



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Impact of betaine and choline supplementation on productivity, egg quality, blood parameters, and antioxidant levels in laying hens fed low-methionine diets

A. Javadifar¹, S. J. Hosseini-Vashan^{1*}, A. Hassanabadi², H. Sarir¹

1. Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran

2. Department of Animal Science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received: 06-10-2025 – Revised: 21-12-2025 – Accepted: 22-12-2025 – Available online: 28-12-2025)

Abstract

Introduction: Methionine is an essential amino acid that plays a vital role in many physiological processes in birds. In birds fed corn-soybean diets, it is the first limiting amino acid. The amount of methionine in a bird's diet should be appropriate for its age, production requirements, and physiological needs. An imbalanced amino acid composition in a bird's diet can lead to increased feed costs, reduced protein intake, and a greater environmental impact, all of which affect the sustainability of poultry production. A methionine deficiency can result in reductions in body weight, egg production, egg weight, and egg mass in laying hens. However, certain reactions can be partially compensated for by methyl donor compounds such as choline and betaine, which can act as partial substitutes for methionine. Choline is a precursor of betaine and a beta-hydroxy trimethylammonium hydroxide compound. Its metabolic functions are well-defined and include cell structure formation, liver fat regulation, inhibition of lipolysis, production of acetylcholine, and provision of methyl groups. Betaine, also known as trimethylglycine, is an organic compound obtained from sugar beet molasses. It is also synthesized in the body from choline and plays a role in providing methyl groups and regulating osmotic pressure in all vertebrates. In poultry, it is estimated that betaine can provide up to 25% of the required choline. To date, few studies have examined the combined impact of choline and betaine supplementation on reducing the methionine requirements of poultry, particularly laying quails. Given the economic viability of using betaine and choline in poultry feed and the limited information available on laying hens, a study was conducted to determine the effect of betaine and choline supplementation at reduced levels of methionine on egg production and quality traits, blood indices, and blood and egg antioxidant properties in Bovans strain laying hens.

Materials and methods: In this experiment, 315 laying hens of the Bovans strain were arranged in a completely randomized design using a 3×3 factorial arrangement, including three levels of methionine (80%, 90%, and 100%) and three supplements (no supplement, 0.15% betaine, and 0.15% choline), with nine treatments, seven replications, and five hens for each replication. Following a 10-day adaptation period, the birds were randomly assigned to experimental units. The birds were fed the dietary treatments over two 28-day periods. On the last two days of each period, four eggs from each replication were collected to evaluate egg quality traits including the egg shape index, specific weight, Haugh unit, yolk height, yolk color index, the relative weight of the yolk, the albumen and the eggshell, and the eggshell thickness. Blood samples were taken from two birds in each replicate at the end of the experimental period to determine biochemical indices. The data were analyzed using the GLM procedure of SAS software.

Results and discussion: The results revealed a significant interaction between the treatments. Birds fed diets containing 100% methionine had the lowest feed conversion ratio ($P<0.05$) and the highest egg mass at 32–35

* Corresponding author: jhosseiniv@birjand.ac.ir



weeks of age ($P<0.01$) compared to those fed diets containing 80% methionine. At 36–39 weeks of age, birds fed a diet containing 100% methionine exhibited the highest egg weight ($P<0.01$). The yolk color index increased in birds fed 100% methionine with a 0.15% betaine level and 90% methionine with a 0.15% choline level at the end of the first and second periods, respectively ($P<0.01$). Blood cholesterol and triglyceride concentrations decreased in birds fed the 90% diet without supplementation ($P<0.05$). Diets containing 100% methionine and a 15% betaine treatment decreased yolk cholesterol concentration ($P<0.01$). These results suggest that the recommended level of methionine is necessary to maintain egg production and mass.

Conclusions: It can be concluded that 100% of the methionine required by laying hens was needed to maximize egg production. However, adding betaine to a low-methionine diet improved egg quality, while choline supplementation improved antioxidant status in the blood and eggs.

Keywords: Betaine, Egg mass, Yolk color index, Malondialdehyde, Laying hen

Ethics statement: This study was conducted with the full consideration of animal welfare, and the approval of this study was granted by the Ethics Committee of the University of Birjand, Iran.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received no specific funding for this project.

Acknowledgment: This study was conducted with the support of the University of Birjand and Simorgh Company, a laying hen unit located in Quchan city, Iran. We hereby express our gratitude and appreciation to the respected authorities.

How to cite this article:

Javadifar, A., Hosseini-Vashan, S. J., Hassanabadi, A., & Sarir H. (2026). Impact of betaine and choline supplementation on productivity, egg quality, blood parameters, and antioxidant levels in laying hens fed low-methionine diets. *Animal Production Research*, 15(2), 45-61. doi: 10.22124/ar.2025.31893.1929



مقاله پژوهشی

اثر افزودن بتائین و کولین به جیره‌های با سطوح پایین‌تر متیونین بر صفات تولیدی، کیفیت تخم‌مرغ، شاخص‌های خونی و صفات پاداکسندگی خون مرغ‌های تخم‌گذار

امیر جوادی‌فر^۱، سید جواد حسینی‌واشان^{۱*}، احمد حسن آبادی^۲، هادی سریر^۱

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۱۴ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۹/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۱ - تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۴/۱۰/۰۷)

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثر افزودن بتائین و کولین در سطوح کاهش‌دهنده متیونین بر صفات کمی و کیفی تخم‌مرغ، شاخص‌های خونی و صفات پاداکسندگی خون و تخم‌مرغ تخم‌گذار سویه بونز انجام شد. در این آزمایش از ۳۱۵ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه بونز در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۳×۳ شامل سه سطح متیونین (سطوح ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد متیونین) و سه مکمل (بدون مکمل، ۰/۱۵ درصد بتائین و ۰/۱۵ درصد کولین) با نه تیمار، هفت تکرار و پنج قطعه مرغ برای هر تکرار انجام شد. آثار متقابل نشان داد پرندگان در ۳۲ تا ۳۵ هفتگی، در سطح ۱۰۰ درصد متیونین، کمترین ضریب تبدیل خوراک ($P < 0.05$) و بیشترین گرم توده تخم‌مرغ تولیدی ($P < 0.01$) را در مقایسه با گروه متیونین ۸۰ درصد نشان دادند. در سن ۳۶ تا ۳۹ هفتگی، بیشترین وزن تخم‌مرغ تولیدی مربوط به سطح ۱۰۰ درصد متیونین ($P < 0.01$) بود. بیشترین میانگین شاخص رنگ زرده در پایان دوره اول و دوم ($P < 0.01$) به ترتیب مربوط به سطح ۱۰۰ درصد متیونین و ۰/۱۵ درصد بتائین و سطح ۹۰ درصد متیونین و ۰/۱۵ درصد کولین بود. کمترین غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید خون در سطح ۹۰ درصد بدون مکمل مشاهده شد ($P < 0.05$). کمترین غلظت کلسترول زرده در تیمار سطح ۱۰۰ درصد متیونین و ۱۵ درصد بتائین مشاهده شد ($P < 0.01$). با توجه به اینکه بتائین و کولین هر دو از گروه‌های دهنده متیل هستند و متیونین نیز در حضور این دو مکمل عملکرد بهتری را نشان داد، می‌توان نتیجه گرفت که مکمل بتائین با جیره کم متیونین، بدون هیچ تأثیر منفی بر بهره‌وری عملکرد تخم‌گذاری، باعث بهبود کیفیت تخم‌مرغ و کولین باعث کاهش کلسترول خون و پایداری اکسیداتیو تخم‌مرغ می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بتائین، توده تخم‌مرغ، شاخص رنگ زرده، مالون دی‌آلدئید، مرغ تخم‌گذار

* نویسنده مسئول: jhosseiniv@birjand.ac.ir

مقدمه

تغذیه، بخش عمده هزینه‌های پرورش را به خود اختصاص می‌دهد و تأمین پروتئین با کیفیت و دارای تعادل اسیدآمینه‌ای مناسب، از مهم‌ترین بخش‌های مورد توجه در تنظیم جیره است (Liu & Selle, 2017). همچنین، تغذیه نقش مؤثری بر سلامت، رشد و کیفیت محصولات تولیدی طیور دارد (Alagawany et al., 2021; Sarmiento, 2022). سلامتی و بهره‌وری پرندگان می‌تواند تحت تأثیر تأمین بیش از حد و یا کمبود مواد مغذی به‌ویژه اسیدهای آمینه قرار گیرد (Olgun et al., 2022). میزان مورد نیاز اسیدهای آمینه و انرژی که به یکدیگر وابسته هستند نیز به دلیل پیشرفت‌های ژنتیکی و بهبود عملکرد مرغ تخم‌گذار تغییر کرده است (Liu & Arif et al., 2022; Selle, 2017). با توجه به یافته‌های محققین گزارش شد که متیونین اولین اسید آمینه محدودکننده جیره‌های بر پایه ذرت و کنجاله سویا در طیور است (Burley et al., 2016) و افزودن اشکال شیمیایی اسیدهای آمینه به جیره به‌صورت مکمل بر رشد، عملکرد تولیدی، پایداری اکسیداسیون، کیفیت لاشه و سایر شاخص‌های کیفی در طیور اثرگذار است (Murawska et al., 2018; Park et al., 2018; Zhang et al., 2018). بنابراین، مقدار متیونین جیره غذایی باید متناسب با احتیاجات پرنده در آن شرایط سنی، تولیدی و فیزیولوژیکی باشد. جیره غذایی که از لحاظ ترکیبات اسید آمینه نامتوازن باشد، می‌تواند منجر به افزایش هزینه‌های خوراک مصرفی و کاهش مصرف پروتئین و تأثیر بر محیط زیست و تداوم تولید طیور شود (Attia et al., 2022). متیونین، نقش مهمی در مسیرهای بیوشیمیایی سوخت و ساز بدن دارد و ترئونین در ساخت پروتئین، متیلاسیون DNA و سوخت و ساز مواد مختلف (کارنتین، گلوکاتینون، سیستمین و پلی آمین) نقش دارد (Kachungwa Lugata et al., 2022).

ترکیب پیش‌ساز متیونین، اس گلوکاتینون است که از سلول-ها در برابر تنش اکسیداتیو و عامل فعال‌کننده آلیپوتروپیک محافظت می‌کند (Park et al., 2018). طبق مطالعات Liu et al. (2017)، دریافت متیونین، تأثیر مثبتی بر درصد قابلیت جذب متیونین، تنوع منابع متیونین مصنوعی (مانند ال-متیونین، دی ال-متیونین و ارت-متیونین آنالوگ) از مکمل‌های تغذیه‌ای پرندگان داشته است (Kachungwa

Lugata et al., 2022). با این حال، متیونین مصنوعی بر سوخت و ساز ترکیبات سمی، از جمله متیل پروپیونات، اثر دارد. متیل پروپیونات از جمله ترکیباتی است که بر عملکرد طیور، تأثیر منفی می‌گذارد. همچنین، در پرورش و تولید طیور ارگانیک، استفاده از مکمل‌های شیمیایی متیونین ممنوعیت دارد (Dematte Filho & Possmai, 2015; Ahmed et al., 2018).

کولین، پیش‌ساز بتائین، ترکیب بتاهیدروکسیل تری متیل آمونیوم هیدروکسید است که عملکردهای متابولیکی آن از جمله تشکیل ساختار سلولی، تنظیم چربی کبدی، جلوگیری از لیپولیز، تولید استیل کولین و تأمین گروه‌های متیل، به‌خوبی مشخص شده است (AbdElGhany & Babazadeh, 2022). فسفاتیدیل کولین همچنین در ساخت فسفولیپید (یکی از حیاتی‌ترین اجزای سلول‌ها) موجود در کبد، خون و تخم‌مرغ کمک می‌کند (Moghadam et al., 2021). بتائین یا تری متیل گلاسیسین، ماده آلی است که در صنعت از ملاس چغندر قند به‌دست می‌آید و از نظر فیزیولوژیکی در بدن از کولین ساخته می‌شود و نقش دهنده گروه‌های متیل و تنظیم فشار اسمزی در کلیه مهره‌داران را به‌عهده دارد. همان‌طور که در طیور تخمین زده می‌شود، بتائین ممکن است برای تأمین ۲۵ درصد نیاز کولین استفاده شود (Murawska et al., 2018). افزودن بتائین یا کولین به جیره پرندگان با بهبود عملکرد تولیدی (Ratriyanto et al., 2017; Ahmed et al., 2018)، تولید تخم‌مرغ (Ratriyanto et al., 2021) و فعالیت اکسیداتیو ماهیچه‌های سینه مرغ مرتبط است (Olgun et al., 2022; Rama et al., 2022). خاصیت متیل‌دهندگی بتائین در حدود ۳/۷۵ برابر متیونین است. هر مولکول بتائین قادر به تبدیل سه مولکول هموسیستئین به متیونین است. بنابراین، بتائین مؤثرترین ترکیب برای جایگزینی متیونین در جیره، به‌عنوان گروه دهنده متیل عمل می‌کند (Sun et al., 2008).

در جوجه‌های گوشتی، کارایی کولین در فرآیند متیلاسیون کراتین به‌طور قابل توجهی کمتر از بتائین است (Tyler, 1977). افزودن بتائین به جیره مرغ تخم‌گذار باعث کاهش ضریب تبدیل خوراک و افزایش تولید تخم مرغ می‌شود. مکمل بتائین در رژیم غذایی تا ۰/۰۶ درصد می‌تواند این پیش‌سازها و در نتیجه تولید تخم‌مرغ را افزایش دهد (Lu & Zou, 2006). افزودن بتائین و کولین در سطوح کاهشی

آزمایشی توزیع شدند. در هر واحد آزمایشی، پنج قطعه مرغ تخم‌گذار با میانگین تولید یکسان قرار گرفت. اجزای مواد خوراکی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. تیمارهای آزمایشی با سطح پروتئین و انرژی یکسان، بر اساس ترکیب شیمیایی مواد خوراکی مطابق پیشنهادات احتیاجات پرنده سویه بونز در سن ۳۲ هفته تنظیم شدند (جدول ۲). شرایط پرورشی شامل دمای محیط ($21 \pm 2^\circ\text{C}$)، رطوبت ($5 \pm 30\%$) و تهویه مناسب مطابق دفترچه راهنمای سویه بونز اجرا شد.

توزین خوراک و جمع‌آوری باقیمانده خوراک در دوره تولید انجام گرفت. صفات تولیدی تخم‌مرغ شامل درصد تولید تخم‌مرغ، میانگین وزن تخم‌مرغ، توده تخم‌مرغ تولیدی روزانه هر مرغ، میانگین خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی بر اساس رابطه زیر از سن ۳۲ تا ۳۹ هفتهگی رکوردبرداری شد:

$$\text{ضریب تبدیل خوراک} = \frac{\text{گرم خوراک مصرفی}}{\text{میانگین گرم تخم‌مرغ تولیدی}}$$

جهت بررسی صفات کیفی تخم‌مرغ شامل شاخص شکل تخم‌مرغ، وزن مخصوص تخم‌مرغ، کیفیت سفیده تخم‌مرغ (واحد هاو)، شاخص ارتفاع زرده، شاخص رنگ زرده، شاخص آلبومین، وزن نسبی زرده و سفیده به‌عنوان درصدی از وزن تخم‌مرغ، وزن نسبی پوسته تخم‌مرغ، ضخامت پوسته تخم‌مرغ، مقاومت پوسته تخم‌مرغ و کلسترول زرده تخم‌مرغ در پایان هفته‌های ۳۶ و ۴۰، از هر واحد آزمایشی، دو عدد تخم‌مرغ به‌طور تصادفی به‌منظور اندازه‌گیری به آزمایشگاه منتقل شدند (Hosseini-Vashan & Afzali, 2008):

$$HU = 100 \log(h + 7.57 - 1.7 w^{0.37})$$

که: HU: واحد هاو؛ h: ارتفاع سفیده تخم‌مرغ؛ w: وزن تخم‌مرغ

$$100 * \frac{\text{ارتفاع زرده}}{\text{میلیمتر قطر زرده}} = \text{شاخص زرده}$$

$$100 * \frac{\text{ارتفاع آلبومین}}{\frac{\text{طول آلبومین} + \text{عرض آلبومین}}{2}} = \text{شاخص آلبومین}$$

در پایان طرح آزمایشی، به‌منظور بررسی شاخص‌های خونی از هر تکرار به‌طور تصادفی، دو قطعه مرغ انتخاب شده و نمونه‌گیری خون پس از ضدعفونی نمودن اطراف محل خون‌گیری، از طریق ورید بال به‌منظور بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون شامل غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL، HDL، پروتئین تام، مقدار آنزیم آلانین آمینو

متیونین بر عملکرد، تولید تخم‌مرغ و کیفیت داخلی آن تأثیری نداشت (Gul et al., 2023). همچنین، متیونین را می‌توان به سطح ۰/۳۰ درصد برای جیره بلدرچین تخم‌گذار کاهش داد بدون اینکه تأثیر منفی بر عملکرد، تولید تخم‌مرغ یا کیفیت داخلی تخم‌مرغ طی دوره آزمایشی ۱۰ هفته‌ای بگذارد.

تاکنون در مطالعات محدودی، اثر هم‌کوشی مکمل کولین و بتائین برای کاهش نیاز به متیونین در طیور، به‌ویژه در بلدرچین‌های تخم‌گذار ارزیابی شده است (Ratriyanto et al., 2017, 2021). بنابراین، با توجه به اینکه استفاده از بتائین و کولین در خوراک طیور دارای صرفه اقتصادی است و همچنین، اطلاعات محدودی در این زمینه روی مرغ تخم‌گذار وجود دارد، مطالعه‌ای در رابطه با اثر افزودن بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین بر صفات تولیدی و کیفیت تخم‌مرغ، شاخص‌های خونی و صفات پاداکسندگی خون و تخم‌مرغ در مرغ تخم‌گذار سویه بونز انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر افزودن بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین بر صفات تولیدی و کیفیت تخم‌مرغ، شاخص‌های خونی و صفات پاداکسندگی خون و تخم‌مرغ در مرغ تخم‌گذار سویه بونز، آزمایشی طراحی شد که در شرکت سیم‌مرغ واحد تجاری مرغ تخم‌گذار واقع در کیلومتر ۱۰۰ جاده مشهد-قوچان در سال ۱۴۰۳ انجام شد. برای اجرای آزمایش از متیونین آمینو اسید (Met Amino) شرکت ایونیک (آلمان) با درصد خلوص ۹۹ درصد استفاده شد و بتائین هیدروکلراید با درصد خلوص ۹۸ درصد به‌شکل پودر کریستالی شرکت هاوی چین (Havay) تهیه و استفاده شد و کولین کلراید با درصد خلوص ۶۰ درصد به‌صورت پودر کریستالی زردرنگ ایرانی مورد استفاده قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل 3×3 (متیونین در سطوح ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ و سه سطح مکمل شامل فاقد مکمل، بتائین و کولین) با نه تیمار و هفت تکرار در هر تیمار انجام شد. برای این منظور، تعداد ۳۸۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه بونز ۳۲ هفته انتخاب شده و به‌مدت ۱۰ روز برای عادت‌پذیری پرورش داده شدند و صفات تولیدی و وضعیت مصرف خوراک مورد ارزیابی قرار گرفت سپس، ۳۱۵ مرغ با عملکرد یکنواخت‌تر و فاقد نقص تولیدی، برای اجرای آزمایش انتخاب شدند و در ۶۳ واحد

ترانسفراز (ALT) و MDA خون انجام شد. نمونه‌های خونی با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی نوری خودکار (اتوانالایزر) مدل جسان چم ۲۰۰ (ساخت کشور ایتالیا) و کیت‌های آزمایشگاهی زیست شیمی (ساخت ایران) مورد تجزیه شیمیایی قرار گرفتند. غلظت LDL با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$LDL = \frac{HDL}{1/1} - \frac{\text{تری گلیسرید}}{\frac{1}{9}} + \frac{\text{کلسترول}}{\frac{1}{19}}$$

به‌منظور اندازه‌گیری غلظت کلسترول زرده تخم‌مرغ در هفته‌های ۳۵ و ۳۹ آزمایش، از هر تیمار به‌طور تصادفی، ۱۰ نمونه برداشته شده و پس از شکستن تخم‌مرغ‌ها، زرده از سفیده جدا شده و میانگین وزن زرده ثبت شد. سپس، زرده‌های هر تیمار با هم مخلوط شده و تعداد دو نمونه از هر تکرار به‌منظور اندازه‌گیری غلظت کلسترول در گرم زرده و در کل تخم مرغ، به آزمایشگاه انتقال داده شد. در این آزمایش، غلظت کلسترول زرده به‌روش آنزیمی اندازه‌گیری شد. ابتدا، دقیقاً ۱/۰۰ گرم زرده با ۵۰ میلی‌لیتر سود (NaOH با مولاریته ۰/۰۵) مخلوط شده و سپس، این محلول به‌وسیله ۵۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک (HCl با نرمالیه ۰/۲۵) خنثی شد (در این مرحله، زرده به‌طور کامل در ۱۰۰ میلی‌لیتر سود و اسید کلریدریک مخلوط شده و شبیه پلاسماي خون شد). سپس، حدود یک میلی‌لیتر از محلول بالا برداشته شده و به‌روش کیت‌های آزمایشگاهی به دستگاه اسپکتروفتومتر اتوانالایزر تزریق شد و سپس، غلظت کلسترول در نمونه به‌صورت میلی‌گرم در دسی‌لیتر (۱۰۰ میلی‌لیتر) محلول به‌دست آمد. از آنجایی که هر ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول بالا حاوی یک گرم زرده است، کلسترول موجود در این محلول مربوط به یک گرم زرده خواهد بود. با تعیین غلظت کلسترول در این محلول، میزان کلسترول در گرم زرده تعیین شد. پس از محاسبه غلظت کلسترول در گرم زرده از میانگین غلظت کلسترول در گرم زرده سه دوره، غلظت کلسترول در گرم زرده تخم‌مرغ‌ها در کل دوره محاسبه شد (Bair & Marion, 1978).

همچنین، برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید، ۰/۵ میلی‌لیتر پلاسما با ۲/۵ میلی‌لیتر کلرواستیک اسید ۲۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۶۷ درصد مخلوط خواهد شد و در دور ۳۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. بعد از جداسازی لایه بالایی، جذب نوری آن به‌وسیله طیف‌سنج

در طول موج ۳۲ نانومتر قرائت شد. همچنین، برای اندازه‌گیری MDA زرده تخم‌مرغ، مقدار ۲ گرم زرده با ۸ میلی‌لیتر اسیدتیوباربیتوریک (۵ درصد) با هموژنایزر مخلوط و همگن شد. سپس، ۱۲۵ میلی‌گرم بوتیلیتد هیدروکسی تولوین به مخلوط اضافه شد و پس از آن، نمونه‌ها از کاغذ واتمن ۲ عبور داده شدند. سپس، ۱/۵ میلی‌لیتر از نمونه با یک میلی‌لیتر اسید تیوباربیتوریک (۰/۸ درصد در آب مقطر) مخلوط شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سلسیوس انکوبه شد و محلول نهایی اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد (Botsoglou et al., 1994).

تمامی داده‌ها بعد از رکوردبرداری و ثبت به نرم‌افزار Excel وارد و دسته‌بندی شدند. سپس، داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از رویه مدل خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) مورد تجزیه واریانس دوطرفه قرار گرفتند. مقایسات میانگین تیمارها نیز با آزمون توکی کرامر در سطح ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد تولید تخم‌مرغ، میانگین وزن تخم‌مرغ، توده تخم‌مرغ تولیدی روزانه هر مرغ، میانگین خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی در سنین ۳۲ تا ۳۵ و ۳۶ تا ۳۹ هفته‌گی به‌ترتیب در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که سطوح مختلف متیونین از لحاظ آماری اثری بر صفات تولیدی مرتبط با تخم‌گذاری نداشت. استفاده از بتائین و کولین، تنها بر میانگین ضریب تبدیل غذایی اثر داشت ($P < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهایی که بتائین دریافت کرده بودند ۱/۹ گرم بر وزن توده تخم‌مرغ تولیدی بود که نسبت به تیمار شاهد و تیمار حاوی کولین بهبود یافت (جدول ۳). در بررسی اثر متقابل بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین، بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد متیونین و بدون مکمل به‌مقدار ۲/۰۵ و کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی برای تیمار سطح ۹۰ درصد متیونین و حاوی بتائین به‌مقدار ۱/۸۲ مشاهده شد، که نشان‌دهنده بهبود ضریب تبدیل غذایی در حضور بتائین در سطوح کاهشی متیونین است. اثر متقابل بتائین و کولین

جدول ۱- اجزای مواد خوراکی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Food ingredients of experimental diets

Item	%	g/kg
Corn	54.96	549.6
Soybean meal (42% CP)	29.05	290.5
Soybean oil	1.1	11
wheat bran	1.2	12
DCP	1.76	17.6
CaCO ₃	9.45	94.5
K ₂ CO ₃	0.02	0.2
NaHCO ₃	0.3	3
NaCl	0.23	2.3
Vit permix ¹	0.28	2.8
Min permix ²	0.26	2.6
Red pigment	0.05	0.5
Yellow pigment	0.1	1
Enzymite/bentonite	0.265	2.65
DL-Methionine ³	0.28	2.8
L-Lysine hydrochloride	0.05	0.5
Biolysis	0.02	0.2
Toxin binder	0.15	1.5
Feed disinfectant	0.1	1
Lipidol	0.1	1
Formalin 37%	0.1	1
Enzyme premix - Fitmax Plus	0.25	2.5
Antioxidant	0.02	0.2

¹ Each kilogram of the vitamin supplement contained 8,500,000 IU of vitamin A, 2,500,000 IU of vitamin D₃, 14,400 IU of vitamin E, 2200 mg of Vitamin K₃, 1477 mg of vitamin B₁, 4,000 mg of vitamin B₂, 7,840 mg of vitamin B₃, 3,465 mg of vitamin B₅, 2,464 mg of vitamin B₆, 110 mg of vitamin B₉, 11 mg of vitamin B₁₂, 40 mg of biotin, and 400 mg of BHT.

² Each kilogram of the mineral supplement contained 74,400 mg of manganese, 75,000 mg of iron, 64,700 mg of zinc, 6,000 mg of copper, 880 mg of iodine, and 200 mg of selenium.

³ The basal diet was prepared based on 100% of the methionine requirement, and methionine supplementation was reduced to prepare diets containing 90 and 80% of the methionine requirement.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 2. Chemical composition of experimental diets

Item	%	g/kg
Crude Protein (%)	16.01	160.14
Lysine (%)	0.66	6.6
Methionine (%)	0.388	3.88
Methionine+cysteine (%)	0.57	5.7
Threonine (%)	0.49	4.9
Tryptophan (%)	0.153	1.53
Arginine (%)	0.805	8.05
Iso-Leucine (%)	0.525	5.25
Leucine (%)	0.99	9.9
Valine (%)	0.593	5.93
Calcium (%)	4.094	40.94
Sodium (%)	0.156	1.56
Potassium (%)	0.637	6.37
Chloride (%)	0.209	2.09
Sulphur (%)	0.181	1.81
Choline (%)	1.543	15.43
Magnesium (%)	0.122	1.22
Phytate P (%)	0.181	1.81
Available phosphorus (%)	0.386	3.86
Linoleic acid (%)	1.659	16.59

در سطوح کاهشی متیونین بر صفات میانگین خوراک مصرفی روزانه و تخم‌مرغ تولیدی روزانه هر مرغ در سن ۳۲ تا ۳۵ هفتگی اثری نداشت. در بررسی اثر بتائین و کولین بر شاخص ضریب تبدیل غذایی، کمترین مقدار مربوط به اثر بتائین مشاهده شد که در مقایسه با گروه شاهد، کاهش یافت. همچنین، استفاده از بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین بر شاخص توده تخم‌مرغ تولیدی روزانه اثر داشت ($P < 0.01$). بالاترین میانگین وزن توده تخم‌مرغ تولیدی روزانه به میزان $60/09$ گرم در سطح 90 درصد متیونین و بتائین مشاهده شد. همچنین، کمترین مقدار میانگین توده تخم‌مرغ تولیدی روزانه در سطح 100 درصد متیونین و بدون مکمل به مقدار $55/04$ گرم مشاهده شد (جدول ۳). داده‌های این پژوهش نشان داد که رابطه معکوس میان توده تخم‌مرغ تولید و ضریب تبدیل خوراک وجود دارد. با افزایش توده تخم‌مرغ تولیدی، ضریب تبدیل خوراک کاهش یافت و تیمار 100 درصد متیونین در مقایسه با تیمار 80 درصد متیونین دارای توده تخم‌مرغ تولیدی بالاتر و ضریب تبدیل خوراک پایین‌تر بود.

در دوره دوم آزمایش یعنی سنین ۳۶ تا ۳۹ هفتگی، داده‌های عملکرد تولیدی مرغ تخم‌گذار در جدول ۴ نشان داد که صفات تولیدی تخم‌مرغ تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. در بررسی آثار متقابل، وزن تخم‌مرغ تحت تأثیر قرار گرفت ($P < 0.05$)، که بیشترین وزن تخم‌مرغ در تیمار 100 درصد متیونین و بتائین مشاهده شد و نسبت به سطح 80 درصد متیونین و فاقد مکمل، بتائین نسبت به کولین، عملکرد بهتری بر میانگین وزن تخم‌مرغ در سطح 100 درصد متیونین داشت. این نتایج با تحقیقات پیشین در این زمینه هم‌خوانی دارد. (Gul et al., 2023) مشاهده کردند که افزودن بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین بر عملکرد، تولید تخم‌مرغ و کیفیت داخلی آن‌ها تأثیری نداشت. همچنین، بیان کردند که متیونین را می‌توان به سطح $0/30$ درصد برای جیره بلدرچین تخم‌گذار کاهش داد بدون اینکه تأثیر منفی بر عملکرد، تولید تخم‌مرغ یا کیفیت داخلی تخم‌مرغ طی دوره آزمایشی 10 هفته‌ای بگذارد. بر اساس مطالعه Liu et al. (2019)، افزایش مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی با افزودن بتائین در سطوح نیم، یک و دو گرم در کیلوگرم جیره به‌صورت خطی افزایش یافت، ولی بر ضریب تبدیل غذایی اثر نداشت. با این حال، در مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه شده با $0/7$ و $1/5$ گرم در کیلوگرم بتائین

در جیره غذایی، تعداد تخم‌مرغ روزانه و وزن تخم‌مرغ بهبود یافت (Gudev et al., 2011). در بلدرچین‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی $0/6$ و $1/2$ گرم در کیلوگرم بتائین، توده تخم‌مرغ تولیدی و ضریب تبدیل غذایی بهبود یافت که با نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. Chand et al. (2017) گزارش کردند ضریب تبدیل غذایی با افزودن دو گرم در کیلوگرم جیره بهبود یافت. پژوهشگران گزارش کردند که جایگزینی بتائین در سطوح کاهشی متیونین باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی شد (Saalbi et al., 2011). Sun et al. (2008) دلیل کاهش ضریب تبدیل خوراک را در تیمارهای تغذیه شده با بتائین، توام شدن کمبود متیونین در جیره با افزودن بتائین به جیره بیان نمودند. جایگزینی متیونین با بتائین، غلظت هورمون رشد و فاکتور رشد انسولین را در سرم افزایش داده و از این راه باعث بهبود عملکرد و ضریب تبدیل غذایی می‌شود (Sun et al., 2008). افزودن بتائین به جیره مرغ تخم‌گذار باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک و درصد تولید تخم‌مرغ شد. مکمل بتائین در رژیم غذایی تا $0/06$ درصد می‌تواند این پیش‌سازها و در نتیجه، تولید تخم‌مرغ را افزایش دهد (Lu and Zou, 2006) که با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش هم‌خوانی دارد. واضح است که کاهش سطح متیونین در جیره منجر به پاسخ متفاوت پرنده به بتائین شد (Rostagno & Pack, 1996; Sahin et al., 2001).

افزودن کولین به جیره غذایی حاوی دانه کتان منجر به بهبود قابل توجه در تولید تخم‌مرغ در روز و توده تخم‌مرغ تولیدی شد (Beheshti Moghadam et al., 2021). مطالعه Yonke & Cherian (2019) شواهدی ارائه شد که نشان می‌دهد افزودن $0/1$ درصد کولین به جیره‌های مرغ تخم‌گذار حاوی ریزجلبک، تولید تخم‌مرغ روزانه را افزایش می‌دهد که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی ندارد. نتایج آزمایش حاضر تا حدودی با یافته‌های Jahanian & Ashnagar (2018) مبنی بر کاهش مصرف خوراک و مقادیر ضریب تبدیل خوراک در جیره حاوی کولین (1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در جوجه‌های گوشتی مطابقت دارد. به‌طور مشابه، Alagawany et al. (2015) کاهش مصرف خوراک را هنگامی که کولین در جیره غذایی در سطوح بالاتر از 2500 میلی‌گرم بر کیلوگرم گنجانده شد، گزارش کردند و پیشنهاد نمودند که مکمل کولین میزان سوخت و

درصد متیونین و ۰/۱۵ درصد بتائین به میزان ۱۰/۹۲ و کمترین میانگین شاخص رنگ زرده مربوط به سطح ۹۰ درصد متیونین و ۰/۱۵ درصد کولین به میزان ۸/۱۷ بود. با کاهش سطح متیونین، شاخص رنگ زرده در حضور بتائین نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت، اما در تیمار حاوی کولین، شاخص رنگ زرده با کاهش سطح متیونین از ۱۰۰ درصد به ۹۰ درصد کاهش یافت اما در سطح ۸۰ درصد نسبت به سطح ۹۰ درصد متیونین، افزایش پیدا کرد. با توجه به نتایج به دست آمده، بتائین تأثیر بیشتری در افزایش شاخص رنگ زرده داشت.

اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار در سن ۴۰ هفتگی در جدول ۶ گزارش شده است. نتایج نشان داد که متیونین بر شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ اثری نداشت. استفاده از مکمل‌های بتائین و کولین بر ضخامت پوسته تخم‌مرغ اثر گذاشت ($P < 0.05$) و بر سایر صفات اثر نداشت.

ساز را افزایش می‌دهد و میزان راندمان استفاده از خوراک افزایش یافته و ضریب تبدیل خوراک کاهش می‌یابد.

اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار در سن ۳۵ هفتگی در جدول ۵ گزارش شده است. بر اساس نتایج، متیونین بر شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ اثری نداشت. استفاده از مکمل‌های بتائین و کولین بر شاخص رنگ زرده ($P < 0.01$) و ضخامت پوسته تخم‌مرغ اثر گذاشت ($P < 0.05$). بیشترین مقدار شاخص رنگ زرده و ضخامت پوسته تخم‌مرغ، مربوط به تیمار شاهد و به ترتیب برابر با ۱۰/۵۴ و ۰/۵۱۳ بود. بتائین و کولین استفاده شده در جیره باعث کاهش در هر دو صفت شد، به طوری که کمترین مقدار در تیمار دارای کولین به ترتیب به میزان ۹/۱۹ و ۰/۴۹۴ مشاهده شد. اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین نیز تنها بر میانگین شاخص رنگ زرده اثر داشت و در سایر صفات، اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری مشاهده نشد. بیشترین میانگین شاخص رنگ زرده مربوط به سطح ۱۰۰

جدول ۳- اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر شاخص‌های عملکرد تولیدی در مرغ‌های تخم‌گذار از سن

۳۲ تا ۳۵ هفتگی

Table 3. Effect of betaine and choline at reduced levels of methionine on production performance traits in laying hens (32-35 weeks of age)

Treatment/ Interaction effects		Hen-day egg production (%)	Egg weight (g/egg)	Egg mass (g/bird/day)	Feed intake (g/bird/day)	FCR
Methionine (%)	Supplement					
100	Zero	96.13	64.70	62.13 ^a	111.94	1.80 ^b
90	Zero	96.14	61.51	59.12 ^{ab}	109.74	1.91 ^{ab}
80	Zero	91.81	59.99	55.04 ^b	112.18	2.05 ^a
100	Betaine	97.86	61.40	60.07 ^{ab}	111.27	1.85 ^{ab}
90	Betaine	97.13	61.86	60.09 ^{ab}	107.44	1.85 ^{ab}
80	Betaine	93.24	60.28	56.28 ^{ab}	110.67	1.98 ^a
100	Choline	93.56	61.18	57.26 ^{ab}	111.26	1.88 ^{ab}
90	Choline	92.76	59.72	55.48 ^{ab}	110.67	2.02 ^a
80	Choline	93.90	61.73	57.91 ^{ab}	110.26	1.97 ^{ab}
SEM		1.89	1.34	1.51	1.45	0.63
P-value		0.173	0.243	0.007	0.731	0.011
Main effects						
Methionine (%)	100	94.40	59.58	56.24	111.57	1.93
	90	95.34	61.03	58.19	109.28	1.93
	80	94.42	62.23	58.75	110.96	1.92
P-value		0.782	0.213	0.564	0.142	0.971
Supplement	Zero	94.69	59.89	56.76	111.28	1.92 ^{ab}
	Betaine	96.07	61.17	58.81	109.79	1.9 ^b
	Choline	93.4	60.88	56.87	110.73	1.95 ^a
SEM		1.09	0.59	0.87	0.83	0.036
P-value		0.232	0.354	0.211	0.458	0.524

^{a-b} Different letters within each column indicate significant differences among means ($P < 0.05$). FCR: Feed conversion ratio; SEM: Standard error of the means

جدول ۴- اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر شاخص‌های عملکرد تولیدی در مرغ‌های تخم‌گذار از سن ۳۶ تا ۳۹ هفتگی

Table 4. Effect of betaine and choline at reduced levels of methionine on production performance traits in laying hens (36-39 weeks of age)

Treatment/Interaction effects		Hen-day egg production (%)	Egg weight (g/egg)	Egg mass (g/bird/day)	Feed intake (g/bird/day)	FCR
Methionine (%)	Supplement					
100	Zero	95.10	61.68 ^{ab}	58.65	111.10	1.92
90	Zero	96.23	61.10 ^{ab}	58.81	109.64	1.90
80	Zero	94.08	58.69 ^b	55.24	111.54	2.04
100	Betaine	95.30	60.59 ^{ab}	57.77	111.33	1.91
90	Betaine	96.02	60.34 ^{ab}	57.91	110.58	1.90
80	Betaine	93.88	58.29 ^b	54.74	110.44	1.95
100	Choline	96.13	59.89 ^{ab}	57.61	107.03	1.91
90	Choline	92.76	60.93 ^{ab}	56.49	109.47	1.95
80	Choline	92.77	62.49 ^a	57.90	110.40	1.92
SEM		1.94	0.75	1.39	1.39	0.053
P-value		0.644	0.006	0.134	0.432	0.401
Main effects						
Methionine (%)	100	95.17	59.32	56.87	109.97	1.95
	90	95.00	60.19	57.74	109.91	1.92
	80	93.91	60.82	57.09	110.65	1.93
P-value		0.692	0.136	0.233	0.761	0.693
Supplement	Zero	95.13	59.09	56.57	110.76	1.95
	Betaine	95.07	60.74	56.8	110.79	1.92
	Choline	93.88	61.1	57.33	108.97	1.93
SEM		1.12	0.09	0.79	0.19	0.68
P-value		0.671	0.434	0.812	0.815	0.072

^{a-b} Different letters within each column indicate significant differences among means ($P < 0.05$). FCR: Feed conversion ratio; SEM: Standard error of the means

نتایج نشان داد که بتائین در سطح ۱۰۰ و ۸۰ درصد متیونین، عملکرد بهتری نسبت به کولین از نظر افزایش شاخص رنگ زرده داشت.

در بررسی اثر محدودکنندگی مکمل بتائین در جیره‌های مرغ تخم‌گذار با متیونین کمتر بر عملکرد تولیدی و کیفیت تخم‌مرغ که به‌وسیله Omara et al. (2023) انجام شد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر ضخامت پوسته تخم‌مرغ به-دلیل افزودن بتائین به جیره کم متیونین در مقایسه با جیره بدون بتائین مشاهده شد، اما سایر صفات کیفی تخم‌مرغ تحت تأثیر افزودن بتائین قرار نگرفت. در مطالعه حاضر، افزودن بتائین در سطح ۱/۵ گرم در کیلوگرم، ضخامت پوسته تخم‌مرغ را بهبود بخشید. همچنین، گزارش شده است که سطوح کاهشی متیونین بر صفات کیفی تخم‌مرغ تأثیر داشت. در مطالعات دیگری، محققین گزارش نمودند که افزودن کولین (۲۴۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به جیره مرغ‌های تخم‌گذار سبب بهبود کیفیت تخم مرغ می‌شود (Zhai et al., 2013; Yonke & Cherian, 2019).

بیشترین ضخامت پوسته تخم‌مرغ، مربوط به تیمار دارای ۰/۱۵ درصد بتائین و به‌میزان ۰/۴۸ بود. بتائین و کولین استفاده شده در جیره باعث افزایش ضخامت پوسته تخم-مرغ نسبت به تیمار شاهد شد. در بررسی اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین، شاخص رنگ زرده دارای اختلاف معنی‌دار بود و سایر صفات از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. بیشترین میانگین شاخص رنگ زرده مربوط به سطح ۹۰ درصد متیونین و ۰/۱۵ درصد کولین و سطح ۸۰ درصد متیونین و بدون مکمل به‌میزان ۱۱/۲۸ و کمترین میانگین شاخص رنگ زرده مربوط به سطح ۸۰ درصد متیونین و ۱۵ درصد کولین به‌میزان ۹/۱۴ بود. با کاهش سطح متیونین از ۱۰۰ درصد به ۹۰ درصد، شاخص رنگ زرده در حضور بتائین نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت، اما در سطح ۸۰ درصد نسبت به ۹۰ درصد متیونین، این مقدار افزایش پیدا کرد. در تیمار حاوی کولین، شاخص رنگ زرده با کاهش سطح متیونین از ۱۰۰ به ۹۰ درصد افزایش یافت و در سطح ۸۰ درصد نسبت به ۹۰ درصد متیونین، شاخص رنگ زرده کاهش پیدا کرد. این

جدول ۵- اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار در سن ۳۵ هفتگی

Table 5. Effect of betaine and choline at reduced levels of methionine on egg quality traits in laying hens (35 weeks of age)

Treatment/ Interaction effects		Egg shape	Specific gravity(g/cm ³)	Yolk index	Yolk color index	Hough unit	Shel thickness (mm)
Methionine (%)	Supplement						
100	Zero	78.76	1.083	41.51	10.57 ^a	88.35	0.52
90	Zero	78.44	1.085	41.43	10.50 ^{ab}	81.86	0.51
80	Zero	78.46	1.085	42.32	10.57 ^a	83.83	0.50
100	Betaine	73.52	1.085	38.57	10.92 ^a	82.39	0.51
90	Betaine	78.79	1.084	41.26	10.35 ^{ab}	81.86	0.51
80	Betaine	77.58	1.084	41.55	9.35 ^{ab}	82.11	0.49
100	Choline	78.33	1.085	41.57	9.14 ^b	84.21	0.49
90	Choline	79.47	1.084	40.26	8.71 ^b	85.64	0.49
80	Choline	78.40	1.085	39.82	9.71 ^{ab}	83.40	0.50
SEM		1.79	0.001	1.098	0.26	2.11	0.0009
P-value		0.556	0.712	0.234	0.0006	0.35	0.721
Main effects							
Methionine (%)	100	76.87	1.084	40.55	10.11	84.98	0.506
	90	78.9	1.086	40.98	9.85	83.6	0.505
	80	78.15	1.085	41.23	9.81	83.11	0.502
P-value		0.37	0.423	0.741	0.194	0.536	0.883
Supplement	Zero	78.55	1.084	41.75	10.54 ^a	84.68	0.513 ^a
	Betaine	76.63	1.085	40.46	10.21 ^a	82.6	0.506 ^{ab}
	Choline	78.73	1.086	40.55	9.19 ^b	84.42	0.494 ^b
SEM		1.03	0.0006	0.63	0.155	1.21	0.005
P-value		0.284	0.184	0.283	0.0001	0.421	0.047

^{a-b} Different letters within each column indicate significant differences among means ($P < 0.05$). SEM: Standard error of the means

دارای ۰/۱۵ درصد بتائین و به‌میزان ۲۷/۸۶ گرم بر گرم وزن تخم‌مرغ و کمترین وزن زرده مربوط به تیمار دریافت‌کننده ۰/۱۵ درصد کولین و به‌میزان ۲۶/۶ گرم بر گرم وزن تخم-مرغ بود.

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۸، در بررسی اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخم‌گذار، متیونین تنها بر غلظت تری‌گلیسرید خون اثر داشت ($P < 0.05$) و در سایر شاخص‌های خونی، اختلافی مشاهده نشد. کمترین غلظت تری-گلیسرید در سطح ۹۰ درصد متیونین و به‌میزان ۱۰۶/۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و بیشترین غلظت آن در سطح ۱۰۰ درصد متیونین و به‌میزان ۱۱۸/۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر مشاهده شد. همچنین، استفاده از بتائین و کولین نیز بر غلظت LDL خون اثر داشت ($P < 0.01$). بیشترین غلظت LDL، مربوط به تیمار ۰/۱۵ درصد بتائین و به‌میزان ۵۰/۴ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و کمترین غلظت LDL، مربوط به تیمار ۰/۱۵ درصد کولین و به‌میزان ۴۰/۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین بر غلظت شاخص‌های کلسترول ($P < 0.05$) و تری‌گلیسرید

در مطالعه‌ای گزارش شد مصرف کولین در جیره غذایی بر هیچ‌یک از شاخص‌های کیفیت ظاهری و داخلی تخم‌مرغ تأثیر نداشت (Olgun et al., 2022). به‌طور مشابه گزارش شده است که افزودن کولین تا سطوح ۱۲۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به جیره مرغ‌های تخم‌گذار، به‌جز بر مقاومت در برابر شکستن پوسته تخم‌مرغ، بر کیفیت تخم‌مرغ تأثیری نداشت (Janist et al., 2019). در مطالعه‌ای، استفاده از کولین در جیره بلدرچین تخم‌گذار نشان داد که بیشترین وزن پوسته تخم در بلدرچین‌ها با افزودن ۸۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین به جیره غذایی به‌دست آمد ولی مکمل کولین بر واحد‌هاو اثر نداشت (Griep Júnior et al., 2020). در جدول ۷، نتایج مرتبط با اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر وزن نسبی اجزای تخم‌مرغ تخم‌گذار (گرم بر گرم وزن تخم‌مرغ) نشان داده شده است. با توجه به این نتایج، متیونین و استفاده از بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین بر میانگین وزن نسبی اجزای تخم‌مرغ تأثیر نداشت. استفاده ۰/۱۵ درصد بتائین و کولین بر وزن نسبی زرده تخم‌مرغ دارای اثر معنی‌داری بود ($P < 0.01$). بیشترین وزن زرده تخم‌مرغ مربوط به تیمار

غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر تطابق دارد. یکی از دلایل اثر بتائین بر غلظت تری‌گلیسرید را می‌توان به اثر آنزیم بتائین هموسیستئین متیل ترانسفراز نسبت داد که در سوخت و ساز لیپیدها مشارکت دارد. به‌طور کلی، وجود ترکیبات پاداکسند در جیره با کاهش میزان اکسیداسیون لیپیدها و تولید رادیکال‌های آزاد بر ترکیب لیپیدهای خون، اثر مثبت می‌گذارند (Hosseini-Vashan & Piray 2021; Wen et al., 2021).

نتایج ارائه شده در جدول ۹ نشان داد که متیونین بر غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) یا شاخص تیوباربیتوریک اسید یا شاخص اکسیداسیون لیپیدی خون و کلسترول زرده اثر دارد. استفاده از ۰/۱۵ درصد بتائین و کولین بر غلظت MDA خون و کلسترول زرده از لحاظ آماری اثر داشت. در رابطه با MDA خون و تخم‌مرغ، کولین باعث کاهش بیشتری در میانگین غلظت MDA خون نسبت به تیمار شاهد شد، به‌طوری‌که غلظت MDA خون از ۰/۹۴ به ۰/۶۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت. در آثار اصلی کولین

($P < 0.01$) معنی‌دار بود. کمترین غلظت کلسترول در سطح ۹۰ درصد بدون مکمل و به‌مقدار ۱۵۵/۶۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و بیشترین غلظت کلسترول در سطح ۱۰۰ درصد بدون مکمل و به‌مقدار ۱۸۹/۳۹ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر مشاهده شد. در سطح ۱۰۰ درصد متیونین، استفاده از بتائین و کولین باعث کاهش کلسترول خون از ۱۸۹/۳۹ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در تیمار شاهد به‌ترتیب به ۱۷۴/۸۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در حضور ۰/۱۵ درصد بتائین و ۱۴۶/۰۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در حضور ۰/۱۵ درصد کولین شد، اما در سطح ۹۰ و ۸۰ درصد متیونین، حضور ۰/۱۵ درصد بتائین و کولین، باعث افزایش غلظت کلسترول خون نسبت به تیمار شاهد شد. با این وجود، نتایج نشان داد که افزودن ۰/۱۵ درصد بتائین در سطوح کاهشی متیونین باعث کاهش غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید خون در مقایسه با غلظت ۰/۱۵ درصد کولین شد.

در مطالعات پیشین، اثر کاهندگی بتائین بر غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید سرم خون گزارش شده است (Nazari et al., 2020). همچنین، Zou et al. (1998) گزارش نمودند که افزودن بتائین به جیره مرغ تخم‌گذار سبب کاهش

جدول ۶- اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر شاخص‌های کیفی تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار در سن

۴۰ هفتگی

Table 6. Effect of Betaine and choline at reduced levels of methionine on egg quality traits in laying hens (40 weeks of age)

Treatment/ Interaction effects		Egg shape	Specific gravity (g/cm ³)	Yolk index	Yolk color index	Hough unit	Shell thickness (mm)
Methionine (%)	supplement						
100	Zero	76.51	1.076	37.73	11.07 ^a	83.45	0.46
90	Zero	75.18	1.077	39.17	10.14 ^{ab}	82.52	0.44
80	Zero	77.04	1.076	39.22	11.28 ^a	82.14	0.45
100	Betaine	76.79	1.078	39.44	10.78 ^a	85.68	0.49
90	Betaine	75.06	1.078	37.54	9.5 ^{ab}	84.3	0.48
80	Betaine	75.53	1.071	40.03	10.5 ^{ab}	83.18	0.47
100	Choline	75.85	1.077	40.66	10.35 ^{ab}	84.21	0.46
90	Choline	76.18	1.075	40.54	10.28 ^{ab}	83.63	0.45
80	Choline	76.51	1.077	40.1	9.14 ^b	85.14	0.45
SEM		0.64	0.0019	1.41	0.42	1.47	0.01
P-value		0.306	0.14	0.71	0.0008	0.8	0.96
Main effects							
Methionine (%)	100	76.39	1.077	39.28	10.73	84.11	0.47
	90	75.47	1.076	39.08	10.3	83.48	0.46
	80	76.36	1.075	39.78	10.3	83.49	0.46
P-value		0.14	0.29	0.82	0.35	0.83	0.45
Supplement	Zero	76.25	1.076	38.7	10.83	82.37	0.45 ^a
	Betaine	75.79	1.076	39	10.26	84.39	0.48 ^a
	Choline	76.18	1.076	40.43	10.26	84.33	0.46 ^a
SEM		0.37	0.001	0.81	0.24	0.85	0.85
P-value		0.64	0.95	0.28	0.16	0.16	0.018

^{a-b} Different letters within each column indicate significant differences among means ($P < 0.05$). SEM: Standard error of the means

جدول ۷- اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر وزن نسبی اجزای تخم مرغ (گرم بر صد گرم وزن تخم مرغ)

Table 7. Effect of betaine and choline at reduced levels of methionine on relative weight of egg segments in laying hens (g/100 g egg)

Treatment/ Interaction effects		28 days			56 days		
		Yolk	Albumen	Egg shell	Yolk	Albumen	Egg shell
Methionine (%)	supplement						
100	Zero	25.87	59.6	14.44	26.88	59.88	12.81
90	Zero	27.25	58.37	14.37	28.17	59.51	13.01
80	Zero	27.13	57.92	14.26	26.12	60.95	12.83
100	Betaine	27.96	57.71	14.45	26.3	58.93	12.87
90	Betaine	28.02	58.1	13.85	28.62	59.98	12.94
80	Betaine	27.61	58.65	13.59	28.53	58.67	12.78
100	Choline	26.6	59.5	13.89	26.43	59.17	12.64
90	Choline	26.63	59.09	14.16	27.31	61.27	12.6
80	Choline	26.58	59.18	14.22	27.48	59.72	12.43
SEM		0.53	0.64	0.27	0.8	0.81	0.26
P-value		0.30	0.37	0.28	0.36	0.31	0.99
Main effects							
Methionine (%)	100	26.81	58.95	14.26	26.54	59.33	12.78
	90	27.3	58.52	14.12	28.03	60.25	12.85
	80	27.11	58.59	14.03	27.37	59.78	12.8
P-value		0.53	0.61	0.58	0.08	0.38	0.72
Supplement	Zero	26.75 ^b	58.64	14.36	27.06	60.11	12.88
	Betaine	27.86 ^a	58.15	13.96	27.81	59.19	12.86
	Choline	26.6 ^b	59.26	14.09	27.07	60.06	12.56
SEM		0.32	0.37	0.15	0.46	0.47	0.15
P-value		0.008	0.11	0.2	0.42	0.3	0.23

^{a-b} Different letters within each column indicate significant differences among means ($P < 0.05$). SEM: Standard error of the means

افزودن بتائین به جیره جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی مایکوتوکسین، بهبود در وضعیت پاداکسندگی و بهبود کیفیت گوشت را نشان داد (Wen et al., 2021). افزودن کولین به جیره، احتمالاً با افزایش میزان ابقای کولین و متیونین در زرده تخم مرغ، میزان اکسیداسیون لیپیدها را کاهش دهد (Aydin et al., 2020; Olgun et al., 2022). کاهش میزان اکسیداسیون لیپیدی زرده تخم مرغ در هنگام افزودن کولین به جیره به آثار متیل‌دهندگی آن نسبت داده شده است همچنین، ترکیب هیدروکسی آمین‌های موجود در رشته‌های جانبی کولین دارای اثر پاداکسندگی هستند (Dong et al., 2019). استفاده از اسیدهای آمینه مانند آرژنین در سطح بالاتر از احتیاجات به افزایش پایداری اکسیداتیو منجر می شود (Bahrapour & Hosseini-Vashan, 2025). به‌طور مشابه در مطالعات دیگری که از کولین در جیره مرغ تخم‌گذار به‌همراه جیره‌های دیگر از جمله دانه کتان استفاده شد نشان داده شد که میزان آلفا توکوفرول افزایش و مالون دی-آلدئید کاهش یافت (Aziza et al., 2019; Yonke &)

نیز این کاهش از ۰/۸۹ به ۰/۶۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. در بررسی اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین بر برخی شاخص‌های خون و تخم مرغ، میانگین کلسترول زرده، اختلاف معنی‌دار داشت. کمترین غلظت کلسترول زرده مربوط به سطح ۱۰۰ درصد متیونین و ۰/۱۵ درصد بتائین به‌میزان ۱۱/۴۲ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد. بیشترین غلظت کلسترول زرده نیز مربوط به تیمار شاهد در سطح ۱۰۰ درصد متیونین به‌میزان ۱۳/۳۲ میلی‌گرم بر گرم بود. با کاهش سطح متیونین در تیمار شاهد، مقدار کلسترول زرده نیز کاهش یافت، اما در تیمارهای حاوی ۰/۱۵ درصد بتائین و کولین، کاهش سطح متیونین از ۱۰۰ درصد به ۹۰ درصد، مقدار کلسترول زرده افزایش یافت و در سطح ۸۰ درصد متیونین، غلظت کلسترول زرده نسبت به سطح ۹۰ درصد کاهش یافت. مشاهدات نشان داد که بتائین نسبت به کولین، اثر بیشتری بر کاهش غلظت کلسترول زرده دارد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد افزودن کولین می‌تواند بر افزایش پایداری اکسیداتیو لیپیدهای خون و تخم مرغ، اثر مثبت داشته باشد.

از سطح ۰/۱۵ مکمل به‌ویژه بتائین در جیره مرغ‌های تخم‌گذار جهت افزایش کیفیت تخم‌مرغ و به‌ویژه کولین برای افزایش پایداری اکسیداتیو تخم‌مرغ توصیه می‌شود زیرا بتائین و کولین هر دو از گروه‌های دهنده متیل هستند و متیونین نیز در حضور این دو مکمل، عملکرد بهتری را نشان داد. بنابراین، مکمل نمودن ۰/۱۵ درصد بتائین به جیره مرغ‌های تخم‌گذار توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه، با حمایت دانشگاه بیرجند و شرکت سیم‌مرغ واحد مرغ تخم‌گذار واقع در شهرستان قوچان انجام شد که بدین‌وسیله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین محترم اعلام می‌نماییم.

(Cherian 2019). هر چند، ترکیب چربی جیره نیز می‌تواند بر ترکیب اسید چرب و پایداری چربی تخم‌مرغ اثرگذار باشد (Hosseini-Vashan & Afzali, 2008).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد بتائین نسبت به کولین عملکرد بهتری بر میانگین وزن تخم‌مرغ در جیره‌های کم متیونین دارد. همچنین، بتائین دارای تأثیر بیشتری در افزایش شاخص رنگ زرده و وزن نسبی زرده تخم‌مرغ بود و کولین باعث کاهش غلظت لیپیدهای خون و مالون دی-آلدئید خون و تخم‌مرغ شد. با توجه به اینکه بتائین و کولین نسبت به متیونین از لحاظ اقتصادی به‌صرفه‌تر است و می‌تواند باعث بهبود صفات کیفی تخم‌مرغ شوند، لذا استفاده

جدول ۸- اثر بتائین و کولین در سطوح کاهشی متیونین (درصد) بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخم‌گذار (میلی-گرم/دسی لیتر)

Table 8. Effect of betaine and choline in decreased levels of methionine on blood biochemical indices in laying hens (mg/dL)

Treatment/ Interaction effects		Glucose	Protein	Albumen	Cholesterol	Triglyceride	LDL	HDL
Methionine (%)	Supplement							
100	Zero	207.68	5.59	3.52	189.39 ^a	131.28 ^a	53.5	23.02
90	Zero	205.77	5.87	3.7	155.63 ^b	102.35 ^b	47.03	31.22
80	Zero	201.41	5.43	3.61	161.16 ^{ab}	105.79 ^b	49.56	29.04
100	Betaine	202.14	6	3.79	174.85 ^{ab}	116.61 ^{ab}	52.92	26.58
90	Betaine	192.38	5.46	3.97	165.72 ^{ab}	106.06 ^b	53.79	29.31
80	Betaine	201.02	5.41	3.68	162.28 ^{ab}	112.97 ^{ab}	44.5	26.8
100	Choline	203.85	5.62	3.64	146.05 ^b	107.48 ^{ab}	33.5	25.31
90	Choline	201.02	6.05	3.95	164.47 ^{ab}	111.48 ^{ab}	46.93	30.27
80	Choline	196.58	5.59	3.71	162.32 ^{ab}	115.27 ^{ab}	41.1	29.75
SEM		6.31	0.27	0.16	6.94	5.41	4.5	1.46
P-value		0.61	0.46	0.94	0.003	0.015	0.15	0.24
Main effects								
Methionine (%)	100	204.5	5.7	3.6	170.1	118.4 ^a	46.6	24.9
	90	202	5.8	3.8	161.9	106.6 ^b	49.2	30.2
	80	199.6	5.5	3.7	162.1	111.3 ^{ab}	45.05	28.5
P-value		0.63	0.33	0.17	0.26	0.029	0.51	0.0001
Supplement	Zero	204.9	5.6	3.6	168.7	113.1	50.03 ^a	27.7
	Betaine	198.5	5.6	3.8	167.8	111.8	50.4 ^a	27.5
	Choline	202.7	5.7	3.7	157.6	111.4	40.5 ^b	28.4
SEM		3.64	0.15	0.09	4.007	3.12	2.6	0.84
P-value		0.44	0.79	0.27	0.09	0.92	0.01	0.74

^{a-b} Different letters within each column indicate significant differences among means ($P < 0.05$). SEM: Standard error of the means

جدول ۹- اثر بتائین و کولین در سطوح کاهش‌ی متیونین (درصد) بر برخی غلظت کلسترول و مالون‌دی‌آلدئید تخم‌مرغ در مرغ-های تخم‌گذار

Table 9. Effect of betaine and choline at reduced levels of methionine on blood MDA and egg cholesterol and MDA concentration in laying hens

Treatment		Blood	Egg	
Interaction effects		MDA (ng/mL)	MDA (ng/g)	Cholesterol (mg/g)
Methionine (%)	Supplement			
100	Zero	0.89 ^a	1.56	13.32 ^a
90	Zero	0.94 ^a	1.4	12.28 ^{ab}
80	Zero	0.83 ^{ab}	1.43	11.87 ^{ab}
100	Betaine	0.76 ^b	1.07	11.42 ^b
90	Betaine	0.79 ^{ab}	1.2	12.74 ^{ab}
80	Betaine	0.89 ^a	1.14	12.17 ^{ab}
100	Choline	0.69 ^b	1.32	11.98 ^{ab}
90	Choline	0.78 ^{ab}	1.25	11.51 ^b
80	Choline	0.82 ^{ab}	1.23	11.55 ^b
SEM		0.045	0.095	0.33
P-value		0.0254	0.67	0.004
Main effects				
Methionine (%)	100	0.78	1.32	12.24
	90	0.87	1.28	12.18
	80	0.85	1.27	11.86
P-value		0.3456	0.2546	0.3301
Supplement	Zero	0.89 ^a	1.47 ^a	12.49 ^a
	Betaine	0.82 ^b	1.14 ^b	12.11 ^{ab}
	Choline	0.76 ^b	1.27 ^b	11.68 ^b
SEM		0.055	0.055	0.19
P-value		0.0004	0.0004	0.0125

^{a-b} Different letters within each column indicate significant differences among means ($P < 0.05$). SEM: Standard error of the means

فهرست منابع

- AbdElGhany, W. A., & Babazadeh, D. (2022). Betaine: a potential nutritional metabolite in the poultry industry. *Animals*, 12(19), 2624. doi: 10.3390/ani12192624
- Ahmed, M. M. N., Ismail, Z. S. H., & AbdelWareth, A. A. A. (2018). Application of betaine as feed additives in poultry nutrition a review. *Journal of Experimental Animal Science*, 2(3), 266-272. doi: 10.20454/jeas.2018.1428
- Alagawany, M., El-Hindawy, M., Attia, A., Farag, M., & El-Hack, M. A. (2015). Influence of dietary choline levels on growth performance and carcass characteristics of growing Japanese quail. *Advanced Animal Veterinary Science*, 3, 109-115.
- Alagawany, M., Elnesr, S. S., Farag, M. R., Tiwari, R., Yatoo, M. I., Karthik, K., Michalak, I., & Dhama, K. (2021). Nutritional significance of amino acids, vitamins and minerals as nutraceuticals in poultry production and health a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 41, 1-29. doi: 10.1080/01652176.2020.1857887
- Arif, M., Baty, R. S., Althubaiti, E. H., Ijaz, M. T., Fayyaz, M., Shafi, M. E., Albaqami, N. M., Alagawany, M., AbdEl-Hack, M. E., Taha, A. E., Salem, H. M., El-Tahan, A. M., & Elnesr, S. S. (2022). The impact of betaine supplementation in quail diet on growth performance, blood chemistry, and carcass traits. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29, 1604-1610. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.11.002
- Attia, Y. A., Al-Harhi, M. A., Shafi, M. E., Abdulsalam, N. M., Nagadi, S. A., Wang, J., & Kim, W. K. (2022). Amino acids supplementation affects sustainability of productive and meat quality, survival ability and nitrogen pollution of broiler chickens during the early life. *Life*, 12(12), 2100. doi: 10.3390/life12122100
- Aydın, A., & Bölükbaşı, Ş. C. (2020). Effect of supplementation of hen diet with pennyroyal extract (*Mentha pulegium*) on performance, egg quality and yolk TBARS values. *Pakistan Journal of Zoology*, 52, 1045-1051. doi: 10.17582/journal.pjz/20180709090735

- Aziza, A. E., Awadin, W., & Cherian, G. (2019). Impact of choline supplementation on hepatic histopathology, phospholipid content, and tocopherol status in layer hens fed flaxseed. *Journal of Applied Poultry Research*, 28, 679-687. doi: 10.3382/japr/pfz019
- Bahrapour, K., & Hosseini-Vashan, S. J. (2025). Effect of arginine supplementation and stocking density on growth performance, intestinal morphology, blood indices, and meat quality of Arian and Ross broiler chickens. *Animal Production Research*, 14(1), 77-100. doi: 10.22124/ar.2025.28565.1851
- Bair, C. W., & Marion, W. W. (1978). Yolk cholesterol in eggs from various avian species. *Poultry Science*, 57, 1260-1265.
- BeheshtiMoghadam, M. B., Aziza, A. E., & Cherian, G. (2021). Choline and methionine supplementation in layer hens fed flax seed: effects on hen production performance, egg fatty acid composition, tocopherol content, and oxidative stability. *Poultry Science*, 100, 101299. doi: 10.1016/j.psj.2021.101299
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiu, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J., & Trakatellis, A. G. (1994). Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 42, 1931-1937. doi: 10.1021/jf00045a019
- Burley, H. K., Anderson, K. E., Patterson, P. H., & Tillman, P. B. (2016). Formulation challenges of organic poultry diets with readily available ingredients and limited synthetic methionine. *Journal of Applied Poultry Research*, 25, 443-454. doi: 10.3382/japr/pfw012
- Chand, N., Naz, S., Maris, H., Khan, R. U., Khan, S., & Qureshi, M. S. (2017). Effect of betaine supplementation on the performance and immune response of heat stressed broilers. *Pakistan Journal of Zoology*, 49, 1857-1857. doi: 10.17582/journal.pjz/2017.49.5.1857.1862
- Dematte Filho, L. C., & Possamai, E. (2015). Dietary supplementation of alternative methionine and choline sources in the organic broiler production in Brazil. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17, 489-496. doi: 10.1590/1516-635X1704489-496
- Dong, X. F., Zhai, Q. H., & Tong, J. M. (2019). Dietary choline supplementation regulated lipid profiles of egg yolk, blood, and liver and improved hepatic redox status in laying hens. *Poultry Science*, 98, 3304-3312. doi: 10.3382/ps/pez139
- Griep Júnior, D. N. G., Pereira, A. A., Oliveira Júnior, G. M., de Almeida, V. V. S., da Silva, E. F., da Silva, W. A., de Alcantara, R. S., da Silva, W. A., Cardoso Junior, G. S., & de Oliveira, C. G. (2020). Choline and digestible methionine+ cystine supplementation for quail in the laying phase. *Semina Ciências Agrárias*, 41, 305-312. doi: 10.5433/1679-0359.2020v41n1p305
- Gudev, D., Popova- Ralcheva, S., Yanchev, I., Moneva, P., Petkov, E., & Ignatova, M. (2011). Effect of betaine on egg performance and some blood constituents in laying hens reared indoor under natural summer temperatures and varying levels of air ammonia. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17, 859-866.
- Gul, E.T., Olgun, O., Kilic, G., Yildiz, A., & Sarmiento-García, A. (2023). Does the addition of choline and /or betaine to diets reduce the methionine requirement so flayin gquails? Assessment of performance and egg antioxidant capacity. *Poultry Science*, 102, 102816. doi: 10.1016/j.psj.2023.102816
- Hosseini-Vashan, S. J., & Afzali, N. (2008). Effect of different levels of palm olein oil in laying hens performance and yolk cholesterol. *International Journal of Poultry Science*, 7(9), 908-912.
- Hosseini-Vashan, S. J., & Piray, A. H. (2021). Effect of dietary saffron (*Crocus sativus*) petal extract on growth performance, blood biochemical indices, antioxidant balance, and immune responses of broiler chickens reared under heat stress conditions. *Italian Journal of Animal Science*, 20(1), 1338-1347. doi: 10.1080/1828051X.2021.1921628.
- Jahanian, R., & Ashnagar, M. (2018). Effects of dietary supplementation of choline and carnitine on growth performance, meat oxidative stability and carcass composition of broiler chickens fed diets with different metabolisable energy levels. *British Poultry Science*, 59, 470-476. doi: 10.1080/00071668.2018.1476677
- Janist, N., Srichana, P., Asawakarn, T., & Kijparkorn, S. (2019). Effect of supplementing the laying hen diets with choline, folic acid, and vitamin B12 on production performance, egg quality, and yolk phospholipid. *Livestock Science*, 223, 24-31. doi: 10.1016/j.livsci.2019.02.019
- Kachungwa Lugata, J., Ortega, A. D. S. V., & Szabo, C. (2022). The role of methionine supplementation on oxidative stress and antioxidant status of poultry. *Agriculture*, 12, 1701. doi: 10.3390/agriculture12101701
- Liu, S. Y., & Selle, P. (2017). Starch and protein digestive dynamics in low-protein diets supplemented with crystalline amino acids. *Animal Production Science*, 57, 2250-2256. doi: 10.1071/AN17296
- Liu, W., Yuan, Y., Sun, C., Balasubramanian, B., Zhao, Z., & An, L. (2019). Effects of dietary betaine on growth performance, digestive function, carcass traits, and meat quality in indigenous yellow-feathered broilers under long-term heat stress. *Animal*, 9, 506. doi: 10.3390/ani9080506
- Liu, Y., Lin, X., Zhou, X., Wan, D., Wang, Z., Wu, X., & Yin, Y. (2017). Effects of dynamic feeding low and high methionine diets on egg quality traits in laying hens. *Poultry Science*, 96, 1459-1465. doi: 10.3382/ps/pew398

- Lu, J. J., & Zou, X. T. (2006). Effects of adding betaine on laying performance and contents of serum yolk precursors VLDL and VTG in laying hen. *Agriculture Life Science*, 32, 287-291.
- Murawska, D., Kubinska, M., Gesek, M., Zdunczyk, Z., Brzostowska, U., & Jankowski, J. (2018). The effect of different dietary levels and sources of methionine on the growth performance of turkeys, carcass and meat quality. *Annals of Animal Science*, 18, 525-540. doi: 10.2478/aoas-2018-0007
- Nazari, M., Sallary, S., & Ghorbani, M. R., (2020). Effect of Zinc supplementation and Betaine substitution to methionine on performance and blood parameters of laying hens under heat stress. *Veterinary Research and Biological Products*, 33, 61-70. doi: 10.22092/VJ.2019.124397.1534 [In Persian]
- Olgun, O., Gul, E. T., Klinik, G., Yildiz, A., Colak, A., & Sarmiento-García, A. (2022). Performance, egg quality, and yolk antioxidant capacity of the laying quailin response to dietary choline levels. *Animals*, 12(23), 3361. doi: 10.3390/ani12233361
- Omara, I. I., Ad Elmonem Suliman, M., & Eltanani, R. (2023). Spring effect of betaine supplementation in low methionine laying hen diets on productive performance and egg quality. *Egyptian Poultry Science Journal*, 43, 141-155. doi: 10.21608/epsj.2023.291446
- Park, I., Pasquetti, T., Malheiros, R. D., Ferket, P. R., & Kim, S. W. (2018). Effects of supplemental L-methionine on growth performance and redox status of turkey pullets compared with the use of DL-methionine. *Poultry Science*, 97, 102-109. doi: 10.3382/ps/pex259
- Rama, V., Savaram, R., Lakshmi, V., Mantena, N. R., Bhukya, P., Paul, S. S., & Devanaboyina, N. (2022). Effect of methyl donor supplementation on performance, immune responses and anti-oxidant variables in broiler chicken fed diet without supplemental methionine. *Animal Bioscience*, 35, 475-483. doi: 10.5713/ab.20.0812
- Ratriyanto, A., Indreswari, R., & Nuhriawangsa, A. M. P. (2017). Effects of dietary protein level and betaine supplementation on nutrient digestibility and performance of Japanese quails. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19, 445-454. doi: 10.1590/1806-9061-2016-0442
- Ratriyanto, A., Prastowo, S., & Widya, N. (2021). The effect of activated silicon dioxide and betaine supplementation on quails' growth and productivity. *Veterinary World*, 14, 2009-2015. doi: 10.14202/vetworld.2021.2009-2015
- Rostagno, H. S., & Pack, M. (1996). Can betaine replace supplemental DL-methionine broiler diets? *Poultry Science*, 5, 150-154.
- Sahin K., Sahin N., Onderci M., Yaralioglu S., & Kucuk O. (2001). Protective role of supplemental vitamin E on lipid peroxidation, vitamins E, A and some mineral concentrations of broilers reared under heat stress. *Veterinary Medicine*, 46, 140-144.
- Sarmiento García, A., Geokmen, S. A., Sevim, B., & Olgun, O. (2022). A novel source of calcium: effect of calcium pidolate levels on egg quality of aged laying quails (*Coturnix coturnix Japonica*). *The Journal of Agricultural Science*, 160, 551-556. doi: 10.1017/S0021859622000600
- Sun, H. R., Yang, Z. B., Wang, S. Z., & Zhang, G. (2008). Effects of betaine supplementation to methionine deficient diet on growth performance and carcass characteristics of broilers. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 3, 78-84.
- Tyler, D. D. (1977). Transport and oxidation of choline by liver mitochondria. *Biochemical Journal*, 166, 571-581.
- Wen, C., Chen, R., Chen, Y., Ding, L., Wang, T., & Zhou, Y. (2021). Betaine improves growth performance, liver health, antioxidant status, breast meat yield, and quality in broilers fed a mold-contaminated corn-based diet. *Animal Nutrition*, 7, 661-666.
- Yonke, J. A., & Cherian, G. (2019). Choline supplementation alters egg production performance and hepatic oxidative status of laying hens fed high-docosahexaenoic acid microalgae. *Poultry Science*, 98, 5661-5668. doi: 10.3382/ps/pez339
- Zhai, Q. H., Dong, X. F., Tong, J. M., Guo, Y. M., & Bao, Y. E. (2013). Long-term effects of choline on productive performance and egg quality of brown-egg laying hens. *Poultry Science*, 92, 1824-1829. doi: 10.3382/ps.2012-02854
- Zhang, S., Gilbert, E. R., Saremi, B., & Wong, E. A. (2018). Supplemental methionine sources have a neutral impact on oxidative status in broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102, 1274-1283. doi: 10.1111/jpn.12946
- Zou, X. T., Ma, Y. L., & Xu, Z. R. (1998). Effects of betaine and thyroprotein on laying performance and approach to mechanism of the effects in hens. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 10, 144-149.