**Animal Production Research**

Vol. 11, No. 3, 2022 (67-81)
doi: 10.22124/AR.2022.21551.1683
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

**RESEARCH PAPER** **OPEN ACCESS**

# Influence of vitamin $D_3$ and lactic acid on performance, egg quality, and hatchability in broiler breeder hens

**R. Kanani[1], R. Kianfar[2*], H. Janmohammadi[3], W. Kyun Kim[4], M. Olyaee[5]**

1. Ph.D. Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
4. Associate Professor, Department of Poultry Sciences, College of Agricultural and Environmental Science, University of Georgia, Athens, USA
5. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(Received: 22-01-2022 – Accepted: 11-06-2022)

**Introduction**: Vitamin $D_3$ is one of the important vitamins in calcium metabolism, which is significantly involved in the absorption of calcium from the intestine. The main role of 1, 25-hydroxyvitamin $D_3$ in vertebrates is to regulate calcium homeostasis, as 1, 25-hydroxyvitamin $D_3$ has a direct effect on the gut, kidney, and bones by inhibiting the production of parathyroid hormone in the parathyroid glands. The synthesis of 1, 25-dihydroxycholecalciferol is tightly controlled, and the main stimulus for its synthesis is the reduction in plasma calcium. This is a feedback stimulus for the release of parathyroid hormone from the parathyroid gland. This hormone in turn stimulates the 1-hydroxylase enzyme complex in the kidney and causes the conversion of 25-hydroxycholecalciferol through the synthesis of calcium-binding protein in the duodenum, thereby increasing dietary calcium absorption and ultimately plasma calcium. Another powerful factor in calcium absorption is organic acids. By lowering the pH of the digestive tract, organic acids (lactic acid) prevent the formation of an insoluble complex of phytic acid with minerals, making phytate more sensitive to the action of endogenous phytase and preventing it from interfering with the absorption of minerals. Therefore, the purpose of this research was to study the effect of vitamin $D_3$ and lactic acid on performance, egg quality, and hatchability in broiler breeders.

**Materials and methods:** A total of 240 broiler breeder hens and 24 roosters of Ross 308 strain were used in a completely randomized design with a 2×2 factorial arrangement including two levels of vitamin D (3500 and 5500 IU) and two levels of organic acid (zero and 500 mg/kg) in four treatments, six replications, and 10 hens and one rooster per replication. During the experiment, the percentage of hatchability, the number, and weight of eggs produced by each pen were recorded and using the common formulas of egg mass (as the percentage of laying multiplied by the average egg weight), the percentage of egg production as chicken-day and the feed conversion factor (as grams of feed consumed per gram of egg), the amount of feed used to produce each number of eggs and each piece of chicken, as well as the number of chickens produced per chicken was also calculated. Egg characteristics (egg weight and shape index) and egg shell quality (egg specific weight, eggshell weight compared to total egg weight and eggshell thickness), albumen and yolk pH, yolk index, Haugh unit, yolk color, percentage albumen and yolk percentage of four eggs from each replicate were measured every 28 days. The specific weight of the eggs was determined using the flotation method. The egg shape index was determined by measuring the width and length of the egg with a caliper to calculate the ratio of width to length. To determine eggshell parameters, eggs were identified and broken individually. Eggshells were washed under running water and dried at 35 °C for 72 hours. Then the eggshells were weighed and their relative weight was calculated. A digital micrometer (Series 500, Mitoyota, Tokyo, Japan) was used to measure the shell thickness.

* Corresponding author: Rkianfar@tabrizu.ac.ir

**Results and discussion:** Results showed that the main effect of vitamin $D_3$ at higher concentrations was affecting egg weight and reducing egg weight ($P$<0.05). The main effect of vitamin $D_3$ at higher concentrations caused an increase in albumen pH, shell percentage, shell thickness, and specific gravity of the egg, and a decrease in yolk pH ($P$<0.05). Probably, with the increase in vitamin $D_3$, the concentration of 1,25-cholecalciferol and the amount of calcium absorption increase, and since most of the shell is related to calcium carbonate, this leads to an increase in the thickness of the eggshell. The main effect of lactic acid showed a significant effect on performance parameters, and the addition of lactic acid improved performance ($P$<0.05). Lactic acid also significantly increased hatchability and shell thickness and reduced the number of broken eggs ($P$<0.05). It appears that organic acids increase the solubility of wheat phytates during germination. Therefore, acidification of the diet provides a better environment for phytase to reduce the amount of phytate present in digestion and flowing into the small intestine, thereby largely preventing the formation of insoluble mineral-phytate complexes and increasing the quality of the eggshell. Also, the main effect of lactic acid showed no significant influence on the internal quality of the eggs. The low levels of vitamin $D_3$ and the addition of lactic acid improved shell thickness and reduced the percentage of shell breakage ($P$<0.05).
**Conclusions:** In general, according to the results of the present experiment, the use of lactic acid at the rate of 500 mg/kg along with 3500 IU of vitamin $D_3$ can increase the percentage of production, shell thickness, reduce the number of broken eggs, improve the feed conversion ratio, increase chicken production and reduce feed consumption per egg and chicken at the end of the production period of broiler breeder hens.
**Keywords:** Lactic acid, Eggshell, Settable eggs, Broiler breeder, Vitamin $D_3$

**How to cite this article:**

Kanani R., Kianfar R., Janmohammadi H., Kyun Kim W. and Olyaee M. 2022. Influence of vitamin $D_3$ and lactic acid on performance, egg quality, and hatchability in broiler breeder hens. Animal Production Research, 11(3): 67-81. doi: 10.22124/AR.2022.21551.1683

تحقیقات تولیدات دامی

سال یازدهم/شماره سوم/پاییز ۱۴۰۱ (۸۱-۶۷)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

**مقاله پژوهشی**

# تأثیر ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و جوجه‌درآوری در مرغان مادر گوشتی

**رضا کنعانی[۱]، روح‌اله کیان‌فر[۲*]، حسین جانمحمدی[۳]، وو کیون کیم[۴]، مجید علیایی[۵]**

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۴- دانشیار، گروه علوم طیور، کالج علوم کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه جورجیا، ایالات متحده آمریکا

۵- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۰۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۱)

## چکیده

آزمایشی به منظور بررسی تأثیر ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و جوجه‌درآوری در مرغان مادر گوشتی انجام شد. تعداد ۲۴۰ قطعه مرغ و ۲۴ قطعه خروس مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ به مدت ۱۲ هفته (از سن ۴۹ تا ۶۱ هفتگی) در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲ شامل دو سطح ویتامین $D_3$ (۳۵۰۰ و ۵۵۰۰ واحد بین‌المللی) و دو سطح اسید لاکتیک (صفر و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در چهار تیمار، شش تکرار و ۱۰ قطعه مرغ و یک قطعه خروس به ازای هر تکرار استفاده شد. در طول دوره آزمایش، صفات عملکرد تولید و جوجه‌درآوری ثبت، و هر ۲۸ روز یک‌بار، تعداد چهار عدد تخم مرغ از هر تکرار برای بررسی کیفیت داخلی و خارجی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر اصلی ویتامین $D_3$ در سطوح بالاتر، وزن تخم مرغ را تحت تأثیر قرار داد و باعث کاهش وزن تخم مرغ شد ($P<۰/۰۵$). اثر اصلی ویتامین $D_3$ در سطوح بالاتر سبب افزایش pH سفیده و کاهش pH زرده شد و درصد پوسته، ضخامت پوسته و وزن مخصوص تخم مرغ را افزایش داد ($P<۰/۰۵$). افزودن اسید لاکتیک باعث بهبود عملکرد شد ($P<۰/۰۵$). همچنین اسید لاکتیک، جوجه‌درآوری و ضخامت پوسته را افزایش و تعداد تخم مرغ‌های شکسته را کاهش داد ($P<۰/۰۵$)، اما اثر آن بر سایر صفات، معنی‌دار نبود. اثر متقابل ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر فراسنجه‌های عملکردی، اندازه تخم مرغ و کیفیت پوسته، معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$)، به‌طوری که در سطوح پایین ویتامین $D_3$، افزودن اسید لاکتیک باعث بهبود عملکرد و ضخامت پوسته شد و درصد شکستگی پوسته را کاهش داد ($P<۰/۰۵$). بنابراین استفاده از اسید لاکتیک و ویتامین $D_3$ سبب افزایش درصد تولید، ضخامت پوسته، کاهش شکستگی تخم مرغ، بهبود ضریب تبدیل غذایی و همچنین افزایش تعداد جوجه تولیدی به ازای هر مرغ در اواخر دوره تولید مرغان مادر گوشتی شد.

**واژه‌های کلیدی:** اسید لاکتیک، پوسته تخم مرغ، تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، مرغ مادر گوشتی، ویتامین $D_3$

* نویسندهٔ مسئول: Rkianfar@tabrizu.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2022.21551.1683

**مقدمه**

کیفیت پوسته تخم مرغ از جمله ویژگی‌های با اهمیت در صنعت طیور تخم‌گذار محسوب می‌شود که بر شاخص‌های اقتصادی تولید تخم مرغ و قابلیت جوجه‌درآوری نیز اثرگذار است. استحکام بالای پوسته و بی‌نقص بودن آن برای جلوگیری از نفوذ باکتری‌هایی مثل سالمونلا به داخل تخم مرغ ضروری است. تخمین زده شده که تخم مرغ‌هایی با پوسته آسیب دیده حدود شش تا ۱۰ درصد تخم مرغ‌های تولید شده را شامل شده که یک ضرر اقتصادی قابل توجه محسوب می‌شود (Washburn, 1982). از جمله نگرانی‌های اصلی، کاهش کیفیت پوسته تخم مرغ همزمان با افزایش سن پرنده است که گاهی میزان تخم مرغ‌های شکسته ممکن است حتی به بیش از ۲۰ درصد در اواخر دوره تخم-گذاری برسد (Nys, 2001). دلیل افت کیفیت پوسته با گذشت زمان، کاهش تدریجی در بازده ذخیره و آزادسازی کلسیم در استخوان‌های مدولاری است. ویتامین $D_3$ یکی از ویتامین‌های مهم در سوخت و ساز کلسیم است که نقش مهمی در جذب کلسیم از روده دارد. سوخت و ساز ویتامین $D_3$ با منشاء خوراکی و یا درون‌زادی در پرندگان، شامل مجموعه‌های از فرآیندها است. پیش‌ساز ویتامین $D_3$، ۷-هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول است که در حضور استرول ۷-ردوکتاز از کلسترول تولید می‌شود. زمانی که ۷-دهیدرو کلسترول در معرض نور با طول موج ۲۹۰ تا ۳۱۹ نانومتر قرار می‌گیرد به ویتامین $D_3$ تبدیل می‌شود (Dusso *et al.*, 2005). سپس این کمپلکس ابتدا به کبد منتقل شده و با افزوده شدن اولین گروه OH در موقعیت کربن ۲۵، به ۲۵-هیدروکسی ویتامین $D_3$ تبدیل می‌شود. ترکیب حاصله به کلیه رفته و دومین گروه OH در موقعیت کربن ۱ افزوده می‌شود. در این مرحله، فرم فعال ویتامین $D_3$ شکل گرفته و فعال‌سازی ویتامین $D_3$ به واسطه آنزیم ۱-آلفا هیدروکسیلاز کبدی صورت می‌گیرد (Holick *et al.*, 1981). نقش اساسی ۱،۲۵-هیدروکسی ویتامین $D_3$ در مهره‌داران برای تنظیم هموستازی کلسیم، به‌صورت اثر مستقیم ۱،۲۵-هیدروکسی ویتامین $D_3$ بر روده، کلیه و استخوان‌ها به واسطه مهار تولید هورمون پاراتورمون در غدد پاراتیروئید است (Pike *et al.*, 2007). تولید ۱،۲۵-دی‌هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول به‌طور دقیق کنترل می‌شود و محرک اصلی برای ساخت آن، کاهش کلسیم پلاسما است که محرک فیدبکی برای آزاد شدن هورمون پاراتورمون از غده پاراتیروئید است. این هورمون به نوبه خود سبب تحریک کمپلکس آنزیمی ۱-هیدروکسیلاز در کلیه شده و از راه تولید پروتئین متصل‌کننده کلسیم در دوازدهه موجب افزایش جذب کلسیم جیره و در نهایت افزایش کلسیم پلاسما می‌شود (Pike *et al.*, 2007). فعالیت ویتامین $D_3$ به غلظت پلاسمایی کلسیم وابسته است. اگر غلظت کلسیم پایین باشد ۱-آلفا-هیدروکسیلاز کلیوی فعال شده و ۱،۲۵-دی‌هیدروکسی ویتامین $D_3$ (فرم فعال ویتامین $D_3$) ساخته می‌شود. اگر غلظت کلسیم کافی باشد، ۲۵-هیدروکسی ویتامین $D_3$ متحمل هیدروکسیلاسیون در کربن ۲۴ شده و در کلیه به فرم غیرفعال تبدیل می‌شود. ۱،۲۵-دی‌هیدروکسی ویتامین $D_3$ به واسطه مهار ۱-آلفا-هیدروکسیلاز کلیوی و تحریک ۲۴-هیدروکسیلاز، تولید خود را کنترل می‌کند. همچنین ۱-آلفا-هیدروکسیلاز کلیوی به وسیله هورمون پاراتورمون و کلسی‌تونین کنترل می‌شود (Zhong *et al.*, 2009). گزارش شده است که افزودن ویتامین $D_3$ به جیره مرغان تخم‌گذار، استحکام پوسته تخم‌مرغ را افزایش داد (Plaimast and Kijparkorn, 2010). بر اساس نتایج یک مطالعه، افزودن OH-25-$D_3$ به جیره مرغان تخم‌گذار باعث افزایش تراکم پوسته شد. با افزایش میزان ویتامین $D_3$ از صفر به ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی به کیلوگرم، راندمان تبدیل تخم مرغ به جوجه از ۶۹/۷۲ به ۷۰/۶۹ رسید (Bar *et al.*, 1979). در تحقیقی دیگر گزارش شده که افزودن کوله‌کلسیفرول به جیره مرغان مادر گوشتی اثر مثبتی بر جوجه‌درآوری داشته، و مرگ‌ومیر جنینی نیز کاهش یافت (Saunders *et al.*, 2014). یافته‌های یک تحقیق حاکی است که افزودن ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی به کیلوگرم ویتامین $D_3$ به جیره مرغان مادر گوشتی سبب افزایش معدنی شدن استخوان در نتاج آن‌ها شد، ولی تاثیری بر باروری و جوجه‌درآوری نداشت (Peng *et al.*, 2013). افزودن ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ واحد در کیلوگرم کوله‌کلسیفرول به جیره مرغان تخم‌گذار باعث افزایش وزن تخم‌مرغ شد بدون اینکه اثر مثبتی بر عملکرد تولید داشته باشد (Browning and Cowieson, 2015).

زمانی که محتوای ویتامین $D_3$ در جیره مرغ مادر و به تبع آن در زرده تخم مرغ کم باشد روند جوجه‌کشی مختل خواهد شد چرا که در حمل و نقل کلسیم و انتقال به پوسته اختلال ایجاد خواهد کرد (Scott, 1982). نتایج یک تحقیق

نشان داد که افزایش میزان سطوح ویتامین $D_3$ در خوراک مرغ‌های مادر، تولید تخم مرغ و جوجه‌درآوری را افزایش داد و همزمان مرگ و میر جنینی نیز کاهش یافت (Abdulrahim *et al.,* 1979). این در حالی است که در مطالعه‌ای نشان داده شد که تغذیه ۱ –آلفاکوله‌کلسیفرول به مدت ۲۵ هفته در جیره مرغ‌های مادر، کمبود ویتامین $D_3$ را جبران کرد و اثر نامطلوبی بر میزان تخم مرغ و باروری نداشت، ولی به‌طور قابل توجهی منجر به کاهش جوجه‌درآوری شد و دلیل آن، توانایی بسیار کم مرغ برای انتقال ۱-آلفاکوله‌کلسیفرول به تخم مرغ گزارش شد (Soares *et al*., 1979).

در مطالعه‌ای، اثر تغذیه‌ای کوله‌کلسیفرول در سطوح صفر تا ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک در جیره مرغ-های مادر (۲۵ تا ۶۶ هفتگی) برای بررسی وضعیت جوجه‌های هچ شده بررسی و گزارش شد که با افزایش میزان این ویتامین در جیره مرغ‌ها، نرمی استخوان در جوجه‌های هچ شده بسیار پایین بود. وقتی جیره مرغ‌ها کمبود ویتامین $D_3$ داشته باشد پوسته تخم مرغ به شدت نرم شده و به تبع آن، جوجه‌درآوری کاهش خواهد یافت. به‌طور کلی، متابولیت‌های ویتامین $D_3$ در بدن به شدت از تولید طبیعی و جوجه‌درآوری حمایت می‌کند (Atencio *et al*., 2005).

اسیدهای آلی (اسید لاکتیک) احتمالاً از چند راه مختلف در بهبود هضم و جذب مواد معدنی مؤثر هستند. مسیر اول، ساز و کار کاهش pH دستگاه گوارش است. کاهش pH دستگاه گوارش مانع از تشکیل کمپلکس نامحلول اسید فایتیک با مواد معدنی شده و در نتیجه، فیتات به عمل فیتاز آندوژنی حساس‌تر باقی مانده و از مداخله آن با جذب عناصر معدنی جلوگیری می‌شود (Rafacz *et al*., 2005). دومین ساز و کار مؤثر در بهبود جذب عناصر معدنی این است که اسیدهای آلی، خود به عنوان کلیت‌کننده عناصر معدنی همچون کلسیم و فسفر عمل کرده و جذب آنها را از دستگاه گوارش بهبود می‌بخشند (Edmonds *et al*., 2014). ساز و کار مؤثر سوم عبارت است از افزایش طول پرزهای روده که در نتیجه آن، احتمالاً تعداد جایگاه‌های جذب مواد معدنی بالا رفته و جذب کلسیم و فسفر نیز بهبود می‌یابد. اسیدهای آلی سبب تغییر فلور میکروبی دستگاه گوارش شده و با کاهش pH، به کندی سرعت دفع مواد مغذّی منجر شده و مدت زمان ماندگاری پروتئین را افزایش داده و در نتیجه به کاهش دفع مواد مغذّی نیتروژن‌دار از راه آمونیاک منجر می‌شوند (Garcia *et al*., 2006). استفاده از اسیدهای آلی در جیره غذایی منجر به افزایش هضم، بهبود ضریب تبدیل غذایی و میزان تولید تخم مرغ روزانه، بهبود توده تخم‌مرغ تولیدی، و افزایش جذب نیتروژن و کلسیم می‌شوند. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که افزودن اسید سیتریک به جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش وزن بدن (Afsharmanesh *et al*., 2005)، افزایش مصرف خوراک و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد (Moghadam *et al*., 2006). از آثار مثبت اسیدهای آلی می‌توان به بهبود ضریب تبدیل خوراک و کاهش جمعیت برخی باکتری‌های بیماری‌زا مثل سالمونلا و تغییرات بافتی در دستگاه گوارش اشاره نمود (Soltan, 2008).

استفاده از اسید لاکتیک در جیره‌های غذایی مرغ‌های تخم‌گذار، از رشد میکروارگانیسم‌های مضر در دستگاه گوارش جلوگیری نموده ولی اثری بر ضخامت پوسته تخم مرغ نداشت (Roy *et al*., 2002). افزودن اسید پروپیونیک به جیره‌های غذایی نیمچه بوقلمون‌ها به‌طور معنی‌داری سبب کاهش باکتری‌های انتروباکتریاسه از قبیل سالمونلا در انتهای دستگاه گوارش و کاهش تلفات در آنها شد (Parks *et al*., 2001). بنابراین pH اسیدی روده باعث افزایش حلالیت کلسیم و در نتیجه بهبود جذب کلسیم می شود. به‌طور کلی هر عاملی که باعث افزایش حلالیت کلسیم شود جذب کلسیم را نیز افزایش خواهد داد. مشخص شده است که تجویز ترکیبی لاکتوباسیلوس با مکمل کوله کلسیفرول منجر به حفظ سطح سرمی کافی ۲۵-OH-D در افراد در معرض خطر کمبود ویتامین D شد (Castagliuolo *et al*., 2021). از آنجایی که گزارش شده بود که جذب ویتامین D در غلظت‌های بالاتر یون هیدروژن افزایش می‌یابد (Hollander *et al*., 1978)، نویسندگان این فرضیه را مطرح کردند که افزایش مشاهده شده در سطح سرمی ویتامین D می‌تواند نتیجه اسیدی شدن مجرای روده کوچک باشد. بنابراین به نظر می‌رسد برای جلوگیری از کاهش کیفیت پوسته تخم مرغ و جلوگیری از زیان‌های اقتصادی صنعت مرغداری، با توجه به اینکه در اواخر دوره تولید، جذب کلسیم کمتر می‌شود، ویتامین $D_3$ و اسید آلی حائز اهمیت فراوانی است. با توجه به موارد مطرح شده، هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر توام ویتامین $D_3$ و اسید

لاکتیک بر عملکرد، کیفیت تخم مرغ و جوجه‌درآوری در مرغان مادر گوشتی است.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در شرکت آذرجوجه مشگین واقع در استان اردبیل انجام شد. تعداد ۲۴۰ قطعه مرغ مادر گوشتی راس ۳۰۸ و ۲۴ قطعه خروس از سن ۴۹ تا ۶۱ هفتگی به مدت ۱۲ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۲ در چهار تیمار شامل دو سطح ویتامین $D_3$ (۳۵۰۰ و ۵۵۰۰ واحد بین‌المللی) و دو سطح اسید لاکتیک (صفر و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، شش تکرار و ۱۰ قطعه مرغ و یک قطعه خروس در پن‌های آزمایشی (به ابعاد $m^2$ ۱/۵×۳ به ازای هر تکرار) تقسیم شدند. پرمیکس ویتامین $D_3$ حاوی پنج میلیون واحد ویتامین $D_3$ در کیلوگرم و اسید آلی (اسید لاکتیک) به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. یک جیره پایه بر اساس توصیه سویه راس ۳۰۸ تنظیم شد و سپس افزودنی‌های مدنظر جایگزین بخش خنثی جیره شدند (جدول ۱). پرندگان در طول آزمایش در محدوده دمایی بین ۲۱ تا ۲۷ درجه سلسیوس، با میانگین ۲۴ درجه سلسیوس، نگهداری شده و به‌طور آزاد به آب دسترسی داشته و یک‌بار در روز با مقدار محدود خوراک تغذیه شدند و یک برنامه نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی در طول آزمایش برای همه گروه‌ها اعمال شد. همه پرندگان به شیوه مدیریتی مشابهی بر اساس راهنمای مدیریت پرورش سویه راس ۳۰۸ نگهداری شدند. سالن آزمایشی مجهز به دان‌خوری کانال (تراف) برای مرغ‌ها، دان‌خوری بشقابی برای خروس‌ها، آبخوری‌های نیپل و لانه‌های تخم‌گذاری برای جمع‌آوری دستی تخم مرغ بود. نور مصنوعی نیز با لامپ‌های LED تأمین شد. پرندگان به‌صورت جداگانه توزین و در پن‌ها توزیع شدند. در طول دوره آزمایش، تخم‌مرغ‌ها هفت بار در روز (در ساعات ۰۸:۰۰، ۰۹:۰۰، ۱۰:۰۰، ۱۱:۰۰، ۱۲:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۱۶:۰۰) جمع‌آوری و در قالب عناوین تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، ترک خورده و شکسته جداسازی شدند.

در طول آزمایش، تعداد و وزن تخم مرغ تولیدی هر پن رکوردگیری شد و با استفاده از فرمول‌های رایج، گرم تخم‌مرغ تولیدی (به صورت درصد تخم‌گذاری ضرب در میانگین وزن تخم مرغ)، درصد تولید تخم مرغ به‌صورت روز مرغ و ضریب تبدیل خوراک (به عنوان گرم خوراک مصرف شده به ازای هر گرم تخم مرغ)، مقدار خوراک مصرفی برای تولید هر عدد تخم مرغ و هر قطعه جوجه و همچنین تعداد جوجه تولیدی به ازای هر مرغ نیز محاسبه شد.

از هر تکرار، چهار عدد تخم مرغ در هر ۲۸ روز یک‌بار برای اندازه‌گیری خصوصیات تخم مرغ (وزن و شاخص شکل تخم مرغ) و کیفیت پوسته تخم مرغ (وزن مخصوص تخم مرغ، وزن پوسته تخم مرغ نسبت به وزن کل تخم مرغ و ضخامت پوسته تخم مرغ)، pH سفیده و pH زرده، رنگ زرده، درصد سفیده و درصد زرده استفاده شد. شاخص زرده نیز بر اساس فرمول زیر، از تقسیم قطر زرده به ارتفاع زرده ضربدر ۱۰۰ حاصل شد (Funk, 1948):

$$\text{شاخص زرده} = \frac{\text{قطر زرده}}{\text{ارتفاع زرده}} x100$$

همچنین واحد هاو نیز بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Mirghelenj *et al.,* 2018):

$$HU= 100 \text{ Log } (AH - 1.7EW^{0.37} +7.57)$$

که، HU= واحد هاو، AH= ارتفاع سفیده بر حسب میلی‌متر و EW= وزن تخم مرغ بر حسب گرم است.

وزن مخصوص تخم مرغ با استفاده از روش فلوتاسیون تعیین شد (Valizadeh *et al.,* 2018). شاخص شکل تخم مرغ با اندازه‌گیری عرض و طول تخم مرغ با کولیس برای محاسبه نسبت عرض به طول تعیین شد (Lee Tools، مدل ۶۸۴۱۳۲، سائوپائولو، برزیل). برای تعیین فراسنجه‌های پوسته تخم مرغ، تخم مرغ‌ها به‌صورت جداگانه شناسایی و شکسته شدند. پوسته‌های تخم مرغ در زیر آب جاری شسته و در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. سپس پوسته‌های تخم مرغ توزین و وزن نسبی آنها محاسبه شد. برای اندازه‌گیری ضخامت پوسته از میکرومتر دیجیتال (سری ۵۰۰، میتویوتا، توکیو، ژاپن) استفاده شد. ضخامت پوسته تخم مرغ در سه ناحیه مختلف با دستگاه میکروسنج مخصوص با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. همچنین تخم مرغ و پوسته تخم مرغ در ترازوی دقیق دیجیتال (۰/۰۰۱ گرم) وزن شدند (Divari *et al*., 2020). فراسنجه‌های مرتبط با جوجه‌کشی با استفاده از تخم مرغ‌های گذاشته شده، سه بار در طول آزمایش (هر چهار هفته یک‌بار) مورد ارزیابی قرار گرفت. تا زمان ارسال تخم مرغ به دستگاه جوجه‌کشی، تخم مرغ‌ها حداکثر به مدت

پنج روز در یک اتاق در شرایط کنترل محیطی (در دمای ۱۹ تا ۲۱ درجه سلسیوس و ۶۰ تا ۸۰ درصد رطوبت نسبی) نگهداری شدند. ۱۵ تخم مرغ به ازای هر تکرار (یک سینی برای هر تکرار) انکوبه شدند. تخم مرغ‌ها در دستگاه CASP (مدل Mg124، CASP، Amparo، SP، برزیل) در دمای ۳۷/۵ درجه سلسیوس و ۵۲/۵ درصد رطوبت نسبی در سینی‌های نشانه‌گذاری شده در هر تکرار، انکوبه و به‌طور تصادفی در چرخ‌های جوجه‌کشی توزیع شدند. در روز ۱۸، تخم مرغ‌ها به هچر (CASP، مدل Ug21، CASP، Amparo، SP، برزیل) در دمای ۳۶/۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۵ درصد تا زمان خروج از تخم مرغ منتقل شدند. سپس جوجه‌ها از هچر خارج و شمارش شدند. درصد جوجه‌درآوری به‌صورت درصد جوجه‌های هچ شده نسبت به تخم مرغ‌های گذاشته شده در دستگاه جوجه‌کشی به‌دست آمد. هر جوجه به‌صورت بصری برای تعیین کیفیت جوجه مورد بررسی قرار گرفت و به عنوان جوجه درجه اول یا دوم طبقه‌بندی شد. جوجه‌های مرغوب به‌صورت تمیز، خشک، عاری از آلودگی، بدون تغییر شکل (بدون ضایعات پوستی، منقار خوش فرم و فرم پا خوب) و با ناف کاملاً بسته و بدون کیسه زرده تعریف شدند.

## نتایج و بحث

*آثار ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر عملکرد مرغان مادر گوشتی*: آثار ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر عملکرد تولیدی مرغان مادر گوشتی در جدول ۲ ارائه شده است. اثر اصلی ویتامین $D_3$ بر توده تخم مرغ، درصد تولید، ضریب تبدیل خوراک، مصرف خوراک برای تولید هر تخم مرغ و مصرف خوراک برای تولید هر جوجه معنی‌دار نبود، اما افزایش ویتامین $D_3$ از ۳۵۰۰ به ۵۵۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم باعث کاهش وزن تخم‌مرغ (از ۶۶/۵۴ به ۶۵/۸۰ گرم) شد ($P<۰/۰۵$). مخالف با نتایج حاضر گزارش شده که افزودن ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم کوله‌کلسیفرول به جیره مرغان تخم‌گذار سبب افزایش وزن تخم مرغ شد بدون اینکه اثر مثبتی بر عملکرد تولید داشته باشد (Browning and Cowieson, 2015). در آزمایشی گزارش شد که پرندگانی که جیره آنها شامل ۴۲۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین $D_3$ بود نسبت به پرندگانی که از سطح صفر و ۳۵۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین تغذیه شدند دارای تخم مرغ‌های سنگین‌تری در ۷۶ تا ۷۸ هفتگی بودند (Kazemifard *et al*., 2010). در تحقیقی دیگر مشاهده شد که افزودن ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین $D_3$ در سن ۸۰ تا ۹۴ هفتگی در جیره مرغان تخم‌گذار، اثر مثبتی بر عملکرد تولید نداشت (Nascimento *et al*., 2014) که موافق با نتایج حاضر است.

جدول ۱- مواد تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره

Table 1. Ingredients and chemical composition of basal diet

| Ingredients | Formula (%) | Nutrients | Analysis (%) |
|---|---|---|---|
| Barley | 5 | AMEn (Kcal/kg) | 2800 |
| Corn, grain | 60.17 | Protein | 14 |
| Soybean meal (44%) | 17.87 | Crude Fiber | 2.563 |
| Wheat bran | 2.61 | Calcium | 3.4 |
| Soybean oiL | 2 | Total Phosphorus | 0.533 |
| Dical. Phos. | 1.11 | Avail. Phosphorus | 0.32 |
| $NaHCO_3$ | 0.46 | Potassium | 0.606 |
| Limestone | 3.02 | Chlorine | 0.18 |
| Oyster shells | 5.56 | Sodium | 0.23 |
| Common salt | 0.18 | Choline | 1.484 |
| Vitamin premix[1] | 0.25 | ARG | 0.906 |
| Mineral premix[2] | 0.25 | LYS | 0.825 |
| DL-Methionine | 0.18 | MET | 0.414 |
| L-Lysine HCl | 0.14 | TSAA | 0.667 |
| Choline Cl -70% | 0.05 | THR | 1.462 |
| L-Threonin | 0.94 | TRP | 0.183 |
| Inertfiller | 0.2 | DCAB (meq/kg) | 210 |
| Total | 100 | | |

[1] Vitamin premix included 12,200 IU vitamin A; 3,500 IU vitamin $D_3$; 21.6 IU vitamin E; 2.9 IU vitamin $K_3$; 3.2 mg vitamin $B_1$; 12.6 mg vitamin $B_2$; 5.5 mg vitamin $B_6$; 0.046 mg vitamin $B_{12}$; 20 mg pantothenic acid; 40 mg niacin; 4 mg folic acid; 0.29 mg biotin. [2] Mineral premix included 0.20 mg selenium; 20 mg copper; 50 mg iron; 115 mg manganese; 100 mg zinc; 2 mg iodine.

جدول ۲ - آثار اصلی و متقابل ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر عملکرد مرغان مادر گوشتی

Table 2. Main and interaction effects of vitamin $D_3$ and lactic acid on the performance of broiler breeder hens

| Item | | Egg weight (g) | Egg mass (g) | Egg production (%) | Feed conversion ratio | Feed per chicken (g) | Feed per egg (g) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vitamin $D_3$ | 3500 | 66.54[a] | 49.31 | 71.57 | 3.31 | 256.05 | 228.30 |
| | 5500 | 65.80[b] | 49.35 | 72.33 | 3.30 | 251.91 | 225.68 |
| *P*-value | | 0.002 | 0.940 | 0.200 | 0.787 | 0.127 | 0.156 |
| SEM | | 0.150 | 0.309 | 0.404 | 0.021 | 1.84 | 1.25 |
| Lactic acid (LA) | 0 | 65.97 | 47.95[b] | 70.26[b] | 3.40[a] | 262.24[a] | 232.27[a] |
| | 500 mg | 66.37 | 50.71[a] | 73.64[a] | 3.21[b] | 245.73[b] | 221.70[b] |
| *P*-value | | 0.074 | 0.0001 | 0.002 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 |
| SEM | | 0.150 | 0.309 | 0.404 | 0.021 | 1.84 | 1.25 |
| Interaction | | | | | | | |
| 3500 $D_3$×0 LA | | 66.48[a] | 47.15[c] | 68.90[c] | 3.46[a] | 267.05[a] | 236.76[a] |
| 3500 $D_3$×500 LA | | 66.60[a] | 51.48[a] | 74.25[a] | 3.16[c] | 245.05[c] | 219.83[c] |
| 5500 $D_3$× 0 LA | | 65.46[b] | 48.75[b] | 71.63[b] | 3.34[b] | 257.42[b] | 227.79[b] |
| 5500 $D_3$× 500 LA | | 66.15[a] | 49.95[b] | 73.03[ab] | 3.26[b] | 246.40[c] | 223.57[bc] |
| SEM | | 0.212 | 0.437 | 0.572 | 0.029 | 2.60 | 1.77 |
| *P*-value | | 0.198 | 0.001 | 0.001 | 0.002 | 0.047 | 0.001 |

[a-c] Means with different superscripts within a column differ significantly ($P<0.05$).

SEM: Standard error of the means

بر عکس نتایج حاضر، گزارش شده که افزودن ۲۷۵۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم کوله‌کلسیفرول به جیره مرغان تخم‌گذار در سن ۲۳ تا ۳۴ هفتگی باعث بهبود ضریب تبدیل شد (Salvador *et al*., 2009). در آزمایشات قبلی نشان داده شده که افزودن $OHD_3$۲۵ به جیره مرغان تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری بر تولید تخم مرغ و ضریب تبدیل نداشته است (Keshavarz, 2003; Kappeli *et al*., 2011). در حالی‌که در آزمایشی (Mattila *et al*., 2004) با استفاده از سطوح بالای ویتامین D در جیره مرغ‌های تخم‌گذار (۱۵۰۰۰ واحد)، کاهش اندازه تخم مرغ را گزارش کردند. یکی از دلایل نتایج متناقض در این آزمایش و آزمایشات قبلی در مورد اندازه تخم مرغ را می‌توان به درصد تولید بالاتر پرندگان دریافت‌کننده سطح بالای ویتامین D نسبت داد، ولی به‌طور کلی مشابه با آزمایشات قبلی، وزن توده‌ای تخم مرغ در بین سطوح مختلف ویتامین D یکسان بوده است.

اثر اصلی اسید لاکتیک به غیر از وزن تخم مرغ، سایر صفات عملکردی از قبیل توده تخم مرغ و درصد تولید را افزایش و ضریب تبدیل خوراک را بهبود داد و همچنین مصرف خوراک برای تولید هر جوجه و مصرف خوراک برای تولید هر تخم مرغ را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P<0.05$) که با نتایج یک مطالعه دیگر (Browning and Cowieson, 2015) مطابقت دارد. توده تخم مرغ و درصد تولید در جیره‌ای که اسید لاکتیک به مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم همراه با ۳۵۰۰ واحد $D_3$ استفاده شده بود نسبت به تیماری که اسید لاکتیک استفاده نشده بود بالاتر بود. همچنین ضریب تبدیل خوراک در هنگامی که ۳۵۰۰ واحد ویتامین $D_3$ به همراه ۵۰۰ میلی‌گرم اسید لاکتیک استفاده شده بود نسبت به تیمار بدون اسید لاکتیک، عملکرد بهتری داشت و باعث بهبود ضریب تبدیل شد. افزودن اسید لاکتیک به جیره، ضریب تبدیل خوراک را نسبت به سایر تیمارها بهبود بخشید ($P<0.05$) که با نتایج یک تحقیق دیگر (Izat *et al*., 1990) مطابقت دارد. اسیدهای آلی با کاهش pH دستگاه گوارش نقش مهمی در کاهش میکروارگانیسم‌های مضر از جمله میکرب‌های بازوفیل دستگاه گوارش دارند. در اثر این عمل، جمعیت میکروبی مضر کاهش یافته و ضمن کاهش تلفات مواد مغذی مصرفی و یا تجزیه شده به وسیله این میکروارگانیسم‌ها، زمینه مساعدی برای فعالیت میکروب‌های مفید و در نتیجه جذب مواد مغذی بیشتر مهیا نموده و بالا رفتن بازده جذبی، منجر به استفاده بیشتر از مواد مزبور به شکل مفید در مواردی نظیر عملکرد مرغ‌ها می‌شود. کاهش باکتری‌های مضر دستگاه گوارش طیور و در نتیجه افزایش عملکرد آنها در زمان استفاده از اسید پروپیونیک (Roy *et al*., 2002) و همچنین در زمان استفاده از مخلوط اسید پروپیونیک و اسید فرمیک (Iba *et al*., 1995) نیز گزارش شده است. در آزمایشی دیگر با استفاده از اسید آلی (مخلوطی از فرمیک اسید و پروپیونیک اسید) در سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد در جیره مرغان تخم‌گذار در طول ۱۸ هفته نشان داده شد که استفاده از اسید آلی

تاثیری بر وزن بدن و مصرف خوراک نداشت، اما باعث بهبود تولید تخم‌مرغ شد (Yesilbag and Colpan, 2006) که با نتایج حاضر مطابقت دارد.

اثر متقابل سطوح مختلف ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر توده تخم مرغ، درصد تولید، ضریب تبدیل خوراک و مصرف خوراک به ازای هر تخم مرغ معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). به این صورت که افزودن اسید لاکتیک به جیره با سطح پایین ویتامین $D_3$ موجب افزایش توده تخم مرغ، درصد تولید و مصرف خوراک به ازای هر تخم مرغ نسبت به جیره با سطح بالای ویتامین $D_3$ شد که بیشترین درصد تولید و توده تخم‌مرغ مربوط به تیمار ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم $D_3$ همراه با افزودن اسید لاکتیک بود. همچنین این تیمار، مصرف خوراک به ازای هر تخم مرغ، مصرف خوراک به ازای هر جوجه و ضریب تبدیل خوراک پایین‌تری نسبت به بقیه تیمارها داشت. بیشترین مصرف خوراک به ازای هر تخم مرغ، مصرف خوراک به ازای هر جوجه و ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار سطح پایین ویتامین $D_3$ بدون افزودن اسید لاکتیک بود. اسیدهای آلی سبب تغییر جمعیت میکروبی موجود در روده شده و بر ریخت‌شناسی دیوارۀ سلولی روده تأثیر می‌گذارند. بنابراین آنها سبب افزایش جذب مواد مغذی شده و در نتیجه، عملکرد بهبود خواهد یافت (Langhout, 2000). اما اثر متقابل سطوح مختلف ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر وزن تخم مرغ تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

*آثار ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر جوجه‌درآوری و کیفیت جوجه در مرغان مادر گوشتی:* آثار ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر جوجه‌درآوری و کیفیت جوجه در مرغان مادر گوشتی در جدول ۳ ارائه شده است. اثر اصلی ویتامین $D_3$ با اینکه به لحاظ عددی در سطح بالاتر باعث کاهش شکستگی پوسته، افزایش تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، افزایش جوجه‌درآوری و افزایش تعداد جوجه به ازای هر مرغ به‌صورت هفتگی و کل شد، اما تاثیر معنی‌داری به لحاظ آماری بر هیچ یک از صفات نداشت. در مقابل تحقیق حاضر گزارش شده است که افزایش میزان سطوح ویتامین $D_3$ در خوراک مرغ‌های مادر، تولید تخم مرغ و جوجه‌درآوری را افزایش و مرگ و میر جنینی را کاهش داد (Abdulrahim *et al*., 1979). این در حالی است که در مطالعه‌ای نشان داده شد که تغذیه ۱–آلفاکوله‌کلسیفرول به مدت ۲۵ هفته در جیره مرغ‌های مادر، کمبود ویتامین $D_3$ را جبران کرده و اثر نامطلوبی بر میزان درصد تولید و باروری نداشت، ولی به‌طور قابل توجهی منجر به کاهش درصد جوجه‌درآوری شد و دلیل آن، توانایی بسیار کم مرغ برای انتقال ۱-آلفا کوله‌کلسیفرول به تخم مرغ گزارش شده است (Soares *et al.*, 1979). از طرفی، افزایش میزان $D_3$(OH)25-1 سبب افزایش قابل توجه میزان کلسیم پلاسما می‌شود در نتیجه فعالیت ۱-آلفا هیدروکسیلاز کلیوی را بالا برده و باعث افزایش معنی‌دار ترشح پوسته و کاهش شکستگی تخم‌مرغ خواهد شد که این امر میزان باروری و جوجه‌درآوری را بالا می‌برد (Harms *et al.,* 1990). در آزمایشی دیگر گزارش شد که افزودن مکمل کوله‌کلسیفرول هیدروکسیله به جیره مرغان مادر گوشتی، نرخ باروری و جوجه‌درآوری را بهبود بخشید و تولید تخم مرغ نیز بیشتر شد (Coto *et al*., 2010). همچنین در پژوهشی گزارش شد که افزودن ویتامین $D_3$ به جیره مرغان مادر تخم‌گذار سبب کاهش مرگ و میر جنینی شد و درصد جوجه‌درآوری نیز افزایش یافت (Duarte *et al.,* 2015). اثر اصلی اسید لاکتیک باعث افزایش درصد تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، جوجه‌درآوری، تعداد جوجه‌ها به ازای هر مرغ به‌صورت هفتگی و کل دوره شده و باعث کاهش میزان شکستگی تخم مرغ شد ($P<۰/۰۵$). اسید لاکتیک باعث افزایش آزادسازی فسفر فیتاته و کلسیم از غلات به روده شده و ممکن است جذب و ابقای ظاهری کلسیم و فسفر را افزایش دهد (Vötterl *et al*., 2020). همچنین گزارش شده است که افزایش تخمیر در روده بزرگ و تولید اسیدهای کوتاه زنجیر موجب تحریک جذب کاتیون‌های روده (به عنوان مثال کلسیم و منیزیم) می‌شود. این اسیدها سبب کاهش pH دستگاه گوارش شده و حلالیت مواد معدنی را افزایش می‌دهند (Klinsoda *et al.,* 2019). در نتیجه، شیب معدنی بین سمت مجرا و سروزی افزایش می‌یابد و امکان افزایش انتقال غیرفعال مواد معدنی فراهم می‌شود که می‌تواند کاهش شکستگی پوسته و افزایش جوجه‌درآوری را در پی داشته باشد. اثر متقابل سطوح مختلف ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر درصد تخم مرغ قابل ارسال به جوجه‌کشی و میزان شکستگی تخم مرغ معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$)، که بیشترین شکستگی مربوط به تیمار ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی $D_3$ و بدون استفاده از اسید لاکتیک و کمترین شکستگی مربوط به تیمار ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین $D_3$ به همراه ۵۰۰ میلی‌گرم اسید لاکتیک بود. اسیدهای آلی سبب

تغییر فلور میکروبی دستگاه گوارش شده و بـا کاهش pH، منجر به کند شدن سرعت دفـع مـواد مغـذی و افزایش زمان ماندگاری پـروتئین می‌شوند که بـه کاهش دفع مواد مغذی نیتروژن‌دار از راه آمونیاک منجر می‌شود. همچنین pH اسیدی روده، افزایش حلالیت کلسیم و بهبود جذب کلسیم را موجب می‌شود (Garcia *et al*., 2006). با اینکه اثر متقابل ۵۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین $D_3$ و ۵۰۰ میلی‌گرم اسید لاکتیک بر جوجه‌درآوری به‌صورت عددی نسبت به بقیه تیمارها بالاتر بود، اما به‌صورت آماری معنی‌دار نبود. همچنین در مورد درصد جوجه‌های درجه یک و دو با اینکه به لحاظ عددی تیمار ۳۵۰۰ ویتامین $D_3$ به همراه ۵۰۰ میلی‌گرم اسید لاکتیک دارای بیشترین درصد جوجه‌های درجه یک بود، اما به لحاظ آماری، معنی‌دار نبود. تعداد جوجه به ازای هر مرغ به‌صورت هفتگی و کل دوره به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر آثار متقابل ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک قرار گرفت، به‌طوری که مرغان دریافت‌کننده سطوح بالای ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک توانستند در طول ۱۲ هفته آزمایش، ۴/۶ جوجه بیشتر تولید کنند. با توجه به نتایج به‌دست آمده به نظر می‌رسد که اسید لاکتیک توانست اثربخشی ویتامین $D_3$ را افزایش دهد که علت این افزایش را می‌توان به جذب بالاتر ویتامین $D_3$ در حضور اسید لاکتیک مرتبط دانست زیرا جذب ویتامین $D_3$ در غلظت‌های بالاتر یون هیدروژن افزایش می‌یابد (Hollander *et al*., 1978) و این مورد در تحقیقات اخیر نیز با استفاده از باکتری‌های لاکتوباسیل به اثبات رسیده است (Castagliuolo *et al*., 2021). همچنین اسید لاکتیک باعث افزایش آزادسازی فسفر فیتاته و کلسیم غلات در روده شده و می‌تواند جذب و ابقای ظاهری کلسیم و فسفر را افزایش دهد (Vötterl *et al*., 2020). بنابراین سطوح بالاتر ویتامین $D_3$ و افزودن اسید لاکتیک، تعداد جوجه به ازای هر مرغ به‌صورت هفتگی و کل دوره را افزایش داد.

*آثار ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر کیفیت داخلی تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی:* نتایج مربوط به آثار ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر کیفیت داخلی تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. آثار اصلی ویتامین $D_3$ تاثیری بر درصد سفیده، درصد زرده، واحد هاو و شاخص زرده نداشت، اما بر pH سفیده و pH زرده تأثیر معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$)، که سطوح بالاتر ویتامین $D_3$ باعث افزایش pH سفیده و کاهش pH زرده شد. در تحقیقی گزارش شد که افزودن ویتامین $D_3$ به جیره مرغان تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری برکیفیت تخم مرغ از جمله واحد هاو نداشت (Mattila *et al*., 2004) که با نتایج حاضر مطابقت دارد.

جدول ۳- آثار اصلی و متقابل ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر جوجه‌درآوری و کیفیت جوجه در مرغان مادر گوشتی

Table 3. Main and interaction effects of vitamin $D_3$ and lactic acid on hatchability and chicken quality in broiler breeder hens

| Treatments | | Settable eggs (%) | Unsettable eggs (%) | Hatchability (%) | Chicken per hen for 12 weeks | Chickens per hen/week | Chicken grading (%) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | Grade 1 | Grade 2 |
| Vitamin $D_3$ | 3500 | 97.31 | 2.68 | 91.14 | 53.65 | 4.47 | 92.58 | 7.42 |
| | 5500 | 97.58 | 2.41 | 91.75 | 54.46 | 4.54 | 91.79 | 8.21 |
| *P*-value | | 0.073 | 0.073 | 0.192 | 0.157 | 0.156 | 0.674 | 0.683 |
| SEM | | 0.100 | 0.100 | 0.319 | 0.393 | 0.032 | 1.32 | 0.993 |
| Lactic acid (LA) | 0 | 97.05$^{b}$ | 2.94$^{a}$ | 90.73$^{b}$ | 52.30$^{b}$ | 4.36$^{b}$ | 90.73 | 9.27 |
| | 500 mg | 97.84$^{a}$ | 2.15$^{b}$ | 92.16$^{a}$ | 55.80$^{a}$ | 4.65$^{a}$ | 93.63 | 6.37 |
| *P*-value | | 0.004 | 0.0001 | 0.004 | 0.0001 | 0.0001 | 0.137 | 0.292 |
| SEM | | 0.100 | 0.100 | 0.319 | 0.393 | 0.032 | 1.32 | 0.993 |
| Interaction | | | | | | | | |
| 3500 $D_3$×0 LA | | 96.60$^{c}$ | 3.39$^{a}$ | 90.78 | 51.35$^{c}$ | 4.28$^{c}$ | 90.78 | 9.13 |
| 3500 $D_3$×500 LA | | 98.02$^{a}$ | 1.97$^{c}$ | 91.50 | 55.67$^{a}$ | 4.64$^{a}$ | 91.50 | 5.71 |
| 5500 $D_3$× 0 LA | | 97.50$^{b}$ | 2.49$^{b}$ | 90.68 | 53.27$^{b}$ | 4.44$^{b}$ | 90.68 | 9.40 |
| 5500 $D_3$× 500 LA | | 97.66$^{ab}$ | 2.34$^{bc}$ | 92.83 | 55.95a | 4.66$^{a}$ | 92.83 | 7.03 |
| SEM | | 0.142 | 0.142 | 0.639 | 0.556 | 0.046 | 1.87 | 1.98 |
| *P*-value | | 0.0002 | 0.0002 | 0.129 | 0.05 | 0.05 | 0.783 | 0.91 |

$^{a-c}$ Means with different superscripts within a column differ significantly ($P<0.05$).

SEM: Standard error of the means

آثار اصلی افزودن اسید لاکتیک، تأثیر معنی‌داری بر هیچ یک از صفات کیفیت داخلی پوسته تخم مرغ نداشت که موافق با نتایج یک تحقیق دیگر (Meng *et al*., 2010) بود. بر خلاف نتایج حاضر گزارش شده است که استفاده از اسید لاکتیک به میزان یک درصد به جیره مرغ‌های تخم‌گذار باعث افزایش ارتفاع سفیده، شاخص زرده و واحد هاو شد (Yalcin *et al*., 2009). علت عدم تاثیر تیمارهای اعمال شده بر فراسنجه‌های داخلی را می‌توان به تازه بودن تخم مرغ‌ها ارتباط داد زیرا در صورت ضعیف بودن پوسته و بالا بودن تبالات گازی با محیط، کیفیت داخلی تخم مرغ افت می‌نماید. همچنین دلیل متفاوت بودن نتایج با سایر محققین را می‌توان به تفاوت سویه مورد آزمایش مرتبط دانست. آثار متقابل سطوح مختلف ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک نیز تأثیر معنی‌داری بر کیفیت داخلی تخم مرغ نداشت.

*آثار ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر کیفیت پوسته تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی:* نتایج مربوط به آثار ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر کیفیت پوسته تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی در جدول ۵ ارائه شده است. آثار اصلی ویتامین $D_3$ تأثیر معنی‌داری بر درصد پوسته تخم‌مرغ داشت ($P$<۰/۰۵)، که بالاترین درصد مربوط به ۵۵۰۰ واحد ویتامین $D_3$ بود. در مورد ضخامت پوسته تخم مرغ نیز افزایش ویتامین $D_3$ از ۳۵۰۰ واحد به ۵۵۰۰ واحد، تأثیر معنی‌داری بر ضخامت پوسته تخم مرغ داشت و باعث افزایش ضخامت پوسته شد ($P$ <۰/۰۵). همچنین وزن مخصوص تخم مرغ در تیماری که سطوح بالاتر ویتامین $D_3$ استفاده شده بود نسبت به تیمار سطوح پایین ویتامین $D_3$، بالاتر بود ($P$<۰/۰۵). موافق با تحقیق حاضر، افزایش کیفیت پوسته با تغذیه متابولیت‌های ویتامین $D_3$ نیز به وسیله سایر محققین (Kaetzel *et al*., 1978; Soares *et al*., 1988) گزارش شده است. همچنین آثار اصلی ویتامین $D_3$ بر شاخص شکل تخم مرغ تأثیر معنی‌داری نداشت. موافق با نتایج حاضر گزارش شد که افزودن ۶۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین $D_3$ به جیره مرغان تخم‌گذار باعث بهبود کیفیت پوسته تخم مرغ شد (Plaimast *et al*., 2015). در تحقیقی گزارش شد که افزودن ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم کوله‌کلسیفرول به جیره مرغان تخم-گذار باعث بهبود کیفیت پوسته تخم مرغ شد (Browning and Cowieson, 2015). احتمالاً با افزایش ویتامین $D_3$، غلظت ۱ و ۲۵ کوله کلسیفرول و میزان جذب کلسیم افزایش یافته و چون قسمت اعظم پوسته مربوط به کربنات کلسیم است، بنابراین سبب افزایش ضخامت پوسته تخم مرغ می‌شود. به‌طور مشابه، در تحقیقی گزارش شد که افزودن مکمل $D_3$۲۵OH به جیره مرغان مادر باعث افزایش ضخامت پوسته تخم مرغ شد (Coto *et al*., 2010).

جدول ۴- آثار اصلی و متقابل ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک بر کیفیت داخلی تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی

Table 4. Main and interaction effects of vitamin $D_3$ and lactic acid on the internal quality of eggs in broiler breeder hens

| Treatments | | Albumen (%) | Albumen pH | Haugh unit | Yolk (%) | Yolk pH | Yolk index | Yolk color |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vitamin $D_3$ | 3500 | 58.87 | 6.35[b] | 84.15 | 32.90 | 3.92[a] | 22.44 | 7.75 |
| | 5500 | 58.95 | 6.45[a] | 85.27 | 32.52 | 3.84[b] | 22.56 | 7.70 |
| SEM | | 0.310 | 0.035 | 1.79 | 0.299 | 0.027 | 0.199 | 0.106 |
| *P*-value | | 0.850 | 0.045 | 0.510 | 0.377 | 0.045 | 0.677 | 0.784 |
| Lactic acid (LA) | 0 | 58.90 | 6.38 | 85.27 | 32.79 | 3.86 | 22.33 | 7.75 |
| | 500 mg | 58.91 | 6.42 | 84.15 | 32.63 | 3.90 | 22.66 | 7.70 |
| SEM | | 0.310 | 0.035 | 1.79 | 0.299 | 0.027 | 0.199 | 0.106 |
| *P*-value | | 0.986 | 0.420 | 0.510 | 0.719 | 0.403 | 0.264 | 0.784 |
| Ineraction | | | | | | | | |
| 3500 $D_3$×0 LA | | 58.93 | 6.33 | 84.44 | 33.08 | 3.91 | 22.34 | 7.66 |
| 3500 $D_3$×500 LA | | 58.80 | 6.36 | 83.87 | 32.72 | 3.93 | 22.54 | 7.83 |
| 5500 $D_3$× 0 LA | | 58.88 | 6.43 | 86.11 | 32.49 | 3.81 | 22.33 | 7.83 |
| 5500 $D_3$× 500 LA | | 59.02 | 6.48 | 84.44 | 32.54 | 3.86 | 22.78 | 7.58 |
| SEM | | 0.439 | 0.050 | 1.66 | 0.423 | 0.039 | 0.285 | 0.150 |
| *P*-value | | 0.760 | 0.871 | 0.747 | 0.635 | 0.674 | 0.656 | 0.180 |

[a-c] Means with different superscripts within a column differ significantly ($P$<0.05).

SEM: Standard error of the means

نتایج یک تحقیق حاکی است که با افزودن ۱۶۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین $D_3$ به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تراکم پوسته و وزن پوسته شد (Bar *et al.*, 1988). همچنین دریافتند که افزودن ویتامین $D_3$ در سطوح ۲۰۰۰ و ۳۴۰۰ واحد در کیلوگرم به جیره مرغان مادر گوشتی در سن ۶۰ هفتگی باعث بهبود کیفیت پوسته تخم مرغ شد بدون اینکه تاثیری بر عمکرد تولید و جوجه‌درآوری داشته باشد (Torres *et al.*, 2009). در تحقیقی گزارش شد افزودن ویتامین $D_3$ به جیره مرغان تخم‌گذار، تأثیر معنی‌داری بر وزن مخصوص تخم مرغ و محتوای کلسیم در پوسته تخم مرغ نداشت (Mattila *et al*., 2011). آثار اصلی افزودن اسید لاکتیک، تأثیر معنی‌داری بر ضخامت پوسته تخم مرغ داشت ($P<۰/۰۵$)، که باعث افزایش ضخامت پوسته تخم مرغ شد. احتمالاً اسیدهای آلی، خود به عنوان کلیت‌کننده عناصر معدنی همچون کلسیم و فسفر عمل کرده و جذب آنها را از دستگاه گوارش بهبود می‌بخشند (Edmonds *et al*., 2014). همچنین pH اسیدی روده باعث افزایش حلالیت کلسیم و در نتیجه بهبود جذب کلسیم می‌شود. به‌طور کلی، هر عاملی که باعث افزایش حلالیت کلسیم شود جذب کلسیم را نیز افزایش خواهد داد. افزودن اسید لاکتیک با اینکه به لحاظ عددی، درصد پوسته و وزن مخصوص تخم مرغ را افزایش داد، اما به لحاظ آماری، تفاوت معنی‌داری نشان نداد که مخالف با گزارش سایر محققین (Meng *et al*., 2010) است. به نظر می‌رسد اسیدهای آلی سبب افزایش حلالیت فیتات‌های گندم در طول جوانه‌زنی می‌شوند. بنابراین اسیدی شدن جیره، محیط بهتری را برای فیتاز فراهم می‌کند تا مقدار فیتات موجود در دستگاه گوارش را که به روده کوچک جریان می‌یابد کاهش دهد. این اسیدی شدن تا حد زیادی از تشکیل کمپلکس‌های نامحلول مواد معدنی-فیتات جلوگیری می‌کند و باعث افزایش کیفیت پوسته تخم مرغ می‌شود (Gasprovic *et al*., 1997). این در حالی است که آثار متقابل سطوح مختلف ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک تأثیر معنی‌داری بر درصد پوسته تخم مرغ داشت و بیشترین درصد مربوط به ۵۵۰۰ واحد ویتامین $D_3$ و بدون افزودن اسید لاکتیک بود و کمترین درصد پوسته مربوط به تیمار ۳۵۰۰ واحد ویتامین $D_3$ بدون افزودن اسید لاکتیک بود ($P<۰/۰۵$). همچنین اثر متقابل ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک تأثیر معنی‌داری بر ضخامت پوسته تخم مرغ داشت ($P <۰/۰۵$) که بیشترین ضخامت پوسته مربوط به تیمار ۳۵۰۰ واحد ویتامین $D_3$ به همراه ۵۰۰ میلی‌گرم اسید لاکتیک و کمترین ضخامت مربوط به تیمار سطح پایین ویتامین $D_3$ بدون افزودن اسید لاکتیک بود. لیکن اثر متقابل ویتامین $D_3$ و اسید لاکتیک، تأثیر معنی‌داری بر وزن مخصوص تخم مرغ و شاخص شکل تخم مرغ نداشت. بنابراین سطوح بالای ویتامین $D_3$ در روده، عمل فیتازی داشته و به تجزیه فیتات منجر می‌شود که در این مورد کاملاً مشابه با اسید آلی است. علاوه بر این، میزان جذب ویتامین $D_3$ به وسیله برخی از اسیدهای آلی به ویژه اسید لاکتیک بهبود می یابد، ولی تاثیر اسیدهای آلی در افزایش جذب کلسیم مستقل از ویتامین $D_3$ است (Vötterl *et al.*, 2020).

## نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی با توجه به نتایج آزمایش حاضر، استفاده از اسید لاکتیک به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم همراه با ۳۵۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم ویتامین $D_3$ می‌تواند موجب افزایش درصد تولید، ضخامت پوسته، کاهش تعداد تخم مرغ‌های شکسته، بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش جوجه‌درآوری و کاهش مصرف خوراک به ازای هر عدد تخم مرغ و هر قطعه جوجه در اواخر دوره تولید مرغان مادر گوشتی شود.

جدول ۵- آثار اصلی و متقابل ویتامین $D_3$ و اسیدلاکتیک بر کیفیت پوسته تخم مرغ در مرغان مادر گوشتی

Table 5. Main and interaction effects of vitamin $D_3$ and lactic acid on egg shell quality in broiler breeder hens

| Item | | Eggshell (%) | Eggshell thickness (mm) | Egg specific gravity (g/cm$^3$) | Egg shape index |
|---|---|---|---|---|---|
| Vitamin $D_3$ | 3500 | 8.22$^{b}$ | 0.41$^{b}$ | 1.074$^{b}$ | 75.80 |
| | 5500 | 8.52$^{a}$ | 0.43$^{a}$ | 1.079$^{a}$ | 75.96 |
| SEM | | 0.319 | 4.105 | 0.410 | 2.22 |
| *P*-value | | 0.041 | 0.010 | 0.006 | 0.804 |
| Lactic acid (LA) | 0 | 8.30 | 0.40$^{b}$ | 1.076 | 76.06 |
| | 500 mg | 8.44 | 0.44$^{a}$ | 1.077 | 75.70 |
| SEM | | 0.097 | 0.003 | 0.001 | 0.435 |
| *P*-value | | 0.311 | 0.0001 | 0.288 | 0.571 |
| Interaction | | | | | |
| 3500 $D_3$×0 LA | | 7.97$^{b}$ | 0.38$^{c}$ | 1.073$^{b}$ | 75.96 |
| 3500 $D_3$×500 LA | | 8.46$^{a}$ | 0.45$^{a}$ | 1.075$^{ab}$ | 75.64 |
| 5500 $D_3$× 0 LA | | 8.62$^{a}$ | 0.43$^{b}$ | 1.078$^{a}$ | 76.15 |
| 5500 $D_3$× 500 LA | | 8.42$^{a}$ | 0.43$^{b}$ | 1.079$^{a}$ | 75.76 |
| SEM | | 0.137 | 0.005 | 0.001 | 0.615 |
| *P*-value | | 0.021 | 0.0001 | 0.534 | 0.956 |

$^{a-c}$ Means with different superscripts within a column differ significantly ($P<0.05$).

SEM: Standard error of the means

## فهرست منابع


Abdulrahim S. M., Patel M. B. and McGinnis J. 1979. Effects of vitamin $D_3$ and $D_3$ metabolites on production parameters and hatchability of eggs. Poultry Science, 58: 858-863.

Afsharmanesh M. and Pourreza J. 2005. Effect of calcium, citric acid, ascorbic acid, vitamin $D_3$ on the efficacy of microbial phytase in broiler starters fed wheatbased diets on performance, bone mineralization and ileal digestibility. International Journal of Poultry Science, 4(6): 418-424.

Atencio A., Edwards H. M. and Pesti G. M. 2005. Effect of the level of cholecalciferol supplementation of broiler breeder hen diets on the performance and bone abnormalities of the progeny fed diets containing various levels of calcium or 25-hydroxycholecalciferol. Poultry Science, 84: 1593-1603.

Bar A. and Hurwitz S. 1979. The interaction between calcium and gonadal hormones in their effect on plasma calcium, bone 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase, and duodenal calcium binding protein, measured by radioimmunoassay in chicks. Endocrinology, 104: 1455-1460.

Bar A., Striem S., Rosenburg J. and Hurwitz S. 1988. Eggshell quality and cholecalciferol metabolism in aged laying hens. Journal of Nutrition, 118: 1018-1023.

Browning L. C. and Cowieson A. J. 2015. Interactive effects of vitamin $D_3$ and strontium on performance, nutrient retention, and bone mineral composition in laying hens. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95: 1080-1087.

Castagliuolo I., Scarpa M. and Brun P. 2021. Co-administration of vitamin D3 and lacticaseibacillus paracasei DG increase 25-hydroxyvitamin D serum levels in mice. Annual Microbiology, 71(1): 42.

Coto S., Cerate Z., Wang F., Yan Y., Min F. P., Costa P. W. and Waldroup. 2010. Effect of source e level of vitamin D on the performance of breeder's hens and carryover to the progeny. International Journal of Poultry Science, 7: 623-633.

Divari N., Kianfar R., Mirghelenj S. A. and Janmohammadi H. 2020. Effects of raw and autoclaved amaranth grain on performance and egg quality of layer hens. Research on Animal Production, 11(28): 32-40. (In Persian).

Duarte V., Minafra C. S., Santos F. R. D. and Perim F. D. S. 2015. Inclusion of canthaxanthin and 25-hydroxycholecalciferol in the diet of broiler breeders on performance and incubation parameters. Ciência Rural, 45: 2050-2055.

Dusso A. S., Brown A. J. and Slatopolsky E. 2005. Vitamine D. American Journal of Physiology, 289: F8-F28

Edmonds M. S., Lohalt S. and Moreland S. 2014. Effect of supplemental humic acid and butyric acid on performance and mortality in broilers raised under various environmental conditions. Journal of Applied Poultry Research, 23: 1-8.

Funk E. M. 1948. The relation of yolk index determined in natural position to the yolk index as determined after separating the yolk from the albumen. Poultry Science, 27: 367.

Garcia V. P., Catala-Gregori F., Hernandez-Megras M. and Madrid D. J. 2006. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. Journal Applied Poultry Resource, 16: 555-562.

Gasprovic B. C., Cabanas M. E., Alonso J., Murillo I., San Segundo B. and Arus C. 1997. Measurement of intracellular pH of maize seeds (Zea mays) during germination by P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. Molecular and Cellular Biology, 43: 609-620.

Harms R. H., Bootwalla S. M., Woodward S. A., Wilson H. R. and Untawale G. A. 1990. Some observations on the influence of vitamin D metabolites when added to the diet of commercial laying hens. Poultry Science, 69: 426-432.

Holick M. F. 1981. The cutaneous photosynthesis of previtamin $D_3$: A unique photoendocrine system. Journal of Investigation in Dermatolgy, 77: 51-58.

Hollander D., Muralidhara K. S. and Zimmerman A. 1978 Vitamin $D_3$ intestinal absorption *in vivo*: influence of fatty acids, bile salts, and perfusate pH on absorption. Gut, 19: 267-272.

Iba A. M. and Berchieri-J.r. A. 1995. Studies on the use of a formic acid-propionic acid mixture (Bio-Add) to control experimental salmonella infection in broiler chickens. Avian Pathology, 24: 303-311.

Izat A. L., Tidwell N. M.., Thomas R. A., Reiber M. A., Adams M. H., Colberg M. and Waldroup P. W. 1990. Effects of a buffered propionic acid in diets on the performance of broiler chickens and on microflora of the intestine and carcass. Poultry Science, 69: 818-826.

KaetzeL. D. M., Soares J. H. and Swerdel M. R. 1978. Effects of vitamin $D_3$ metabolites on the bones and eggshells of aged quail and chickens. Proceedings of the Maryland Nutrition Conference, College Park, MD. Pp. 50-54.

Kappeli S., Fröhlich E., Sabine G., Gebhardt-Henrich A., Pfulg Heidi Schäublin R., Zweifel H., Wiedmer and Stoffel M. H. 2011. Effects of dietary supplementation with synthetic vitamin $D_3$ and 25 hydroxycholecalciferol on blood calcium and phosphate levels and performance in laying hens. Archiv für Geflügelkunde, 75: 179-184.

Kazemifard M., Nasiri-Moghadam H. and Saki A. A. 2010. Effect of different levels of calcium, phosphorus and vitamin $D_3$ on the calcium, phosphorus and magnesium of plasma, hatchability and performance on broiler breeder hens. Resarch Journal of Biological Science, 5(2): 223-227.

Keshavarz K. 2003. A comparison between cholecalciferol and 25-OH-cholecalciferol on performance and eggshell quality of hens fed different levels of calcium and phosphorus. Poultry Science, 82: 1415-1422.

Klinsoda J., Vötterl J., Zebeli Q. and Metzler-zebeli B. U. 2019. Lactic acid treatment of cereals and dietary phytase modified fecal microbiome composition without affecting expression of virulence factor genes in growing pigs. Frontiers in Microbiolgy, 10: 2345.

Langhout P. 2000. New additives for broiler chickens. World Poultry, 16(3): 22-27.

Mattila P. H., Valkonen E. and Valaja J. 2011. Effect of different vitamin D supplementations in poultry feed on vitamin D content of eggs and chicken meat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59: 8298-8303.

Mattila P., Valaja J., Rossow L., Venalainen E. and Tupasela T. 2004. Effect of vitamin $D_2$- and $D_3$-enriched diets on egg vitamin D content, production, and bird condition during an entire production period. Poultry Science, 83: 433-440.

Meng Q. W., Yan L., AO X., Jang H. D., Cho J. H. and Kim I. H. 2010. Effect chitooligosaccharide supplementation on egg production, nutrient digestibility, egg quality and blood profiles in laying hens. Journal of Applied Poultry Research, 18: 598-604.

Mirghelenj S., Kianfar R. Janmohammadi H. and Taghizadeh A. 2018. Effect of different levels of grape pomace on egg production performance and egg internal quality during different keeping times and temperatures. Animal Production Research, 6(4): 81-91. (In Persian).

Moghadam A. N., Pourreza J. and Samie A. H. 2006. Effect of different levels of citric acid on calcium and phosphorus efficiencies in broiler chicks. Pakistan Journal of Biological Sciences, 94(9): 1250-1256.

Nascimento D. O., Murakami G. R., Guerra A. Q. F. M., Rojas I. C., Ferreira M. F. Z. and Fanhani J. C. 2014. Effect of different vitamin D sources and calcium levels in the diet of layers in the second laying cycle. Revista Brasileira Deciencia Avícola, 16: 37-42.

Nys Y. 2001. Recent developments in layer nutrition for optimising shell quality. In: Proceedings of 13th European Symposium of Poultry Nutrition. Blankenberge, Belgium. Pp. 45-52.

Packard M. J. and Packard G. C. 1991. Patterns of mobilization of calcium, magnesium, and phosphorus by embryonic yellow-headed black birds (*Xanthocephalus xanthocephalus*). Journal of Comparative Physiology B, 160: 649-654.

Parks C. W., Grimes J. L., Ferket P. R. and Fairchild A. S. 2001. The effect of mannanoligosaccharides, mambermycins, and virginiamycin on performance of large white male market turkeys. Poultry Science, 80: 718-723.

Peng H. W., Ding X. M., Bai S. P., Luo Y. H., Zhu Q. and Zhang K. Y. 2013. Effects of maternal dietary 25-hydroxycholecalciferol and progeny dietary vitamin 370 premixes on progeny performance, immune responses and bone quality of broiler chicks. Journal of Food, Agriculture and Environment, 11: 701-706.

Pike J. W., Zella L. A., Meyer M. B., Fretz J. A. and Kim S. 2007. Molecular actions of 1, 25-dihydroxyvitamin $D_3$ on genes involved in calcium homeostasis. Journal of Bone and Mineral Research, 22(S2): V16-V19.

Plaimast H. and Kijparkorn S. 2010. Effects of supplementary vitamin $D_3$ on eggshell quality and vitamin $D_3$ content in egg of aged hens fed different levels of calcium. Proceedings of the 9th Chulalongkorn University Veterinary. Annual Conference.

Plaimast H., Kijparkorn S. and Ittitanawong P. 2015. Effects of vitamin $D_3$ and calcium on productive performance, egg quality and vitamin D3 content in egg of second production cycle hens. Thai Journal of Veterinary Medicine, 45: 189-195.

Rafacz-Livingston K. A., Amezcua C. M., Parsons C. M., Baker D. H. and Snow J. 2005. Citric acid improves phytate phosphorus utilization in crossbred and commercial broiler chicks. Poultry Science, 84: 1370-1375.

Roy R. D., Edens F. W., Parkhurst C. R., Qureshi M. A. and Havenstein G. B. 2002. Influence of a propionic acid feed additive on performance of turkey poults with experimentally induced poult enteritis and mortality syndrome. Poultry Science, 81: 951-957.

Salvador D., Faria D. E. D., mazalli M. R., Ito D. T., Faria Filho D. E. and Araújo L. F. 2009. Vitamins D and C for laying hens at the initial phase of egg production. Revista Brasileira Dezootecnia, 38: 887-892.

Saunders-blades J. L. and Korver D. R. 2014. The effect of maternal vitamin D source on broiler hatching egg quality, hatchability, and progeny bone mineral density and performance. The Journal of Applied Poultry Research, 23: 773-783.

Scott M. L., Nesheim M. and Young R. 1982. Nutrition of the chicken, Scott, Ithaca, Nueva York. P.119.

Soares J. H., Ottinger M. A. and Buss E. G. 1988. Potential role of 1, 25-dihydroxycholecalciferol in egg shell calcification. Poultry Science, 67: 1322-1328.

Soares J. H., Swerdel M. R. and Ottinger M. A. 1979. The effectiveness of the vitamin D analog 1 α-OH-D3 in promoting fertility and hatchability in the laying hen. Poultry Science 58: 1004-1006.

Soltan M. A. 2008. Effect of dietary organic acid supplementation on egg production, egg quality and some blood serum parameters in laying hens. International Journal of Poultry Science, 7: 613-621.

Torres C. A., Vieira S. L., Reis R. N., Ferreira A. K., Silva P. X. D. and Furtado F. V. F. 2009. Productive performance of broiler breeder hens fed 25-415 hydroxycholecalciferol. Revista Brasileira Dezootecnia, 38: 1286-1290.

Valizadeh R., Kianfar R. Mirghelenj S. and Olyaee M. 2018. Interaction effect of ginger root and red pepper powders in wheat based diet on performance and immune response of layer hens in post-molting period. Animal Production Research, 7(1), 81-92. (In Persian).

Vötterl J. C., Klinsoda J., Zebeli Q., Hennig-Pauka I., Kandler W. and Metzler-Zebeli B. U. 2020. Dietary phytase and lactic acid-treated cereal grains differently affected calcium and phosphorus homeostasis from intestinal uptake to systemic metabolism in a pig Model. Nutrients, 12: 1542.

Washburn K. W. 1982. Incidence, cause, and prevention of eggshell breakage in commercial production. Poultry Science, 61: 205-2012.

Yalcin S. K., Bozdemir M. T. and Ozbas Z. Y. 2009. A comparative study on citric acid production kinetics of two Yarrowia lipolytica strains in two different media. Indian Journal of Biotechnology, 8: 408-417.

Yesilbag D. and Colpan I. 2006. Effects of organic acid supplemented diets on growth performance, egg production and quality and on serum parameters in laying hens. Revue de Medecine Veterinaire, 157(5): 280-284.

Zhong Y., Armbrecht H. J. and Christakos S. 2009. Calcitonin, a regulator of the 25-hydroxyvitamin D3 1α-hydroxylase gene. Journal of Biological Chemistry, 284(17): 11059-11069.