



## تحقیقات تولیدات دامی



سال پنجم/شماره دوم/تابستان ۱۳۹۵ (۱-۱۱)

دانشگاه کیلان

### بررسی اسیدیته دستگاه گوارش و خصوصیات استخوان درشت‌نی مرغان تخم‌گذار تغذیه شده با مکمل‌های آنتی‌بیوتیک، اسید آلی، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک

مصطفی شلایی<sup>۱\*</sup>، سید محمد حسینی<sup>۲</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۶ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۲۰)

#### چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر استفاده از مکمل‌های آنتی‌بیوتیک، اسید آلی، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک بر اسیدیته بخش‌های مختلف دستگاه گوارش، مواد معدنی پلاسمای خون و خصوصیات استخوان درشت‌نی مرغان تخم‌گذار انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه های-لاین (W-36) از سن ۳۲ تا ۴۲ هفتگی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۸ قطعه مرغ تخم‌گذار در هر تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد (جیره پایه، بدون افزودنی)، ۲- جیره پایه + ۱۵۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکلین، ۳- جیره پایه + ۳ کیلوگرم در تن مکمل اسید آلی ارگاسید، ۴- جیره پایه + ۵۰ گرم در تن پروبیوتیک پروتوكسین و ۵- جیره پایه + ۲ کیلوگرم در تن پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید بودند. نتایج نشان داد اسیدیته چینه‌دان، دئونوم و رژنوم در اثر استفاده از مکمل اسید آلی بطور معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). غلظت مواد معدنی پلاسمای خون (کلسیم، فسفر، منیزیم و آهن) و همچنین کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P > 0.05$ ). خاکستر استخوان درشت‌نی و قطر خارجی آن به وسیله مکمل اسید آلی افزایش معنی‌داری پیدا کرد ( $P < 0.05$ ). همچنین استفاده از مکمل‌های اسید آلی و پروبیوتیک باعث بهبود استحکام و مقاومت استخوان درشت‌نی در برابر ضربه شد. نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد استفاده از مکمل اسید آلی می‌تواند اثرات مفیدی بر خصوصیات استخوان درشت‌نی مرغان تخم‌گذار داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی:** استخوان درشت‌نی، اسیدیته دستگاه گوارش، مرغان تخم‌گذار، مکمل‌های غذایی، مواد معدنی خون

## مقدمه

(Giang and Doan, 1998; Wilson, 1991) مدولاری تأمین می‌شود (Wilson, 1991). برداشت از کلسیم استخوان‌ها زمانی رخ می‌دهد که کلسیم جیره‌ای هضم و جذب شده جهت تأمین احتیاجات کافی نباشد (Almeida Paz *et al.*, 2006). در عین حال عوامل متعدد دیگری از جمله ظرفیت جذب کلسیم از دستگاه گوارش نیز در میزان کلسیم خون و کلسیم ذخیره شده در استخوان‌ها نقش دارد. بنابراین پژوهشگران همواره به دنبال پیدا کردن راهکارهای بوده‌اند که بتوان جذب مواد معدنی را از دستگاه گوارش بهبود داده و به دنبال آن باعث افزایش ذخیره مواد معدنی در استخوان‌ها شد. بدین منظور استفاده از مکمل‌های غذایی که بتواند با مکانیسم‌های مختلف، جذب کلسیم موجود در مواد خوارکی را از دستگاه گوارش افزایش دهد مورد توجه قرار گرفته است. در این میان به نظر می‌رسد استفاده از مکمل‌هایی که بر اسیدیته دستگاه گوارش تأثیرگذار هستند، نتایج قابل قبول‌تری را ارائه داده‌اند. محققین گزارش کردند که جوچه‌های تغذیه شده با مکمل اسیدهای آلی، دارای کلسیم و فسفر خون بالاتری هستند که این افزایش در میزان pH روده و در نتیجه افزایش جذب کلسیم و فسفر از دستگاه گوارش نسبت داده شده است (Abdel-Fattah *et al.*, 2008). نتایج بدست آمده از برخی مطالعات نشان داده‌اند که با کاهش pH روده از راه افزودن مکمل‌هایی مانند اسید آلی و پری‌بیوتیک فروکتان، اثرات سودمندی در جذب کلسیم مشاهده می‌شود (Demigne *et al.*, 2008). بیان شده است که خاکستر استخوان درشتانی و همچنین درصد فسفر آن در جوچه‌های گوشتی تغذیه شده با مکمل پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (Mutus *et al.*, 2006). گروهی دیگر از محققین نیز عنوان کردند که پری‌بیوتیک‌ها موجب تحریک جذب مواد معدنی به ویژه کلسیم و منیزیم شده و در مرغ‌های تخم‌گذار موجب افزایش استحکام پوسته تخم‌مرغ می‌شوند (Scholz-Ahrens *et al.*, 2001). در مطالعه‌ای دیگر شلایی و حسینی (۱۳۹۳) با استفاده از مکمل‌های مختلف در جوچه‌های گوشتی مشاهده کردند که مکمل‌های اسید آلی، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک توانستند اسیدیته قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش جوچه‌های گوشتی را تحت

مشکلات استخوانی در طیور یکی از نگرانی‌های عمده پرورش دهنده‌گان طیور و از عوامل مهم افزایش تلفات و در نتیجه کاهش بازده اقتصادی در این صنعت می‌باشد. بررسی مشکلات اسکلتی طیور و تلاش برای بهبود کیفیت استخوان‌ها همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است. در اواسط قرن بیستم مدت کوتاهی بعد از پرورش مرغان تخم‌گذار در سیستم قفس، وضعیت نامطلوبی در سیستم اسکلتی طیور که خستگی ناشی از قفس نامیده می‌شود پدیدار شد. تحقیقات انجام گرفته مشخص کرد که خستگی ناشی از قفس با پوکی استخوان و در نتیجه استئوپروزیس همراه است (Webster, 2004). خستگی ناشی از قفس در مرغان تخم‌گذار به دلیل کاهش مواد معدنی استخوان‌ها ایجاد می‌شود که منجر به افزایش عارضه پوکی استخوان و نیز مستعد کردن مرغ به شکستگی‌های استخوانی می‌گردد. عوارض استخوانی برای مرغان تخم‌گذار می‌تواند شدید باشد. این ناهنجاری می‌تواند به وسیله عواملی نظیر ژنتیک، میزان تولید تخم‌مرغ، تغذیه و سیستم پرورشی تحت تأثیر قرار گیرد. تولید بالای تخم‌مرغ به افزایش پوکی استخوان‌ها کمک می‌کند چرا که مرغ‌ها جهت ساختن پوسته تخم‌مرغ کلسیم زیادی مصرف می‌کنند. در سیستم‌های پرورش مرغان تخم‌گذار استفاده از ذخایر کلسیمی استخوان‌ها جهت تولید پوسته تخم‌مرغ به وسیله فرایند تجزیه امری کاملاً طبیعی محسوب می‌شود (Abdul-Aziz, 1998). از لحاظ تغذیه‌ای هم عواملی مثل کلسیم، فسفر و ویتامین‌هایی مثل (Fleming *et al.*, 1998) K (Webster, 2004) D<sub>3</sub> (Weiser *et al.*, 1992) C مثل کترل می‌شود و بدن تعادل کلسیم و فسفر را با اثربخشی ویتامین D<sub>3</sub> و هورمون‌هایی مانند پاراتورمون و کلسیتونین بر روده کوچک، کلیه‌ها و استخوان تنظیم می‌کند (Viveros *et al.*, 2000). در مرغان تخم‌گذار، نیازهای کلسیم جهت تشکیل پوسته تخم‌مرغ در مرحله اوج تولید بسیار بالا می‌باشد (Roland, 1986). کلسیمی که جهت تشکیل پوسته مورد نیاز است مستقیماً از دئونوم و ژرزم و به صورت غیرمستقیم از استخوان‌های

کیلوگرم در تن مکمل اسید آلی ارگاسید، ۴- جیره پایه + ۵۰ گرم در تن پروبیوتیک پروتوكسین و ۵- جیره پایه + ۲ کیلوگرم در تن پریبیوتیک مانان الیگوساکارید. مکمل اسید آلی مورد استفاده در این آزمایش با نام تجاری ارگاسید و شامل اسیدهای فرمیک، لاکتیک، مالیک، سیتریک، تارتاریک و ارتوفسفریک بود. پروبیوتیک مورد استفاده در این آزمایش پروتوكسین بود که شامل ۷ گونه از باکتری‌های مفید دستگاه گوارش و ۲ گونه قارچ می‌باشد. سویه‌های باکتریایی شامل لاكتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاكتوباسیلوس رامنوسوس، لاكتوباسیلوس پلانتاریوم، بیفیدو باکتریوم بیفیدوم، اینتروکوکوس فاسییوم، استرپتوكوکوس ترموفیلوس و سویه‌های قارچی شامل آسپرژیلوس اریزا و کاندیدا پنتولوپسی بودند که بک گرم از این فراورده حاوی حداقل  $2 \times 10^9$  باکتری است. پریبیوتیک مورد استفاده مانان الیگوساکارید بخش دیواره بیرونی مخمر ساکارومایسین سروبزیه (MOS) بود. در انتهای دوره آزمایش از هر تکرار دو قطعه مرغ تخم‌گذار بطور تصادفی انتخاب شده و از ورید زیر بال آنها خون-گیری به عمل آمد. خون گرفته شده در لوله‌ای که دارای ماده ضد انعقاد EDTA بود ریخته شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و پلاسمای آن شامل کلسیم، فسفر، منیزیم و آهن به وسیله کیت‌های پارس آزمون مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. همچنین از هر تکرار بطور تصادفی ۲ قطعه مرغ تخم‌گذار انتخاب و کشتار شد. سپس قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش آنها جدا گردید. برای محاسبه pH قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش، ۱ گرم از محتویات چینه‌دان، پیش‌معده، سنگدان، دئونوم، ژئنوم و ایلکوم برداشته و در ۹ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه ریخته شد. پس از حل کردن کامل مخلوط حاصل، میزان اسیدیتۀ آنها به وسیله دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد (Al-natour and Alshawabkeh, 2005).

راست و چپ را از لاشه جدا کرده و پس از تمیز کردن و جدا کردن تمامی بافت‌ها، برخی از خصوصیات آن‌ها مانند طول، وزن، میزان خاکستر و مواد معدنی مورد ارزیابی قرار گرفت. وزن استخوان‌ها به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم سنجیده شد، سپس وزن نسبی آنها با تقسیم نمودن وزن استخوان بر وزن زنده محاسبه گردید. طول، قطر خارجی، قطر داخلی و ضخامت

تأثیر قرار دهنده، در صورتی که با استفاده از آنتی‌بیوتیک این تغییرات مشاهده نشد.

با توجه به اینکه اسیدیتۀ دستگاه گوارش می‌تواند تحت تأثیر جیره‌های غذایی قرار گیرد و همچنین گزارشاتی نیز مبنی بر تغییر در اسیدیتۀ دستگاه گوارش پرنده‌گان با استفاده از مکمل‌های آنتی‌بیوتیکی، اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها وجود دارد و از طرفی تغییرات اسیدیتۀ دستگاه گوارش می‌تواند جذب مواد مغذی بخصوص مواد معدنی را تحت تأثیر قرار دهد و به دنبال آن در کیفیت خصوصیات استخوان‌های طیور موثر باشد، و همچنین گزارشات اندکی در مورد بهبود خصوصیات استخوان درشت‌نی مرغان تخم‌گذار وجود دارد، بنابراین هدف از انجام این آزمایش بررسی تغییرات اسیدیتۀ دستگاه گوارش و به دنبال آن جذب مواد معدنی و خصوصیات استخوان درشت‌نی مرغان تخم‌گذار بود.

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۱۶۰ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن سویه‌های لاین W-36 در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار، ۴ تکرار و ۸ قطعه مرغ تخم‌گذار در هر تکرار از سن ۳۲ تا ۴۲ هفتگی استفاده شد. دو هفته اول آزمایش به عنوان دوره پیش آزمایش در نظر گرفته شد و در این مدت به مرغ‌ها جیره پایه داده شد و عملکرد تولیدی پرنده‌گان برای جلوگیری از خطای آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. بعد از سپری شدن دوره پیش آزمایش، مرغ‌ها بر اساس میانگین وزن مشابه به ۵ تیمار آزمایشی اختصاص داده شدند. شرایط پرورش اعم از نور، دما و سایر مشخصات، طبق توصیه راهنمای پرورش سویه W-36 فراهم شد. توزیع دان در دو نوبت در روز (۸ صبح و ۴ بعد از ظهر) انجام شد. طول مدت روشنایی سالن در شبانه روز، طبق دستورالعمل پرورشی ۱۶ ساعت بود. تهییه مناسب سالن بطور یکنواخت در طی شبانه روز انجام شد. جیره آزمایشی بر پایه ذرت-کنجاله سویا و با توجه به نیازمندی‌های توصیه شده توسط راهنمای پرورش سویه‌های لاین W-36 و به وسیله نرمافزار جیره‌نویسی UFFDA تهییه و تنظیم شد (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی مورد استفاده در این طرح به صورت زیر بودند:

- شاهد (جیره پایه)، ۲- جیره پایه + ۱۵۰ گرم در تن آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکلین، ۳- جیره پایه + ۳

شارپی استفاده شد. اساس کار این دستگاه بدین صورت است که نمونه‌های استخوان در محل مخصوص خود روی دستگاه قرار گرفته، سپس تیغه‌ای که در بالای دستگاه قرار گرفته است آزاد می‌شود. تیغه پس از برخورد با نمونه آن را شکسته و مسافتی را طی می‌کند. مقدار انرژی جذب شده به وسیله نمونه بر حسب ژول نشان داده می‌شود. سپس از قسمت شکسته شده استخوان، سطح مقطع آن محاسبه می‌شود. عدد بدست آمده به وسیله دستگاه بر سطح مقطع نمونه تقسیم شده، با این کار میزان مقاومت استخوان در برابر ضربه بر حسب ژول بر سانتی‌متر مریع بدست می‌آید.

داده‌های بدست آمده به وسیله روش GLM نرمافزار آماری SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی استفاده شد.

استخوان‌ها با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میزان خاکستر، استخوان‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده، سپس نمونه‌ها آسیاب شدند و در داخل بوته چینی در کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و درصد خاکستر محاسبه شد. غلظت فسفر نمونه‌های استخوان از راه روش فتومتريک با استفاده از مولييدوانادات و غلظت كلسيم نمونه‌ها با استفاده از روش تيتراسيون اندازه‌گيری شد(AOAC, 1995). برای بررسی استحکام استخوان درشتی از روش (2001) Kocabagli استفاده شد که اساس اين روش محاسبه نيروي مورد نياز برای شکستن استخوان با در نظر گرفتن ضخامت، طول و قطر استخوان مي‌باشد. برای بررسی مقاومت استخوان درشتی در برابر ضربه، که برای اولين بار انجام گرفت، از دستگاهی به نام دستگاه تست ضربه

جدول ۱- درصد مواد اولیه و ترکیب شیمیایی محاسبه شده جیره پایه

Table 1. Ingredients and calculated chemical composition of the basal diet

Ingredients	Value (%)	Nutrient composition	Value
Corn grain	58.75	Metabolizable energy kcal/kg	2840
Soybean meal	25.70	Crude protein %	16.30
Soybean oil	3.32	Calcium %	4.00
Oyster shell	5.07	Available phosphorus %	0.50
Limestone	4.00	Methionine %	0.27
Dicalcium phosphate	2.13	Lysine %	0.86
Vitamin-mineral premix	0.50	Methionine + Cysteine %	0.75
Common salt	0.30	Threonine %	0.60
DL-Methionine	0.21	Tryptophan %	0.22
Lysine Hcl	0.02		

Provided each kilogram of vitamin and mineral premix: 7.04 g vitamin A, 0.591 g vitamin B<sub>1</sub>, 1.6 g vitamin B<sub>2</sub>, 3.136 g vitamin B<sub>3</sub>, 13.86 g vitamin B<sub>5</sub>, 0.985 g vitamin B<sub>6</sub>, 0.192 g vitamin B<sub>9</sub>, 0.004 g vitamin B<sub>12</sub>, 2 g vitamin D<sub>3</sub>, 8.8 g vitamin E, 0.88 g vitamin K<sub>3</sub>, 0.06 g vitamin H<sub>2</sub>, 80 g choline chloride, 0.4 g antioxidant, 29.76 g Mn, 30 g Fe, 25.87 g Zn, 2.4 g Cu, 0.347 g I, 0.08 g Se and 80 g choline chloride.

سنگدان تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در دئودنوم کمترین pH مربوط به تیمار دریافت-کننده اسید آلی بود که نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود ( $P<0.05$ ). در همین قسمت پری‌بیوتیک بیشترین میزان pH را به خود اختصاص داد. در ژئنوم تیمارهای دریافت-کننده اسید آلی و پروبیوتیک کمترین میزان pH را داشتند که نسبت به تیمار حاوی پری‌بیوتیک معنی‌دار بود ( $P<0.05$ ). در ایلئوم نیز اگرچه مکمل‌های اسید آلی، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک باعث کاهش pH این بخش

## نتایج

اثر تیمارهای آزمایشی بر اسیدیته بخش‌های مختلف دستگاه گوارش مرغان تخم‌گذار در جدول شماره ۲ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد اسیدیته برخی قسمت‌های دستگاه گوارش مرغان تخم‌گذار تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. بدین صورت که اسیدیته چینه‌دان، تحت تأثیر تیمار دریافت-کننده اسید آلی نسبت به تیمارهای دریافت-کننده آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک بطور معنی‌داری کاهش یافت ( $P<0.05$ ). اسیدیته پیش‌مده و

درشت‌نی تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار داشت ( $P<0.05$ ), بدین صورت که تیمار دریافت‌کننده مکمل اسید آلی بیشترین درصد خاکستر استخوان درشت‌نی را به خود اختصاص داد و تیمار شاهد نیز کمترین میزان میزان را داشت و این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P<0.05$ ). در رابطه با میزان کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی نتایج نشان داد تمام افزودنی‌های مورد استفاده بخصوص مکمل اسید آلی باعث افزایش درصد کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی شد ولی این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ).

شدند ولی این کاهش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ).

اثر تیمارهای آزمایشی بر میزان مواد معدنی پلاسمای خون مرغان تخم‌گذار در جدول ۳ و اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی مرغان تخم‌گذار در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد غلظت کلسیم خون اگر چه در تیمارهای دریافت‌کننده اسید آلی و پری‌بیوتیک افزایش پیدا کرد ولی معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ). غلظت فسفر، منیزیم و آهن خون نیز تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P>0.05$ ). درصد خاکستر استخوان

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر اسیدیتۀ بخش‌های مختلف دستگاه گوارش مرغان تخم‌گذار

Table 2. Effect of different dietary treatments on pH values of different gastrointestinal tract segments in laying hens

Treatments	Crop	Proventriculus	Gizzard	Duodenum	Jejunum	Ileum
Control (without feed additive)	5.80 <sup>ab</sup>	5.63	4.76	5.67 <sup>ac</sup>	5.81 <sup>ab</sup>	6.64
Oxytetracyclin, 150 ppm	5.86 <sup>a</sup>	5.34	4.71	5.45 <sup>b</sup>	5.81 <sup>ab</sup>	6.02
Orgacid, 3 g/kg of diet	5.27 <sup>b</sup>	5.30	4.81	5.42 <sup>b</sup>	5.56 <sup>b</sup>	5.76
Protoxin, 50 ppm	5.90 <sup>a</sup>	5.67	4.89	5.55 <sup>bc</sup>	5.61 <sup>b</sup>	5.91
MOS <sup>1</sup> , 2 g/kg of diet	5.69 <sup>ab</sup>	5.41	4.85	5.75 <sup>a</sup>	5.91 <sup>a</sup>	5.94
SEM	0.13	0.10	0.11	0.03	0.05	0.34
<i>P</i> -value	0.030	0.070	0.845	0.0001	0.002	0.443

<sup>a-c</sup> Means within the same column indicated by different letters are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>1</sup>Mannan oligosaccharide

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر غلظت مواد معدنی پلاسمای خون مرغان تخم‌گذار (mg/dl)

Table 3. Effect of different dietary treatments on plasma minerals concentration of laying hens (mg/dl)

Treatments	Ca	P	Mn	Fe
Control (without feed additive)	17.54	7.62	3.35	184.00
Oxytetracyclin, 150 ppm	18.72	6.76	3.47	181.75
Orgacid, 3 g/kg of diet	19.58	8.42	3.25	169.25
Protoxin, 50 ppm	17.79	8.18	3.97	177.50
MOS <sup>1</sup> , 2 g/kg of diet	20.75	7.69	4.00	182.75
SEM	0.86	0.90	0.30	6.63
<i>P</i> -value	0.168	0.659	0.339	0.556

<sup>1</sup>Mannan oligosaccharide

#### جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان درشتی مرغان تخم‌گذار

Table 4. Effect of different dietary treatments on ash, calcium and phosphorus percentage of tibia in laying hens

Treatments	Ash (%)	Ca (%)	P (%)
Control (without feed additive)	55.00 <sup>b</sup>	32.99	10.66
Oxytetracyclin, 150 ppm	56.00 <sup>ab</sup>	33.11	11.05
Orgacid, 3 g/kg of diet	58.50 <sup>a</sup>	34.19	12.26
Prot toxin, 50 ppm	55.25 <sup>ab</sup>	33.53	11.49
MOS <sup>1</sup> , 2 g/kg of diet	55.50 <sup>ab</sup>	33.00	11.42
SEM	0.78	0.44	0.45
P-value	0.040	0.315	0.202

<sup>a-b</sup> Means within the same column indicated by different letters are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>1</sup>Mannan oligosaccharide

نگرفت ( $P>0.05$ ). اثر تیمارهای آزمایشی بر استحکام استخوان درشتی و همچنین مقاومت استخوان درشتی در برابر ضربه در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد اگرچه تیمارهای آزمایشی نتوانستند استحکام و مقاومت استخوان درشتی در برابر ضربه را بطور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دهند ولی شکل ۱ نمایانگر بهبود وضعیت استحکام استخوان درشتی در اثر مصرف اسید آلی و پروبیوتیک است.

اثر تیمارهای آزمایشی بر برخی خصوصیات استخوان درشتی مرغان تخم‌گذار در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهد وزن و طول نسبی استخوان درشتی تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P>0.05$ ). قطر خارجی استخوان درشتی تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار گرفت به گونه‌ای که تیمار دریافت‌کننده اسید آلی سبب افزایش معنی‌دار قطر خارجی استخوان درشتی شد ( $P>0.05$ ). ضخامت استخوان درشتی نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار

#### جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی مختلف بر برخی خصوصیات استخوان درشتی مرغان تخم‌گذار

Table 5. Effect of different dietary treatments on some characteristics of tibia in laying hens

Treatments	Relative weight (g/kg)	relative length (cm/kg)	External diameter (mm)	Internal diameter (mm)	Thickness (mm)
Control (without feed additive)	3.73	7.18	6.30 <sup>c</sup>	5.00	0.50
Oxytetracyclin, 150 ppm	4.43	7.49	6.80 <sup>bc</sup>	5.75	0.75
Orgacid, 3 g/kg of diet	4.47	7.25	7.45 <sup>a</sup>	5.50	0.75
Prot toxin, 50 ppm	4.03	7.43	6.60 <sup>bc</sup>	5.00	0.50
MOS <sup>1</sup> , 2 g/kg of diet	4.47	7.33	7.00 <sup>ab</sup>	5.50	0.62
SEM	0.19	0.09	0.12	0.23	0.09
P-value	0.073	0.192	0.0001	0.134	0.209

<sup>a-c</sup> Means within the same column indicated by different letters are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>1</sup>Mannan oligosaccharide

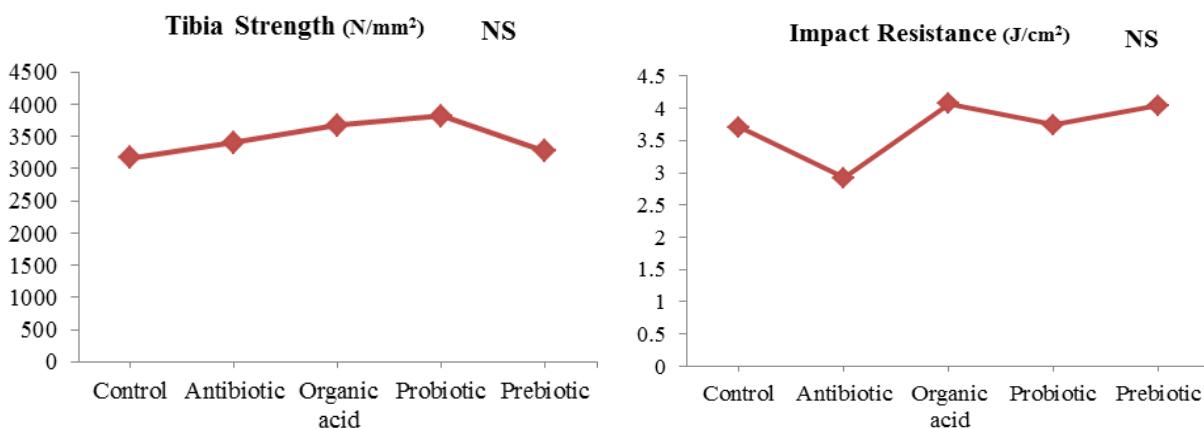


Fig. 1. Effect of different dietary treatments on strength (left) and impact resistance (right) of tibia in laying hens  
(NS: Non-significant)

شکل ۱- اثر تیمارهای آزمایشی بر استحکام (چپ) و مقاومت در برابر ضربه (راست) استخوان درشتی در مرغان تخم‌گذار

پروبیوتیک‌ها افزایش می‌یابد (Scholz-Ahrens *et al.*, 2001). گروهی از محققین گزارش کردند که جذب آهن و مواد معدنی موجود در استخوان مانند کلسیم، منیزیم و روی با استفاده از پری‌بیوتیک‌ها افزایش می‌یابد (Scholz-Ahrens *et al.*, 2001). همچنین پژوهشگران دریافتند که با اضافه کردن مکمل‌هایی مانند اسید آلی و پری‌بیوتیک به جیره غذایی پرندگان، جذب کلسیم از دستگاه گوارش بهبود می‌یابد که این محققین کاهش pH دستگاه گوارش در اثر مصرف این مکمل‌ها را دلیل بهبود در جذب کلسیم عنوان کردند (Demigne *et al.*, 2008). در آزمایش حاضر نیز با توجه به اینکه اسیدیته دستگاه گوارش به وسیله استفاده از مکمل اسید آلی کاهش پیدا کرد بنابراین انتظار می‌رفت که غلاظت مواد معدنی پلاسمای پرندگان نیز با استفاده از این مکمل افزایش یابد، ولی عدم مشاهده چنین نتیجه‌ای ممکن است به تولید بالای مرغان تخم‌گذار و نیاز به مواد معدنی برای تشکیل پوسته تخم‌مرغ مربوط باشد.

بررسی خصوصیات مربوط به استخوان یکی از معیارهای متداول برای ارزیابی کیفیت جیره‌های غذایی طیور از نظر مواد معدنی می‌باشد (Rath *et al.*, 1999). میزان خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان درشتی معمولاً پارامترهای مهم مورد استفاده در ارزیابی ذخایر مواد معدنی در استخوان هستند. گزارش شده است که افزودن اسید آلی به جیره جوجه‌های گوشتی خاکستر استخوان درشتی را بهبود می‌بخشد (Snow *et al.*, 2004). محققین نشان دادند که اضافه کردن اسیدهای آلی

## بحث

گزارشات متعددی در ارتباط با تحت تأثیر قرار گرفتن اسیدیته دستگاه گوارش پرندگان در اثر استفاده از مکمل‌های مختلف وجود دارد. اسیدی کردن جیره می‌تواند از استقرار باکتری‌های بیماری‌زای روده‌ای مانند *E.coli* و سالمونلا در خوراک و دستگاه گوارش جلوگیری کرده و در نتیجه به حفظ سلامت حیوان کمک کند (Samik *et al.*, 2007). گزارش شده است که اسیدهای آلی جمعیت میکروبی دستگاه گوارش را تغییر داده و با کاهش pH، سرعت دفع مواد معدنی کاهش می‌یابد (Garcia *et al.*, 2007). همچنین مطابق با آزمایش حاضر بیان شده است که استفاده از مکمل اسید آلی در سطح ۲ درصد باعث کاهش معنی دار pH در چینه‌دان و سنگدان شد (Clik and Ersoy, 2003). آنچه مشخص است این است که استفاده از اسیدهای آلی به فرم صنعتی در جیره طیور باعث می‌شود تا اسیدهای آلی به تدریج آزاد شده و در نهایت باعث کاهش اسیدیته دستگاه گوارش شوند (Eidelsburger, 1998).

غلاظت کلسیم و فسفر پلاسمای وسیله جذب از دستگاه گوارش، ذخیره و بازجذب از استخوان، همچنین دفع از راه مدفعه و ادرار یا بازجذب از کلیه کنترل می‌شود و بدن تعادل کلسیم و فسفر را با اثرگذاری ویتامین D<sub>3</sub> و هورمون‌هایی مانند پاراتورمون و کلسیتونین بر روده کوچک، کلیه‌ها و استخوان تنظیم کند (Viveros *et al.*, 2000). برخی از تحقیقات انجام شده حاکی از آن است که جذب مواد معدنی مانند کلسیم و منیزیم، با استفاده از

متغیر استخوانی از جمله افزایش ضخامت و وزن درشتني شد. در آزمایشی دیگر که روی خرگوش صورت گرفت، گروههای حاوی ۲ و ۴ گرم در کیلوگرم کشت مخمری نتوانست مقدار وزن، طول و استحکام استخوان درشتني را در مقایسه با گروه شاهد تحت تأثیر قرار دهد (Arican, 2012). همچنین گزارش شده است که استفاده از مکمل پروبیوتیک باعث افزایش معنی‌دار ضخامت دیواره داخلی و خارجی استخوان درشتني جوجه‌های گوشتی شد (Mutus *et al.*, 2006). افزایش معنی‌دار قطر خارجی استخوان درشتني مرغان تخم‌گذار در اثر مصرف مکمل اسید آلی در این آزمایش ممکن است در اثر بهبود وضعیت استخوان‌ها از نظر ذخیره شدن مواد معدنی باشد که در این آزمایش با افزایش معنی‌دار خاکستر استخوان درشتني مشهود است. این امر ممکن است باعث افزایش ضخامت لایه‌ها و در بی آن به دلیل افزایش معنی‌دار قطر خارجی استخوان درشتني بروز کرده باشد.

گزارش شده است که گنجانیدن آنتی‌بیوتیک به جирه جوجه‌های گوشتی باعث افزایش مقاومت در برابر شکست استخوان درشتني جوجه‌های گوشتی می‌شود (Dennine, 2005) در مطالعه‌ای که روی خوک‌ها انجام شد (Radcliffe *et al.*, 1998) گزارش شده که مکمل اسید سیتریک اثری بر قدرت شکنندگی استخوان نداشت، ولی تمایل به افزایش خطی در مقدار خاکستر با اضافه شدن اسید به جیره مشاهده شد. گزارش شده است که اضافه کردن آسکوربیک اسید به جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش قدرت شکنندگی استخوان ران شد (Orban, 1993) محققین *et al.* در دستگاه گوارش کردن که پربیوتیک‌ها در دستگاه گوارش به برخی از عناصر معدنی متصل شده و با یکدیگر از قسمت‌های ابتدایی دستگاه گوارش عبور می‌کنند، ولی در روده بزرگ مواد معدنی از پربیوتیک‌ها جدا شده و جذب خون می‌شوند. کلسیم و منیزیم از عناصری هستند که پربیوتیک‌ها با این روش موجب افزایش جذب آنها می‌شوند (Roberfroid, 2000). همچنین بیان شده است که پربیوتیک‌ها موجب تحریک جذب مواد معدنی به ویژه کلسیم و منیزیم شده و در مرغ‌های تخم‌گذار موجب افزایش استحکام پوسته تخم مرغ می‌شوند (Scholz-Ahrens *et al.*, 2001). افزایش استحکام پوسته تخم مرغ نشان‌دهنده بهبود ذخیره‌سازی مواد معدنی در پوسته تخم مرغ می‌باشد. بنابراین به نظر

(لاکتیک و فرمیک اسید) به جیره غذایی بلدرچین سبب بهبود استفاده از فسفر جیره و افزایش خاکستر استخوان درشتني شد (Sacaklı *et al.*, 2006). همچنین بیان شده است که استفاده از مکمل اسید آلی و پربیوتیک در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی باعث افزایش معنی‌دار درصد کلسیم استخوان درشتني شد (شلایی و همکاران, ۱۳۹۲). مطالعات اندکی در ارتباط با پتانسیل مخمر زنده برای افزایش ابقاء مواد معدنی در استخوان پرنده‌گان وجود دارد. گزارش شده است زمانی که پربیوتیک به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی اضافه می‌شود میزان کلسیم و فسفر موجود در استخوان درشتني افزایش می‌یابد (Mutus *et al.*, 2006). در مورد پربیوتیک‌ها نیز بیان شده است که این ترکیبات موجب افزایش جذب عناصر معدنی مانند کلسیم و منیزیم می‌شوند (Scholz-Ahrens *et al.*, 2001; Roberfroid, 2000) با توجه به نتایج گزارش‌های ذکر شده به نظر می‌رسد که پربیوتیک‌ها موجب افزایش جذب عناصری مانند کلسیم شده و نهایتاً منجر به بهبود بازجذب و ذخیره عناصر معدنی می‌شوند. به نظر می‌رسد پربیوتیک‌ها با بهبود فعالیت باکتری‌های دستگاه گوارش، افزایش اسیدهای چرب فرار و افزایش سطح جذب روده، موجب افزایش درصد ذخیره مواد معدنی در درشتني و جذب مواد معدنی می‌شوند. در بسیاری از مطالعات صورت گرفته، مواد معدنی استخوان درشتني به وسیله پربیوتیک‌ها افزایش پیدا کرده است، ولی در آزمایش حاضر این افزایش چشم‌گیر نبود. علت این اختلاف می‌تواند این موضوع باشد که در این آزمایشات خصوصیات استخوان درشتني جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفته است و در مورد مرغ‌های تخم‌گذار مطالعه‌ای در این مورد مشاهده نشد، ولی در آزمایش حاضر اثر این مکمل بر خصوصیات استخوان درشتني تخم‌گذار مورد بررسی قرار گرفت که از لحاظ میزان نیاز به مواد معدنی بخصوص به منظور تشکیل پوسته تخم مرغ کاملاً با جوجه‌های گوشتی متفاوت است. بنابراین درصد کلسیم و فسفر استخوان درشتني نتوانست تحت تأثیر معنی‌دار مکمل پربیوتیک قرار گیرد.

بر اساس گزارش Tellez *et al.* (2002) استفاده از پربیوتیک فرمکتو موجب افزایش غلظت میکروفلور مفید در روده بوقلمون‌های جوان شد و همچنین موجب بهبود چند

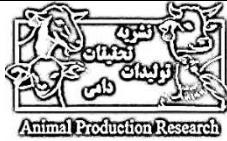
استخوان و مقاومت در برابر شکستن همبستگی مثبتی وجود دارد (Rowland *et al.*, 1967). محققین افزایش عددی در میزان مقاومت استخوان درشتی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با پروبیوتیک‌ها مشاهده کردند که این افزایش عددی همراه با افزایش درصد خاکستر استخوان درشتی جوجه‌های گوشتی بود (Mutus *et al.*, 2006). همین محققین گزارش نمودند که لاکتوباسیلوس اسپروژنیوس اثر مثبتی بر میزان خاکستر استخوان درشتی و افزایش مقاومت به شکست دارد. بنابراین بهبود مقاومت استخوان درشتی مرغان تخم‌گذار در اثر مصرف مکمل اسید آلی می‌تواند در اثر کاهش اسیدیته قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش و در نتیجه افزایش میزان خاکستر استخوان درشتی در اثر استفاده از این مکمل باشد.

می‌رسد استخوان درشتی نیز می‌تواند در اثر استفاده از این مکمل مستحکم‌تر شود. بیان شده است که دفع کلسیم با افزایش سن در پرنده بیشتر می‌شود که این امر پرنده را جهت ابتلاء به استئوپروزویس مستعد می‌کند (Urist, 1962). همچنین گفته شده است که شکستگی و پوکی استخوان اغلب در پرنده‌گان مسن رخ می‌دهد (Webster, 2004). افزایش جذب کلسیم عامل مهمی در توسعه استحکام استخوان است و می‌تواند زمینه‌ساز افزایش مقدار خاکستر درشتی باشد. در تحقیق حاضر استفاده از مکمل اسید آلی موجب افزایش معنی‌دار درصد خاکستر استخوان درشتی شد و با توجه به اینکه مقاومت استخوان درشتی مرغان تخم‌گذار نیز در این آزمایش بهبود پیدا کرد، بنابراین به نظر می‌رسد افزایش میزان خاکستر استخوان باعث افزایش مقاومت استخوان می‌شود. چنانچه گزارش شده است بین درصد خاکستر

## فهرست منابع

- شلایی م. و حسینی س. م. ۱۳۹۳. بررسی خصوصیات استخوان درشتی و pH دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با مکمل‌های آنتی‌بیوتیک، اسید آلی، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک. مجله تحقیقات دام و طیور، ۳(۳): ۳۴-۲۳.
- شلایی م.، حسینی س. م.، افضلی ن. و شعبان و. م. ۱۳۹۲. بررسی برخی خصوصیات استخوان درشتی و مینرالی شدن آن در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با مکمل‌های آنتی‌بیوتیک، اسید آلی، پروبیوتیک و پری‌بیوتیک تحت شرایط تنفس گرمایی. دومین سمینار ملی مدیریت پرورش دام و طیور، ۱۶ شهریور، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ۳۲-۲۸.
- قهی ح.، شیوازاده م.، فرهمند پ.، اقبال ج. و نجف‌زاده م. ۱۳۸۶. بررسی اثر استفاده از اسید آلی در جیره بر عملکرد جوجه‌های گوشتی. پژوهش و سازندگی، ۳۳-۲۶: ۷۷.
- Abdel-Fattah S. A., El-Sanhoury M. H., El-Mednay N. M. and Abdel-Azeem F. 2008. Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. International Journal of Poultry Science, 7: 215-222.
- Abdul-Aziz T. A. 1998. Cage layer fatigue is a complicated problem. World's Poultry Science, 14: 56-58.
- Almeida Paz I. C. L., Mendes A. A., Quintero R. R., Vulcano L. C., Takahashi S. E., Garcia R. G., Komiya C. M., Balog A., Pelicia K., Wescheler F. S., Scudeller P. S. O. and Piccinin A. 2006. Bone mineral density of tibia and Femura of broiler breeders: growth, development and production. Brazilian Journal of Poultry Science, 8: 75-82.
- Al-Natour M. Q. and Alshawabkeh K. M. 2005. Using varying levels of formic acid to limit growth of *Salmonella gallinarum* in contaminated broiler feed. Asian-Australian Journal of Animal Science, 18: 390-395.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Arican I. 2012. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* yeast on tibia characteristics in rabbits. Journal of animal and veterinary advances, 11: 1518-1521.
- Clik K. and Ersoy I. 2003. The using of organic acid in California turkey chicks and its effects on performance before pasturing. Poultry Science, 2: 446-448.
- Demigne C., Jacobs H., Moundras C., Davicco M. J., Horcajada M. N., Bernalier A. and Coxam V. 2008. Comparison of native or reformulated chicory fructans, or non-purified chicory, on rat cecal fermentation and mineral metabolism. European Journal of Nutrition, 47: 366-374.

- Dennine T. O. C. and Sothern L. L. 2005. The virginiamycin in diets with adequate or reduced dietary calcium or non-phytate phosphorus for broilers. *Journal of Poultry Science*, 84: 1868-1874.
- Eidelsburger U. 1998. Feeding short-chain organic acids to pigs. In: *Recent Advances in Animal Nutrition*, Garnsworthy P. C. and Wiseman J. 93-106. Nottingham University press, Nottingham.
- Fleming R. H., McCormack H. A. and Whitehead C. C. 1998. Bone structure and strength at different ages in laying hens and effects of dietary particulate limestone, vitamin K and ascorbic acid. *British Poultry Science*, 39: 434-440.
- Garcia V., Catala-Grogori P., Hernandez F., Megias M. D. and Madrid J. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16: 555-562.
- Giang V. D. and Doan B. H. 1998. Effects of vitamin C supplementation of a diet for 0-4 week old chicks on the absorption of calcium and phosphorus. *Livestock Research for Rural Development*, 10: article 2.
- Gilliland S. E., Nelson C. R. and Maxwell C. 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillusacidophilus* bacteria. *Applied Environmental Microbiology*, 49: 337-381.
- Kocabagli N. 2001. The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 25: 97-802.
- Mutus R., Kocabagl N., Alp M., Acar N., Eren M. and Gezen S. S. 2006. The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Poultry Science Association*, 85: 1621-1625.
- Orban J. I., Roland D. A., Cummins K. and Lovell R. T. 1993. Influence of large doses of ascorbic acid on performance, plasma calcium, bone characteristics, and eggshell quality in broilers and Leghorn hens. *Poultry Science*, 72: 691-700.
- Radcliffe J. S., Zhang Z. and Kornegay E. T. 1998. The effects of microbial phytase, citric acid, and their interaction in a corn-soybean meal-based diet for weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 76: 1880-1886.
- Rath N. C., Balog J. M., Huff W. E., Huff G. R., Kulkarni G. B. and Tierce J. F. 1999. Comparative difference in the composition and biochemical properties of the tibiae of seven and seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. *Poultry science*, 78: 1232-1239.
- Roberfroid M. B. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6): 1682S-1687S.
- Roland S. D. A. 1986. Egg shell quality. II. Importance of time of calcium intake with emphasis on broiler breeders. *World's Poultry Science*, 40: 255- 259.
- Rowland L. O., Harms R. H., Wilson H. R., Ross I. J. and Fry F. L. 1967. Breaking strength of chick bones as an indication of dietary calcium and phosphorus adequacy. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 126: 399-401.
- Sacaklı P., Sehu A., Ergun N. A., Genc B. and Selcuk Z. 2006. The effect of phytase and organic acid on growth performance, carcass yield and tibia ash in quails fed diets with low levels of non-phytate phosphorus. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19: 198-202.
- Samik K. P., Gobinda H., Manas K. M. and Gautam S. 2007. Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken. *Poultry Science*, 44: 389-395.
- SAS Institute. 2004. User's Guides. Version 9.1: Statistics. SAS Institute, Cary N.C.
- Scholz-Ahrens K. E., SchaafsmaVanden G., Heuvel E. and Schrezenmeir J. 2001. Effects of prebiotics on mineral metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2S): 459S-464S.
- Snow J. L., Baker D. H. and Parsons C. M. 2004. Phytase, citric acid, and 1-hydroxycholecalciferol improve phytate phosphorus utilization in chicks fed a corn-soybean meal diet. *Poultry Science*, 83(7): 1187-1192.
- Tellez G. , Nava G., Vicente J. L., Donghue A. M., Huff W. E., Balog J., Donoghue D. J., Sutton L. M., Higgins S. and Hargis B. M. 2002. Evaluation of the effect of dietary *Aspergillus sp.* Meal prebiotic (Fermacto) on poult performance, intestinal strength, tibial diameter and tibial strength: Hatch to 30 days of age. *Poultry Science*, 83 (4): 142 (Abstr.).
- Urist M. 1962. Osteoporosis. *Annual Review of Medicine*, 13: 273-286.
- Viveros A., Brenes A., Arija I. and Centeno C. 2002. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. *Poultry Science*, 81: 1172-1183.
- Webster A. B. 2004. Welfare implications of avian osteoporosis. *poultry Science*, 83: 184-192.
- Weiser H., Schlachter M., Probst H. P. and Kormann A. W. 1992. The relevance of ascorbic acid for bone metabolism. In: Wenk, C.; R. Fenster, L. Volker. (eds.). *Ascorbic Acid in Domestic animals. 2<sup>nd</sup> Symposium*, Zurich, Switzerland, 73-95.
- Wilson H. R. 1991. Interrelationships of egg size, chick size, post hatching growth and hatchability. *World's Poultry Science*, 47: 5-20.



## Acidity of gastrointestinal tract and tibia characteristics of laying hens fed diets supplemented with antibiotic, organic acid, probiotic and prebiotic

M. Shalaei<sup>1\*</sup>, S. M. Hosseini<sup>2</sup>

1. Graduated MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand  
2. Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand

(Received: 25-2-2014 – Accepted: 9-2-2016)

### Abstract

This study was conducted to investigate the effect of antibiotic, organic acid, probiotic and prebiotic on acidity of the gastrointestinal tract, blood plasma minerals concentrations and tibia characteristics of laying hens. The experiment was carried out as a completely randomized design with 160 laying hens of hy-line strain (w-36) from 32 to 42 weeks of age with 5 treatments, 4 replicates and 8 hens in each replicate. The experimental dietary treatments consisted: 1-basal diet, 2-basal diet + 150 g/ton of diet antibiotic (oxy tetracycline), 3-basal diet + 3 kg/ton of diet organic acid supplementation, 4- basal diet + 50 g/ton of diet probiotic protoxin, and 5- basal diet + 2 kg/ton of diet prebiotic mannan oligosaccharide. Dietary organic acid supplementation significantly decreased the acidity of crop, duodenum and jejunum ( $P<0.05$ ). Blood plasma minerals (Ca, P, Mn and Fe) concentrations and also calcium and phosphorus of tibia were not significantly affected by dietary treatments ( $P>0.05$ ). Tibia ash and external diameter of it significantly increased by organic acid ( $P<0.05$ ). Also use of organic acid and probiotic supplements improves strength and resistance against impact of tibia. The results obtain from this study indicate that use of organic acid supplementation can have beneficial effects on tibia characteristics of laying hens.

**Keywords:** Tibia, Acidity of gastrointestinal tract, Laying hens, Food supplements, Blood minerals

\*Corresponding author: Mosayeb\_shalaey@yahoo.com