al.*, 2011) عدم تاثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم بر صفات تولیدی و کیفیت تخم مرغ را گزارش کرده اند.

پروتئین و اسید آمینه ها و اسید لینولئیک از جمله عواملی هستند که بر وزن تخم مرغ تاثیر می گذارند. تغییر در اندازه و وزن تخم مرغ غالباً پس از تغییر پروتئین و اسید آمینه ها دیده می شود، از طرفی وزن تخم مرغ تحت تاثیر وزن مرغ نیز قرار می گیرد، بطوریکه مرغ هایی که وزن بالاتری دارند تخم مرغ های بزرگتری تولید می کنند (Fleming *et al.*, 2003)، با توجه به اینکه اندازه ذرات منبع کلسیم، میزان پروتئین جیره را تحت تاثیر قرار نمی دهد همچنین منبع آنزیمی و نسبت های مختلف آن در این خصوص موثر نمی باشد، لذا میانگین وزن تخم مرغ تحت تاثیر اندازه ذرات کلسیم قرار نگرفت.

بنظر می رسد در مرغان تخمگذار بالغ، انرژی ماده مغذی اصلی در کنترل درصد تولید تخم مرغ می باشد. بدون توجه به مصرف پروتئین و اسیدهای آمینه، با افزایش سطح انرژی مصرفی، درصد تولید تخم مرغ افزایش می یابد (Guyer *et al.*, 1980). با توجه به عدم تاثیرگذاری اندازه ذرات کلسیم بر انرژی جیره، در نتیجه درصد تولید تخم مرغ تحت تاثیر اندازه ذرات قرار نگرفت. در پژوهش هایی که توسط Phirinyane *et al.* (2011)، De Witt *et al.* (2009) و Chen and Coon (1990) انجام شده است، نشان دادند که اندازه ذرات کلسیم بر صفات تولیدی تاثیر معناداری ندارد که با پژوهش حاضر همسو می باشند.

جدول ۳. تاثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم و آنزیم فیتاز بر تولید تخم مرغ، میانگین وزن تخم مرغ و گرم تخم مرغ تولیدی در مرغ های تخمگذار از سن ۲۰-۲۶ هفتگی^a

اندازه ذرات	آنزیم فیتاز (واحد در کیلوگرم)	۲۰-۲۳ هفتگی	۲۴-۲۶ هفتگی	۲۰-۲۶ هفتگی	تولید تخم مرغ، (%)	۲۰-۲۳ هفتگی	۲۴-۲۶ هفتگی	وزن تخم مرغ (گرم)	گرم تخم مرغ تولیدی (در روز)
ریز	۰	۶۰/۵۸	۸۷/۵۶	۷۴/۰۷	۴۸/۰۵	۵۱/۳۵	۴۹/۷	۲۹/۵۲	۲۴-۲۶ هفتگی
	۳۰۰	۶۲/۵۶	۸۸/۳۶	۷۵/۴۶	۴۸/۵۷	۵۲/۶۳	۵۰/۶	۳۰/۶۸	۲۰-۲۳ هفتگی
متوسط	۰	۶۳/۹۵	۸۰/۴۲	۷۲/۵	۴۵/۵۶	۵۱/۷۲	۴۸/۶۴	۲۹/۸۶	۲۴-۲۶ هفتگی
	۳۰۰	۵۸/۰۷	۸۷/۶۹	۷۲/۸۸	۴۹/۶۳	۵۲/۴۷	۵۱/۰۵	۲۹/۱۹	۲۰-۲۳ هفتگی
درشت	۰	۶۱/۲۴	۹۲/۰۶	۷۶/۶۵	۴۸/۸۶	۵۲/۷	۵۰/۷۸	۳۰/۴۱	۲۴-۲۶ هفتگی
	۳۰۰	۶۲/۱۶	۸۸/۰۹	۷۵/۱۳	۴۷/۸۹	۵۳/۳۳	۵۰/۶۱	۳۰/۳۴	۲۰-۲۳ هفتگی
	SEM ^b	۴/۵۷	۳/۴۹	۳/۶۲	۱/۳۱	۰/۵۷	۰/۷۶	۲/۶	۲۰-۲۳ هفتگی
اثرات اصلی									
اندازه ذرات									
ریز	۶۱/۵۷	۸۷/۹۶	۷۴/۷۶	۴۸/۳۱	۵۱/۹۹	۵۰/۱۵	۳۰/۱	۴۵/۸۱	۳۷/۹۵
متوسط	۶۱/۰۱	۸۴/۰۶	۷۲/۶۹	۴۷/۵۹	۵۲/۱	۴۹/۸۴	۲۹/۵۳	۴۳/۹۱	۳۶/۷۲
درشت	۶۱/۷	۹۰/۰۸	۷۵/۸۹	۴۸/۳۷	۵۳/۰۱	۵۰/۶۹	۳۰/۳۸	۴۷/۷۷	۳۹/۰۷
SEM ^b	۳/۲۳	۲/۴۷	۲/۵۶	۰/۹۲	۰/۴	۰/۵۴	۱/۸۴	۱/۴۶	۱/۵
آنزیم فیتاز									
۰	۶۱/۹۲	۸۶/۶۸	۷۴/۴۱	۴۷/۴۹	۵۱/۹۲	۴۹/۷	۲۹/۹۳	۴۵/۰۷	۳۷/۵
۳۰۰	۶۰/۹۳	۸۸/۰۵	۷۴/۴۹	۴۸/۶۹	۵۲/۸۱	۵۰/۷۵	۳۰/۰۷	۴۶/۵۹	۳۸/۳۳
SEM ^b	۲/۶۴	۲/۰۱	۲/۰۹	۰/۷۵	۰/۳۳	۰/۴۴	۱/۵	۱/۱۹	۱/۲۲
سطح احتمال، P≤									
اندازه ذرات	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
آنزیم فیتاز	NS	NS	NS	NS	NS	۰/۰۶	۰/۱	NS	NS
اندازه ذرات×آنزیم فیتاز	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Means in a column not sharing a common letter (a-c) are significantly different ($P < 0.05$). NS, not significant. ^a Each value represents the mean of six replicates (six birds per replicate). ^b Pooled standard error of mean.

جدول ۴. تاثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم و آنزیم فیتاز برضریب تبدیل غذایی (گرم بر گرم)

در مرغ‌های تخمگذار از سن ۲۰-۲۶ هفتگی			
اندازه ذرات	آنزیم فیتاز (واحد در کیلوگرم)	۲۰-۲۳ هفتگی	۲۴-۲۶ هفتگی
ریز	۰	۲/۳۷	۲/۰۶
	۳۰۰	۲/۵۴	۲/۱۸
متوسط	۰	۲/۴۲	۲/۲۴
	۳۰۰	۲/۸۷	۲/۲۹
درشت	۰	۲/۳۶	۲/۰۵
	۳۰۰	۲/۴۳	۲/۱۷
SEM ^a			
اثرات اصلی			
اندازه ذرات			
ریز	۲/۴۶	۱/۹	۲/۱۲
متوسط	۲/۶۴	۲/۰۲	۲/۲۶
درشت	۲/۴	۱/۹۳	۲/۱۱
SEM ^a	۰/۱۶	۰/۰۶	۰/۰۹
آنزیم فیتاز			
۰	۲/۳۸	۱/۹۴	۲/۱۲
۳۰۰	۲/۶۲	۱/۹۵	۲/۲۱
SEM ^a	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۰۷
سطح احتمال، P≤			
اندازه ذرات	NS	NS	NS
آنزیم فیتاز	NS	NS	NS
اندازه ذرات×آنزیم فیتاز	NS	۰/۰۷	NS

NS, not significant. ^a Pooled standard error of mean.

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر صفات کیفی تخم مرغ در جدول ۵ گزارش شده است. اثرات اصلی اندازه ذرات کربنات کلسیم بر ضخامت پوسته و رنگ زرده معنی دار بود ($P < 0.05$)، بطوریکه، اندازه ذرات ریز موجب بهبود ضخامت پوسته در مقایسه با اندازه متوسط کربنات کلسیم گردید. رنگ زرده در تیمار حاوی اندازه ذرات متوسط کربنات کلسیم کمترین مقدار را در مقایسه با دو اندازه دیگر نشان داد. درصد آلبومین و درصد زرده، تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$). افزودن آنزیم فیتاز، تاثیر معنی داری بر درصد پوسته تخم مرغ داشت ($P < 0.05$) و موجب افزایش درصد پوسته تخم مرغ در مقایسه با تیمار بدون آنزیم فیتاز گردید. درصد پوسته تخم مرغ تحت تاثیر اثرات اصلی اندازه ذرات کربنات کلسیم و اثر متقابل اندازه ذرات و آنزیم فیتاز قرار نگرفت. درصد زرده و سفیده تخم مرغ، تحت تاثیر وزن تخم مرغ تغییر می‌کنند، با توجه به اینکه در آزمایش حاضر، وزن تخم مرغ تحت تاثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم قرار نگرفت، لذا معنادار نبودن درصد سفید و زرده قابل قبول است. موافق با نتایج این تحقیق، Pelicia et al. (2009) گزارش کردند که سطوح و اندازه ذرات کلسیم بر صفات کیفی داخلی تخم مرغ تاثیرگذار نیستند. ضخامت پوسته مهمترین صفت کیفیت پوسته می‌باشد و در کیفیت این پارامتر عواملی مانند سطح کلسیم، فسفر و ویتامین D3 نقش دارند و هر چقدر میزان این مواد در جیره تخمگذار در دسترس تر باشد، کیفیت پوسته بهتر خواهد شد. در مطالعه، Skirvan et al. (2010)، که از دو اندازه زیر ۰/۵ و ۲-۰/۸ میلی متر کربنات کلسیم در مرغ های تخمگذار

استفاده کردند، تاثیری در استحکام پوسته مشاهده نکردند و تغییرات کمی، البته معنی دار در ضخامت پوسته، وزن پوسته و محتوای کلسیم پوسته مشاهده کردند.

در پژوهش‌هایی که Brister (1981) و Scotte *et al.* (1971) انجام دادند، بیان کردند که اندازه درشت ذرات کلسیم موجب بهبود کیفیت پوسته تخم مرغ می‌شود، این محققین گزارش کردند که ذرات درشت کلسیم مدت زمان بیشتری در سنگدان و در معرض HCl قرار می‌گیرند که در نتیجه CaCO_3 به Ca^{2+} زیستی تبدیل می‌شود که می‌تواند توسط مرغ برای کلسیفیکاسیون پوسته تخم مرغ مورد استفاده قرار گیرد، آنها همچنین گزارش کردند که تاثیر ذرات بزرگتر کلسیم در مرغ‌های مسن تر به دلیل افزایش نیاز به کلسیم بیشتر مشهود است. اختلاف نتایج با تحقیقات دیگران، ممکن است مربوط به خصوصیات فیزیکوشیمیایی منابع کلسیم باشد. همچنین در فرضیه‌ی دیگری آمده است که تاثیر مثبت اندازه ذرات بزرگ کلسیم زمانی که کلسیم جیره از حد مطلوب پایین تر باشد (Cheng and Coon, 1990) بیشتر نشان داده می‌شود. در مطالعه De Witt *et al.* (2009) نیز، اندازه ذرات کلسیم بر روی کیفیت پوسته تخم مرغ تاثیرگذار نبود. در آزمایش Jing *et al.* (2021) پارامترهای کیفی تخم مرغ، از جمله وزن و ضخامت پوسته، تحت تاثیر افزودن آنزیم فیتاز قرار نگرفت. نتایج آزمایشات در مورد تاثیر آنزیم فیتاز بر کیفیت تخم مرغ متناقض می باشد که می تواند بدلیل تفاوت‌های پرندگان، کارایی آنزیم فیتاز، سطح فسفر و کلسیم جیره و روش انجام آزمایش باشد (Jing *et al.*, 2021).

جدول ۵. تاثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم و آنزیم فیتاز بر صفات کیفی تخم مرغ در سن ۲۶ هفتگی

اندازه ذرات	آنزیم فیتاز (واحد در کیلوگرم)	آلبومین، %	زرده، %	وزن پوسته، (%)	ضخامت پوسته، (میلی‌متر)	رنگ زرده
	۰	۶۳/۶۷	۲۵/۵۴	۱۰/۷۷	۰/۴۵۶	۴/۳
ریز	۳۰۰	۶۳/۲۹	۲۵/۱۱	۱۱/۵۹	۰/۴۵۲	۴/۱۳
	۰	۶۴/۰۴	۲۵/۱۱	۱۰/۸۴	۰/۴۳۸	۳/۴۷
متوسط	۳۰۰	۶۳/۸۲	۲۵/۲۲	۱۰/۹۵	۰/۴۳۴	۴/۰۵
	۰	۶۳/۵۹	۲۵/۷۳	۱۰/۶۷	۰/۴۴۶	۴/۱۱
درشت	۳۰۰	۶۳/۶۹	۲۵/۲۱	۱۱/۰۸	۰/۴۴۴	۴/۲۲
SEM ^b		۰/۵۶	۰/۴۷	۰/۱۵	۰/۰۰۵	۰/۱۸
اثرات اصلی اندازه ذرات						
ریز	۶۳/۴۸	۲۵/۳۳	۱۱/۱۸	۰/۴۵۴ ^a	۴/۲۲ ^a	
متوسط	۶۳/۹۳	۲۵/۱۶	۱۰/۸۹	۰/۴۳۶ ^b	۳/۷۶ ^b	
درشت	۶۳/۶۴	۲۵/۴۷	۱۰/۸۷	۰/۴۴۵ ^{ab}	۴/۱۶ ^a	
SEM ^b	۰/۳۹	۰/۳۳	۰/۱	۰/۰۰۳	۰/۱۳	
آنزیم فیتاز						
۰	۶۳/۷۷	۲۵/۴۶	۱۰/۷۶ ^b	۰/۴۴۷	۳/۹۶	
۳۰۰	۶۳/۶	۲۵/۱۸	۱۱/۲ ^a	۰/۴۴۳	۴/۱۳	
SEM ^b	۰/۳۲	۰/۲۷	۰/۰۸	۰/۰۰۲	۰/۱	
سطح احتمال، P≤						
اندازه ذرات	NS	NS	NS	NS	۰/۰۰۵	۰/۰۴
آنزیم فیتاز	NS	NS	NS	۰/۰۰۱	NS	NS
اندازه ذرات×آنزیم فیتاز	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Means in a column not sharing a common letter (a-b) are significantly different ($P < 0.05$).

NS, not significant. ^a Pooled standard error of mean.

ضرایب قابلیت هضم ظاهری کلسیم و ماده خشک در جدول ۶ ارائه شده است. اثر اصلی اندازه ذرات کربنات کلسیم بر ضریب قابلیت هضم کلسیم معنی دار بود، بطوریکه در اندازه ریز و متوسط بالاتر از اندازه درشت کربنات کلسیم (۰/۴۳ و ۰/۳۳) بود ($P < 0.0001$).

نتایج تحقیقات قبلی در ارتباط با تاثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم بر قابلیت هضم کلسیم متناقض می باشد که البته بایستی با توجه به میانگین هندسی قطر ذرات یا اندازه ذرات با همدیگر مقایسه شوند. اندازه ذرات، احتمالاً مهم ترین فاکتوری است که بر حلالیت کلسیم در دستگاه گوارش (Cheng and Coon, 1990) و تعیین ضریب قابلیت هضم کلسیم تاثیر گذار می باشد. در مطالعه (Anwar et al., 2017) گزارش شد که قابلیت هضم ظاهری کلسیم در دستگاه گوارش در جوجه های گوشتی در کربنات کلسیم درشت (۰/۵-۲ میلی متر) بالاتر از اندازه ریز (زیر ۰/۵ میلی متر) بود. در موافقت با نتایج آزمایش ما که اندازه ریز و متوسط (زیر ۰/۵ و ۰/۵-۲ میلی متر) قابلیت هضم یکسانی در دستگاه گوارش داشتند، (Skirvan et al., 2010)، گزارش کردند که به کار بردن کربنات کلسیم با اندازه های زیر ۰/۵ و ۰/۵-۲ میلی متر، قابلیت هضم مشابهی در مرغ های جوان و پیر داشتند. همچنین، (Guinotte et al., 1991) گزارش کردند که قابلیت هضم کلسیم در کربنات ریز (زیر ۰/۰۷۵ میلی متر) و درشت (بالای ۱/۸ میلی متر) در جوجه های گوشتی مشابه بوده است (۰/۴ در مقابل ۰/۴۱).

در مطالعه دیگری، همین محققین قابلیت هضم بالاتر کلسیم در ذرات ریز (۱/۲ میلی متر) در مقایسه با ذرات درشت در جوجه های گوشتی در جیره های بر پایه ذرت، گندم و کنجاله سویا گزارش کردند. همچنین در تحقیق (Bradley et al., 2018)، قابلیت هضم مشابه کلسیم و فسفر را در اندازه ذرات کربنات کلسیم زیر ۰/۵ میلی متر و بالای ۰/۵ میلی متر در جوجه های گوشتی گزارش کردند. در مطالعه (Majeed et al., 2020) در جوجه های گوشتی، گزارش شد که اندازه ذرات کربنات کلسیم تاثیر معنی داری بر قابلیت هضم کلسیم و فسفر دارد و ذرات ریز (۱۹۰ میکرومتر) قابلیت هضم بهتری در مقایسه با ذرات درشت (۹۰۰ میکرومتر) دارند.

در حالیکه، (Li et al., 2021) گزارش کردند که ضریب قابلیت هضم کلسیم و کلسیم قابل هضم در کربنات کلسیم با اندازه درشت (GMD 800 μm) بالاتر از کربنات ریز (GMD 151 μm) در جوجه های گوشتی می باشد (۴۹/۱۸ در برابر ۳۹/۰۹، به ترتیب). همچنین در مطالعه، (Kim et al., 2019) و (Anwar et al., 2016) ذرات ریزتر کربنات کلسیم، قابلیت هضم ایلئومی پایین تری در مقایسه با ذرات درشت داشتند.

تفسیر نتایج، بدلیل اینکه تحقیقات قبلی نشان می دهد که ذرات درشت، زیست فراهمی بالاتری برای پرندگان دارند مشکل است. اما بنظر می رسد که رابطه خطی نبوده و نمی توان گفت هر چقدر اندازه ذرات منابع کلسیم افزایش یابد، قابلیت هضم کلسیم بیشتر می شود همانطور که در آزمایش حاضر، قابلیت هضم کلسیم در اندازه بالای ۲ میلی متر (GMD: ۲۲۴۲ میکرومتر) در مقایسه با اندازه زیر ۰/۵ میلی متر و ۰/۵-۲ میلی متر کاهش یافت. قابلیت هضم کلسیم بیشتر بوسیله اثرات متقابل کلسیم-فسفر فیتانه و احتمالاً سرعت عبور منابع کلسیم از سنگدان، تحت تاثیر قرار می گیرد. در واقع نمی توانیم به طور قطعی فرض کنیم که افزایش اندازه ذرات کربنات کلسیم یا کاهش حلالیت آنها، تاثیر مثبتی بر روی قابلیت هضم دارد (Li et al., 2021). در مطالعه (Manangi and Coon, 2007)، کمترین قابلیت هضم کلسیم در اندازه ۷۶۰ میکرومتر کربنات کلسیم و بالاترین در اندازه ۲۸ و ۱۳۰۶ میکرومتر در جوجه های گوشتی گزارش شد. همه این داده ها تاکید می کند که رابطه بین اندازه ذرات کربنات کلسیم و قابلیت هضم کلسیم، خطی نیست.

اثرات متقابل اندازه ذرات و افزودن آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری کلسیم و همچنین اثر اصلی افزودن آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری کلسیم معنی دار نبود ($P > 0.05$). در جوجه های گوشتی، (Kim et al., 2018) افزایش معنی داری در قابلیت هضم ظاهری کلسیم در کربنات کلسیم همراه با افزودن ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز در کیلوگرم در جیره های بر پایه ذرت و کنجاله سویا را گزارش کردند. در آزمایش حاضر، آنزیم فیتاز بدون ایجاد تغییر در جیره پایه افزوده شد، لذا سطح کلسیم و فسفر در جیره کاهش نیافت، اثرات افزودن آنزیم فیتاز زمانی مشهود است که سطح کلسیم کاهش یابد. کاهش کلسیم موجب

کاهش pH دستگاه گوارش و افزایش فعالیت آنزیم فیتاز می گردد (Tamim et al., 2004)، احتمالاً به همین دلیل، تأثیری از افزودن آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری کلسیم در این آزمایش مشاهده نشد. در مطالعه Jing et al. (2021)، قابلیت هضم و دفع کلسیم، همچنین میزان کلسیم در تخم مرغ، تحت تأثیر افزودن آنزیم فیتاز در مرغ های تخمگذار در اوایل دوره تولید قرار نگرفت.

اثرات اصلی اندازه ذرات کربنات کلسیم ($P < 0.01$) بر قابلیت هضم ماده خشک جیره معنی دار بود، اندازه ذرات متوسط کربنات کلسیم، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در مقایسه با اندازه ریز و درشت افزایش داد.

جدول ۶. تأثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم و آنزیم فیتاز بر ضرایب قابلیت هضم کلسیم و ماده خشک در مرغان تخمگذار در سن ۲۶ + هفتهگی^a

اندازه ذرات	آنزیم فیتاز (واحد در کیلوگرم)	ضریب قابلیت هضم ظاهری کلسیم	ضریب قابلیت هضم ظاهری ماده خشک
	۰	۰/۴۱	۰/۷۶
ریز	۳۰۰	۰/۴۴	۰/۷۹
	۰	۰/۴۸	۰/۸۲
متوسط	۳۰۰	۰/۴۲	۰/۸۱
	۰	۰/۳۴	۰/۷۶
درشت	۳۰۰	۰/۳۲	۰/۸
	SEM ^b	۰/۰۲۴	۰/۰۱۲
اثرات اصلی اندازه ذرات			
ریز		۰/۴۳ ^a	۰/۷۷ ^b
متوسط		۰/۴۵ ^a	۰/۸۱ ^a
درشت		۰/۳۳ ^b	۰/۷۸ ^b
SEM ^b		۰/۰۱۷	۰/۰۰۸
آنزیم فیتاز			
۰	۰/۴۱		۰/۸
۳۰۰	۰/۴		۰/۷۸
SEM ^b	۰/۰۱۴		۰/۰۰۷
سطح احتمال، $P \leq$			
اندازه ذرات		۰/۰۰۰۱>	۰/۰۰۴
آنزیم فیتاز		NS	NS
اندازه ذرات×آنزیم فیتاز		NS	NS

Means in a column not sharing a common letter (a–c) are significantly different ($P < 0.05$). NS, not significant.

^a Each value represents the mean of six replicates. ^b Pooled standard error of mean.

نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان تولید تخم مرغ و گرم تخم مرغ تولیدی در اوایل دوره تولید، تحت تاثیر اندازه ذرات کربنات کلسیم قرار نمی گیرد. اما استفاده از آنزیم فیتاز موجب افزایش وزن تخم مرغ و درصد پوسته تخم مرغ می گردد. اندازه ریز و متوسط (کمتر از ۰/۵ و ۰/۵ تا ۲ میلی متر) کربنات کلسیم بدلیل بالاتر بودن قابلیت هضم ظاهری کلسیم در دستگاه گوارش در مقایسه با اندازه درشت (۲-۴ میلی متر) در مرغان تخمگذار جوان توصیه می گردد.

REFERENCES

- Angel, R., Tamim, N.M., Applegate, T.J., Dhandu, A.S., Ellestad, L.E. (2002). Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. *Journal of Applied Poultry Research*, 11, 471-480.
- Anwar, M. N., Ravindran, V., Morel, P. C., Ravindran, G., & Cowieson, A. J. (2016). Apparent ileal digestibility of calcium in limestone for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 213, 142-147.
- Anwar, M. N., Ravindran, V., Morel, P. C. H., Ravindran, G., & Cowieson, A. J. (2017). Effect of calcium source and particle size on the true ileal digestibility and total tract retention of calcium in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 214, 39-45.
- Araujo, J. A. D., Silva, J. H. V. D., Costa, F. G. P., Sousa, J. M. B. D., Givisiez, P. E. N., & Sakomura, N. K. (2011). Effect of the levels of calcium and particle size of limestone on laying hens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40, 997-1005.
- Bradbury, E. J., Wikinson S. J., Cronin, C. L., & Walk, L. C. (2018). Effects of phytase, calcium source, calcium concentration, and particle size on broiler performance, nutrient digestibility, skeletal integrity. *Animal Production Science*, 58, 271-283.
- Brister Jr, R. D., Linton, S. S., & Creger, C. R. (1981). Effects of dietary calcium sources and particle size on laying hen performance. *Poultry Science*, 60(12), 2648-2654.
- Casartelli, E. M., Junqueira, O. M., Laurentiz, A. C. D., Filardi, R. D. S., Lucas Junior, J., & Araujo, L. F. (2005). Effect of phytase in laying hen diets with different phosphorus sources. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 7, 93-98.
- Champagne, E.T. (1988). Effects of pH on mineral-phytate: protein-mineral-phytate and mineral-fiber interactions. Possible consequences of atrophic gastritis on mineral bioavailability from high fiber foods. *Journal of American College Nutrition*, 7, 499-508.
- Cheng, T. K., & Coon, C. N. (1990). Effect of calcium source, particle size, limestone solubility in vitro, and calcium intake level on layer bone status and performance. *Poultry Science*, 69(12), 2214-2219.
- De Witt, F. H., Kuleile, N. P., Van Der Merwe, H. J., & Fair, M. D. (2009). Effect of limestone particle size on egg production and eggshell quality of hens during late production. *South African Journal of Animal Science*, 39(1), 37-40.
- Fleming, R. H., McCormack, H. A., McTeir, L., & Whitehead, C. C. (2003). Effects of dietary particulate limestone, vitamin K3 and fluoride and photostimulation on skeletal morphology and osteoporosis in laying hens. *British Poultry Science*, 44(5), 683-689.
- Francesch, M., Broz, J., & Brufau, J. (2005). Effects of an experimental phytase on performance, egg quality, tibia ash content and phosphorus bioavailability in laying hens fed on maize-or barley-based diets. *British Poultry Science*, 46(3), 340-348.
- Guinotte, F., & Nys, Y. (1991). Effects of particle size and origin of calcium sources on eggshell quality and bone mineralization in egg laying hens. *Poultry Science*, 70(3), 583-592.
- Guinotte, F., Gautron, J., Nys, Y., & Soumarmon, A. (1995). Calcium solubilization and retention in the gastrointestinal tract in chicks (*Gallus domesticus*) as a function of gastric acid secretion inhibition and of calcium carbonate particle size. *British Journal of Nutrition*, 73, 125-139.
- Guyer, R. B., Grunder, A. A., Buss, E. G., & Clagett, C. O. (1980). Calcium-binding proteins in

- serum of chickens: vitellogenin and albumin. *Poultry Science*, 59(4), 874-879.
- Jing, M., Zhao, S., Rogiewicz, A., Slominski, B. A., & House, J. D. (2021). Effects of phytase supplementation on production performance, egg and bone quality, plasma biochemistry and mineral excretion of layers fed varying levels of phosphorus. *Animal*, 15, 100010.
- Kim, S-W., Li, W., Angel, R., & Proszkowiec-Weglarz, M. (2018). Effects of limestone particle size and dietary Ca concentration on apparent P and Ca digestibility in the presence or absence of phytase. *Poultry Science*, 97, 4306-4314.
- Koreleski, J., & Swiatkiewicz, S. (2004). Calcium from limestone meal and grit in laying hen diets- effect on performance, eggshell and bone quality. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 13, 635-645.
- Li, W., Angel, R., Plumstead, T. W., & Enting, H. (2021). Effects of limestone particle size, phytate, calcium source, and phytase on standardized ileal calcium and phosphorus digestibility in broilers. *Poultry Science*, 100, 900-909.
- Majeed, S., Qudsieh, R., Edens, F. W., & Brake, J. (2020). Limestone particle size, calcium and phosphorus levels, and phytase effects on live performance and nutrients digestibility of broilers. *Poultry Science*, 99, 1502-1514.
- Manangi, M. K., & Coon, C. N. (2007). The effect of calcium particle size and solubility on the utilization of phosphorus for broilers. *International Journal of Poultry Science*, 6, 85-90.
- Mutucumarana, R. K., Ravindran, V., Ravindran, G., & Cowieson, A. J. (2014). Influence of Dietary Calcium Concentration on the Digestion of Nutrients along the Intestinal Tract of Broiler Chickens. *Journal of Poultry Science*, 51, 392-401.
- Phirinyane, T. B., Van der Merwe, H. J., Hayes, J. P., & Moreki, J. C. (2011). Effect of different of ration of coarse and fine limestone particles on production and shell quality of layers at peak. *Online Journal of Animal and Feed Research*, 1(3), 86-91.
- Pelicia, K., Garcia, E. A., Faitarone, A. B. G., Silva, A. P., Berto, D. A., Molino, A. B., & Vercese, F. (2009). Calcium and available phosphorus levels for laying hens in second production cycle. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 11, 39-49.
- Scott, M. L., Hull, S. J., & Mullenhoff, P. A. (1971). The calcium requirements of laying hens and effects of dietary oyster shell upon egg shell quality. *Poultry Science*, 50(4), 1055-1063.
- Reid, B. L., & Weber, C. W. (1976). Calcium availability and trace mineral composition of feed grade calcium supplements. *Poultry Science*, 55(2), 600-605.
- Safaa, H. M., Serrano, M. P., Valencia, D. G., Frikha, M., Jiménez-Moreno, E., & Mateos, G. G. (2008). Productive performance and egg quality of brown egg-laying hens in the late phase of production as influenced by level and source of calcium in the diet. *Poultry Science*, 87, 2043-2051.
- Sell, P. H., Cowison, A. J., & Ravindran, V. (2009). Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Livestock Science*, 124, 126-141.
- Short, F., Gorton, P., Wiseman, J., & Boorman, K. (1996). Determination of titanium dioxide added as an inert marker in chicken digestibility studies. *Animal Feed Science and Technology*, 59(4), 215-221.
- Skřivan, M., Marounek, M., Bubancova, I., & Podsedníček, M. (2010). Influence of limestone particle size on performance and egg quality in laying hens aged 24-36 weeks and 56-68 weeks. *Animal Feed Science and Technology*, 158, 110-114.
- Tamim, N. M., Angel, R., & Christman, M. (2004). Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. *Poultry Science*, 83, 1358-1367.
- Walk, C. L., Romero, L. F., & Cowieson, A. J. (2021). Towards a digestible calcium system for broiler chicken nutrition: A review and recommendations for the future. *Animal Feed Science and Technology*, 276, 114930.
- Wang, S., Chen, W., Zhang, H. X., Ruan, D., & Lin, Y. C. (2014). Influence of particle size and calcium source on production performance, egg quality, and bone parameters in laying ducks. *Poultry Science*, 93, 2560-2566.
- WPSA, Working Group No 2 (Nutrition). (2013). Determination of phosphorus availability in

- poultry. *World's Poultry Science Journal*, 69, 687-698.
- Zhang, B., & Coon, C. N. (1997). The relationship of calcium intake, source, size, solubility in vitro and in vivo, and gizzard limestone retention in laying hens. *Poultry Science*, 76(12), 1702-1706.