

## تعیین زیست فراهمی چند نمونه مختلف دی کلسیم فسفات تولیدی ایران و اثرات آنها بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار

علی مشگلی، جواد پوررضا\* و عبدالحسین سمیع<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۸۵/۴/۷؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۷/۳)

### چکیده

این آزمایش به منظور مقایسه زیست فراهمی و بررسی آثار چند نمونه مختلف دی کلسیم فسفات تولیدی در کارخانه‌های داخل کشور (ایران فسفات، پرتوبشاش، گدازه (قاسمی)، پویا خجسته، دان رازی کیمیا، فسفر ایران، گلبار شیمی، دان آور) در مرغ‌های تخم‌گذار به اجرا درآمد. ۱۶۰ قطعه مرغ لگهورن سفید از سویه‌های لاین W36 - در سن ۳۶ هفتگی به مدت ۳ دوره ۲۸ روزه با ۸ جیره (که تنها از لحاظ منبع تأمین کننده فسفر متفاوت بودند) تغذیه و در قالب یک طرح بلوک کامل تصادفی با ۸ تیمار و ۴ بلوک و ۵ قطعه مرغ به ازای هر بلوک مرتب شدند. آزمایش مدت ۹۰ روز (یعنی تا سن ۴۸ هفتگی) به طول انجامید. در این آزمایش صفات مقاومت پوسته، ضخامت پوسته، درصد پوسته، درصد خاکستر پوسته، فسفر پوسته، کلسیم پوسته، وزن تخم مرغ، درصد تولید، مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک و بازده تخم مرغ اندازه‌گیری و در نهایت با طرح کرت‌های خرده شده در زمان با طرح پایه بلوک کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. هم‌چنین صفات خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی در دوره آخر اندازه‌گیری شدند. بین تیمارها از لحاظ ضخامت پوسته، درصد خاکستر پوسته، مصرف خوراک، درصد خاکستر استخوان، درصد کلسیم استخوان اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P > 0/05$ ). سایر صفات اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. ارزش بیولوژیکی نسبی نمونه‌های مختلف بین ۸۵ درصد برای نمونه D تا ۱۰۵/۷ درصد برای نمونه F (ایران فسفات) متغیر بود ( $P > 0/05$ ). اثر دوره‌های متفاوت آزمایشی بر صفاتی که در ۳ دوره مختلف اندازه‌گیری شدند، بر مقاومت پوسته، ضخامت پوسته، درصد خاکستر پوسته، فسفر پوسته، کلسیم پوسته، وزن تخم مرغ، تولید تخم مرغ، مصرف خوراک و بازده تخم مرغ معنی‌دار ( $P > 0/05$ ) شد ولی بر صفات ضریب تبدیل خوراک و واحدها و اثر معنی‌داری نداشت. با توجه به روند موجود در نتایج و ارزش بیولوژیکی به دست آمده نمونه F (ایران فسفات) به عنوان نمونه بهتر و برتر معرفی شد.

واژه‌های کلیدی: زیست فراهمی، دی کلسیم فسفات، مرغ تخم‌گذار، کیفیت پوسته

### مقدمه

نیاز طیور را تأمین می‌کند (۳). نقش اساسی و بسیار ارزنده فسفر و کلسیم در فرایندهای فیزیولوژیکی و سوخت و ساز اندام دام و طیور، بروز پیامدها و ناهنجاری‌های بی‌شمار و کشنده ناشی از

دی کلسیم فسفات مهم‌ترین محصول فسفات‌ها در تغذیه دام و طیور محسوب می‌شود و بیش از ۸۵ درصد فسفر معدنی مورد

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد و استادیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Japour@cc.iut.ac.ir

درصد (۲۵) گزارش نموده اند. از لحاظ اثرات نمونه‌های مختلف بر عملکرد کمی و کیفی طیور آزمایش‌های متعدد و فراوانی (۲، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۲۴ و ۴۲) روی دی‌کلسیم فسفات در کشورهای مختلف صورت پذیرفته است. اما به دلیل متفاوت بودن روش‌های تولید، منابع مورد استفاده در تولید محصول و مدیریت متنوع در تولید محصول نمی‌توان به‌طور قطع نتایج آزمایش‌های آنها را با محصولات داخل کشور مقایسه نمود. هدف این پژوهش بررسی زیست‌فراهمی کلسیم و فسفر دی‌کلسیم فسفات تولیدی کارخانه‌های مختلف ایران و اثرات آنها بر عملکرد مرغ‌های تخم‌گذار می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

تیمارهای آزمایشی شامل هشت جیره و هر جیره شامل چهار بلوک بود، که در هر قفس (هر بلوک)، پنج قطعه مرغ نگه‌داری می‌شد. در این آزمایش از یک جیره پایه یکسان استفاده شد و دی‌کلسیم فسفات‌های مورد آزمایش به آن افزوده گردید. هشت نمونه تولیدی دی‌کلسیم فسفات شامل نمونه‌های تولیدی کارخانه‌های: ایران فسفات، پرتو بشاش، فسفر ایران، دام رازی کیمیا، پویا خجسته، دان آور، گدازه (قاسمی) و گلبار شیمی بودند. نمونه تولیدی ایران فسفات به‌علت تولید محصول مطابق با استانداردهای اروپا (۲۶) و همچنین تایید استاندارد بودن محصول تولیدی از طرف موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و با رعایت استاندارد ملی شماره ۲۵۱۳ (۱) به‌عنوان منبع استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس ادعای خود کارخانه‌های تولیدی میزان کلسیم و فسفر نمونه‌ها که روی بسته‌های تولیدی هم نوشته شده بود، حداقل ۱۷ درصد فسفر و حداقل ۲۱ درصد کلسیم بود. بر اساس حداقل کلسیم و فسفر موجود روی بسته‌ها و بر اساس احتیاجات غذایی (NRC) (National Research Council) (۳۰) میزان ۰/۸ درصد از هر نمونه به جیره پایه اضافه گردید. جیره‌های آزمایشی هر ده روز یکبار تهیه و در سط‌هایی جلوی هر قفس بر اساس نقشه آزمایش قرار می‌گرفتند. آب به‌صورت آزاد در اختیار مرغ‌ها قرار داشت. دوره دو ماهه عادت دهی به جیره‌ها انجام شد

کمبود یا افزایش این عناصر کانی (معدنی) در جیره غذایی و سرانجام وجود رابطه تنگاتنگ و نزدیک میان فسفر و کلسیم در بدن و رابطه منطقی که بین آنها برای جذب هر دو عنصر لازم است، نشان دهنده ضرورت برخورداری از تخصص ویژه و ماشین ابزار پیشرفته در فرایند تولید دی‌کلسیم فسفات است. فسفر در بسیاری از اعمال حیاتی و تمام فعل و انفعالات متابولیکی نقش مؤثری دارد. از نظر متابولیکی احتمالاً فسفر فعال‌ترین عنصر معدنی بدن است (۴، ۲۷ و ۳۹). به لحاظ تقاضای روز افزون مرغداران برای این مکمل غذایی، برخی از تولید کنندگان بدون رعایت کردن استاندارد لازم و به‌کارگیری فناوری پیشرفته در کارگاه‌های سنتی و کوچکشان شروع به تولید این محصول پرخریدار کرده‌اند که با تأسف مصرف این گونه فراورده‌های غیراستاندارد تاکنون زیان‌های هنگفتی را به بار آورده است. دی‌کلسیم فسفات تجاری مهم‌ترین مکملی است که در تغذیه حیوانات در سراسر دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۵). این مکمل در حال بررسی است تا به‌عنوان یک منبع استاندارد در مطالعات بررسی میزان زیست‌فراهمی فسفر در بیشتر مواد خوراکی به‌کار گرفته شود. متخصصین تغذیه میزان زیست‌فراهمی فسفر موجود در دی‌کلسیم فسفات را ۱۰۰ درصد در نظر می‌گیرند. ضمن این‌که مطالعه روی قابلیت‌فراهمی در مواد خوراکی حداکثر اهمیت بیولوژیکی و اقتصادی را داراست (۲۵ و ۴۰).

تحقیقات قابل ملاحظه‌ای در ۲۰ تا ۳۰ سال اخیر روی منابع فسفات مواد غذایی به‌منظور ارزیابی ارزش بیولوژیکی این منابع برای جوجه‌ها و نیمچه‌ها انجام شده است (۵، ۱۶، ۱۸، ۲۲، ۲۴، ۲۹، ۳۱ و ۳۴). علت تنوع در ارزش بیولوژیکی نمونه‌های مختلف دی‌کلسیم فسفات را در نوع آزمایش انتخاب شده، ماده استاندارد، معیار پاسخ و سطح کلسیم به‌کار گرفته شده در طول آزمایش و یا تنوع در ساختمان شیمیایی، درجه بلوری شدن یا تبلور آنها، اندازه ذرات، pH و غلظت مواد آلوده کننده آن می‌دانند (۵، ۲۵ و ۲۹). تنوع در ارزش بیولوژیکی نمونه‌های مختلف را بین (۱۰۳-۶۹) درصد (۱۲) و (۸۰/۳ تا ۱۰۷/۸)

و یکسان سازی در تولید صورت گرفت.

$$\text{(گرم)} \text{ مصرف دان در } 28 \text{ روز} = \frac{\text{ضریب تبدیل غذا (گرم/گرم)}}{\text{میانگین وزن تخم مرغ} \times \text{تعداد مرغ در } 28 \text{ روز}}$$

[۵]

#### نمونه برداری از استخوان درشتنی چپ

در پایان آزمایش از هر قفس یک مرغ به طور تصادفی انتخاب و ذبح گردید. استخوان درشتنی جدا و در دستگاه سوکسله قرار گرفت و توسط اتر، چربی موجود در استخوانها جدا شد. پس از آن استخوانها در آون ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند تا خشک گردند و به وزن ثابت برسند. پس از خشک کردن استخوانها خرد شده و به مدت ۸ ساعت در کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی گراد خاکستر شدند. سپس درصد خاکستر استخوان با توجه به وزن اولیه و وزن خاکستر تعیین و سپس درصد کلسیم و فسفر خاکستر استخوان اندازه گیری شد.

#### روش محاسبه ارزش بیولوژیکی نمونه های مختلف دی کلسیم

##### فسفات

رابطه رگرسیونی بین میزان مصرف فسفر از هر نمونه دی کلسیم فسفات و درصد خاکستر استخوان مرغ های مصرف کننده همان نمونه به دست آمد. از تقسیم ضریب رگرسیون هر رابطه بر ضریب رگرسیونی نمونه استاندارد، ارزش بیولوژیکی نسبی نمونه ها محاسبه گردید (۱۶ و ۳۳).

##### مدل طرح

این آزمایش با ۸ تیمار و ۴ بلوک با طرح پایه بلوک کاملاً تصادفی در قالب طرح کرت های خرد شده در زمان (Split plot designs) انجام شد. ۸ تیمار نمونه های مختلف دی کلسیم فسفات (A,B,C,D,E,F,G,H) بودند که در ۶ دوره ۱۵ روزه ثابت اطلاعات شده و در نهایت در ۳ دوره یک ماهه مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مدل طرح برای صفاتی که در چند دوره اندازه گیری شدند، به صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + R_k + A_i + (AR)_{ik} + B_j + (BR)_{jk} + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad [۶]$$

در این طرح از ۱۶۰ قطعه مرغ لگهورن سفید سویه های لاین W 36 از سن ۳۶ هفتگی تا ۴۸ هفتگی در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی استفاده شد. نمونه برداری از تخم مرغ ها هر ۱۵ روز یکبار و در ۳ روز آخر هفته انجام می شد. نمونه های تخم مرغ به آزمایشگاه منتقل و صفات مربوط به تخم مرغ شامل وزن تخم مرغ، مقاومت پوسته، ضخامت پوسته، وزن پوسته خشک، خاکستر پوسته، درصد کلسیم و فسفر پوسته اندازه گیری شد. برای خشک کردن پوسته از آون ۶۰ °C به مدت ۸ ساعت استفاده شد. برای تهیه خاکستر پوسته از کوره الکتریکی با درجه حرارت ۶۰۰ °C به مدت ۱۲ ساعت استفاده شد. برای اندازه گیری کلسیم و فسفر به ترتیب از دستگاه جذب اتمی (Atomic Absorption) و دستگاه اسپکتروفتومتری و طبق روش پیشنهادی انجمن رسمی شیمی تجزیه (AOAC) (۷) استفاده شد.

با استفاده از داده های وزن تخم مرغ (w)، ارتفاع سفیده (H) و با توجه به فرمول زیر واحدها و محاسبه شد.

$$HU = 100 \log (H + 7.57 - 1.7 W^{0.37}) \quad [۱]$$

صفات تولیدی زیر با استفاده از داده های تولید روزانه تخم مرغ و میزان مصرف ماهیانه غذا محاسبه گردیدند. فرمول محاسبه این صفات در زیر آورده شده است.

$$\times 100 = \frac{\text{تعداد تخم مرغ در } 28 \text{ روز}}{28 \times \text{تعداد مرغ در } 28 \text{ روز}} \text{ درصد تولید تخم مرغ} \quad [۲]$$

$$\text{میانگین وزن تخم مرغ} \times \text{درصد تولید} = \text{بازده تخم مرغ (گرم/مرغ/روز)} \quad [۳]$$

$$= \frac{\text{مصرف غذا در } 28 \text{ روز (گرم)}}{28 \times \text{تعداد مرغ در } 28 \text{ روز}} \text{ مصرف غذا (گرم/مرغ/روز)} \quad [۴]$$

جدول ۱. اجزای و ترکیبات جیره پایه

ماده خوراکی	درصد
ذرت	۶۷/۷
کنجاله سویا	۱۹
جو	۲/۷۵
یونجه	۱
صدف	۸
دی کلسیم فسفات*	۰/۸
مکمل معدنی**	۰/۲۵
مکمل ویتامینی***	۰/۲۵
نمک	۰/۲۵
دی - ال - متیونین	۰/۰۱
جمع	۱۰۰/۰۱
ترکیبات محاسبه شده	
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۷۸۰
پروتئین خام (درصد)	۱۴/۶
کلسیم (درصد)	۳/۲۵
فسفر فراهم (Available phosphorus) (درصد)	۰/۲۵

\*: دی کلسیم فسفاتهای تولیدی در کارخانه‌های مختلف جهت تأمین مقدار مورد نیاز به صورت جداگانه به جیره پایه اضافه شدند.  
 \*\*: استفاده از این مقدار مکمل معدنی عناصر زیر را در هر کیلوگرم جیره تأمین کرده است: ۸۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۰ میلی‌گرم روی، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۵ میلی‌گرم مس، ۱ میلی‌گرم کبالت، ۱ میلی‌گرم ید، ۱ میلی‌گرم سلنیوم و ۲۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید.  
 \*\*\*: استفاده از این مقدار مکمل ویتامینی، ویتامین‌های زیر را در هر کیلوگرم جیره تأمین نموده است: ۱۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۲۵۰۰ واحد D<sub>3</sub>، ۱۰ واحد E، ۲/۲ میلی‌گرم B<sub>1</sub>، ۴ میلی‌گرم B<sub>2</sub>، ۸ میلی‌گرم B<sub>3</sub>، ۲ میلی‌گرم B<sub>6</sub>، ۰/۵۶ میلی‌گرم B<sub>9</sub>، ۱۵ میکروگرم B<sub>12</sub>، ۰/۱۵ میلی‌گرم H<sub>2</sub> و ۲۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید.

$Y_{ijk}$  = مقدار مشاهده در کرت فرعی  $i$  از کرت اصلی  $i$  و تکرار  $k$   
 $(AB)_{ij}$  = اثر متقابل کرت اصلی با کرت فرعی  
 $\epsilon_{ijk}$  = خطای کرت فرعی (خطای  $b$ )  
 می‌باشد.

$\mu$  = میانگین مشاهدات (کل آزمایش)  
 $R_k$  = اثر بلوک  $k$   
 $A_i$  = اثر سطح  $i$  از عامل  $A$  (جیره‌های آزمایشی مختلف)  
 $(AR)_{ik}$  = خطای آزمایشی ناشی از اثر متقابل عامل  $A$  با بلوک  
 (خطای  $a$ )  
 $y_{ij} = \mu + T_i + R_{j+} + \epsilon_{ij}$  [۷]

$\mu$  = میانگین مشاهدات  
 $B_j$  = اثر سطح  $j$  از عامل  $B$  (دوره‌های آزمایشی مختلف)  
 $(BR)_{jk}$  = اثر متقابل بلوک با کرت فرعی ( $b$ )  
 $y_{ij}$  = مقدار مشاهده

جدول ۲. تأثیر نمونه‌های مختلف دی کلسیم فسفات و دوره‌های متفاوت آزمایشی بر صفات کیفی پوسته تخم مرغ (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد)

منبع تغییر	مقاومت پوسته (کیلوگرم بر سانتی متر مربع)	ضخامت پوسته (میلی متر)	پوسته (درصد)	خاکستر پوسته (درصد)	فسفر پوسته (درصد)	کلسیم پوسته (درصد)	واحدها
A	2/9 $\pm$ 0/12	0/37 $\pm$ 0/005 <sup>b</sup>	8/3 $\pm$ 0/19 <sup>b</sup>	90/5 $\pm$ 0/84 <sup>ab</sup>	0/102 $\pm$ 0/003	31/65 $\pm$ 0/1	72/51 $\pm$ 0/3
B	3/2 $\pm$ 0/13	0/40 $\pm$ 0/005 <sup>a</sup>	9/1 $\pm$ 0/22 <sup>a</sup>	90/2 $\pm$ 0/90 <sup>ab</sup>	0/095 $\pm$ 0/002	31/43 $\pm$ 0/3	71/99 $\pm$ 0/2
C	2/9 $\pm$ 0/14	0/39 $\pm$ 0/007 <sup>ab</sup>	8/9 $\pm$ 0/18 <sup>a</sup>	89/0 $\pm$ 0/80 <sup>b</sup>	0/103 $\pm$ 0/004	31/72 $\pm$ 0/7	71/73 $\pm$ 0/2
D	2/9 $\pm$ 0/15	0/38 $\pm$ 0/004 <sup>ab</sup>	9/0 $\pm$ 0/19 <sup>a</sup>	90/0 $\pm$ 0/44 <sup>ab</sup>	0/100 $\pm$ 0/003	31/29 $\pm$ 0/9	72/68 $\pm$ 0/3
E	2/8 $\pm$ 0/14	0/38 $\pm$ 0/003 <sup>ab</sup>	8/7 $\pm$ 0/20 <sup>a</sup>	90/0 $\pm$ 0/39 <sup>ab</sup>	0/105 $\pm$ 0/003	32/33 $\pm$ 0/5	72/53 $\pm$ 0/3
F	2/9 $\pm$ 0/08	0/37 $\pm$ 0/005 <sup>b</sup>	9/1 $\pm$ 0/20 <sup>ab</sup>	91/3 $\pm$ 0/55 <sup>a</sup>	0/100 $\pm$ 0/003	31/33 $\pm$ 0/8	71/60 $\pm$ 0/2
G	2/9 $\pm$ 0/15	0/39 $\pm$ 0/005 <sup>ab</sup>	9/0 $\pm$ 0/11 <sup>a</sup>	90/4 $\pm$ 0/52 <sup>ab</sup>	0/097 $\pm$ 0/003	32/42 $\pm$ 0/6	71/56 $\pm$ 0/3
H	2/8 $\pm$ 0/01	0/38 $\pm$ 0/005 <sup>ab</sup>	8/8 $\pm$ 0/11 <sup>a</sup>	89/9 $\pm$ 0/72 <sup>ab</sup>	0/103 $\pm$ 0/004	32/43 $\pm$ 0/6	72/07 $\pm$ 0/2
دوره (۱)	3/7 $\pm$ 0/09 <sup>a</sup>	0/39 $\pm$ 0/003 <sup>a</sup>	8/0 $\pm$ 0/10 <sup>a</sup>	90/7 $\pm$ 0/24 <sup>a</sup>	0/109 $\pm$ 0/002 <sup>a</sup>	34/7 $\pm$ 0/2 <sup>a</sup>	72/27 $\pm$ 0/2
دوره (۲)	2/8 $\pm$ 0/07 <sup>b</sup>	0/38 $\pm$ 0/002 <sup>b</sup>	8/4 $\pm$ 0/28 <sup>a</sup>	90/3 $\pm$ 0/18 <sup>a</sup>	0/101 $\pm$ 0/002 <sup>b</sup>	30/8 $\pm$ 0/2 <sup>b</sup>	71/78 $\pm$ 0/2
دوره (۳)	2/8 $\pm$ 0/07 <sup>b</sup>	0/38 $\pm$ 0/004 <sup>b</sup>	8/0 $\pm$ 0/10 <sup>a</sup>	88/9 $\pm$ 0/60 <sup>b</sup>	0/092 $\pm$ 0/002 <sup>c</sup>	29/9 $\pm$ 0/2 <sup>c</sup>	72/29 $\pm$ 0/1

داخل تیمارها و دوره‌ها اعداد با حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ( $P > 0/05$ ).

$T_i$  = اثر جیره‌های آزمایشی

$R_j$  = اثر بلوک

$e_{ij}$  = خطای آزمایشی

داده‌های حاصل از آزمایش توسط نرم افزار SAS (۳۸) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (۱۵) انجام شد.

## نتایج و بحث

### صفات کیفی

بین هیچ‌کدام از نمونه‌های مختلف دی کلسیم فسفات تفاوت معنی‌داری ( $P > 0/05$ ) از لحاظ مقاومت پوسته تخم مرغ، فسفر پوسته، کلسیم پوسته و واحدها مشاهده نشد. این اثرات در جدول ۲ آمده است. بیشترین میانگین مقاومت پوسته از نظر عددی مربوط به تیمار B با میانگین ۳/۲۳ کیلوگرم بر سانتی متر مربع و کمترین آنها مربوط به تیمار E با میانگین ۲/۷۶ کیلوگرم بر سانتی متر مربع بود. هم‌چنین بیشترین میانگین ضخامت

پوسته مربوط به تیمار B با میانگین ۰/۴۰ میلی متر و کمترین آن مربوط به تیمار A با میانگین ۰/۳۸ میلی متر بود. از لحاظ درصد پوسته تیمار شاهد (A) کمترین مقدار، ۸/۳۳ درصد و تیمار B بیشترین مقدار ۹/۱۶ درصد پوسته را به خود اختصاص دادند. بیشترین درصد خاکستر پوسته مربوط به تیمار F با میانگین ۹۱/۳۳ درصد و کمترین آنها مربوط به تیمار C با میانگین ۸۹/۷۰ درصد بود. تیمار E با متوسط ۰/۱۰۶ درصد بیشترین مقدار فسفر پوسته و تیمار B با متوسط ۰/۰۹۵ درصد کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. در بین تیمارها، تیمار H با میانگین ۳۲/۴۳ درصد بیشترین و تیمار D با میانگین ۳۱/۲۹ درصد کمترین درصد کلسیم پوسته را داشتند. بالاترین واحدها و مربوط به تیمار D با میانگین ۷۲/۶۸ و کمترین آنها مربوط به تیمار G با میانگین ۷۱/۵۶ بود. بین دوره‌های مختلف آزمایشی از لحاظ میزان مقاومت پوسته تخم مرغ، ضخامت پوسته، درصد خاکستر پوسته، درصد فسفر پوسته، درصد کلسیم پوسته تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ). بین دوره‌های مختلف

با نتایج احمد و همکاران (۶)، سعید و سولیوان (۳۷)، شیلا و همکاران (۴۱) بود. پترسون (۳۲) و کشاورز (۲۳) اظهار نمودند که با افزایش سن به علت کاهش قدرت پرندگان برای جذب یا ابقاء کلسیم و یا برداشت کلسیم از استخوانها جهت تشکیل پوسته، کیفیت پوسته نیز به دنبال آن کاهش خواهد یافت. بار و همکاران (۹) شیلا و همکاران (۴۱) گزارش کردند که با افزایش سن به خاطر اثرات فیزیولوژیک منفی ناشی از افزایش سن میزان پروتئین ناقل کلسیم در روده جهت انتقال کلسیم کاهش می‌یابد. هم‌چنین تحقیقات نشان داده که میزان قابلیت هضم کلسیم و فسفر نیز کاهش می‌یابد (۲۸). در این آزمایش هیچگونه اثر معنی‌داری ناشی از اثر دوره بر واحدها و مشاهده نشد، که مطابق با نتیجه روسی و همکاران (۳۵) بود. به نظر می‌رسد که با افزایش سن کیفیت داخلی و محتویات داخلی تخم تغییر نمی‌کند.

### صفات کمی

جدول ۳ تأثیر جیره‌ها و دوره‌های آزمایشی مختلف را بر صفات کمی نشان می‌دهد. طبق اعداد مندرج در این جدول بین هیچکدام از نمونه‌های مختلف دی‌کلسیم فسفات تفاوت معنی‌داری ( $P > 0/05$ ) از لحاظ وزن تخم‌مرغ، درصد تولید تخم‌مرغ، ضریب تبدیل خوراک و بازده تخم‌مرغ مشاهده نشد. اما از لحاظ میزان مصرف خوراک، تفاوت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) وجود داشت. بیشترین مقدار وزن تخم‌مرغ مربوط به تیمار A با میانگین ۶۱/۹۵ گرم و کمترین آنها مربوط به تیمار B، با میانگین ۵۹/۰۴ گرم بود. بیشترین درصد تولید تخم‌مرغ مربوط به تیمار F با متوسط ۸۲/۲۶ درصد و کمترین آنها مربوط به تیمار D با میانگین ۷۷/۱۴ درصد بود. بیشترین میزان مصرف خوراک مربوط به تیمار G با میانگین ۱۱۰/۲۵ گرم در روز برای هر مرغ و کمترین آن مربوط به تیمار B با میانگین ۱۰۱/۶۰ گرم در روز برای هر مرغ بود. بالاترین بازده تخم‌مرغ مربوط به تیمارها F با متوسط ۴۹/۸۰ گرم به ازای هر مرغ در روز و کمترین آن مربوط به تیمار D با میانگین ۴۵/۷۲ گرم بود.

آزمایشی از لحاظ بقیه صفات کیفی پوسته تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0/05$ ). اثر متقابل بین نمونه‌های مختلف و دوره‌های متفاوت آزمایشی بر هیچ‌کدام از صفات کیفی پوسته معنی‌دار ( $P > 0/05$ ) نشد. نتایج به دست آمده نتایج کشاورز (۲۳) را تایید می‌کند.

با توجه به این که بخش عمده ساختمان پوسته تخم‌مرغ را کربنات کلسیم تشکیل می‌دهد، صفات کیفی پوسته تخم‌مرغ به منبع کلسیمی جیره بیشتر وابسته‌اند. یکی از دلایل وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف می‌تواند بیشتر به نحوه عمل‌آوری این نمونه‌ها در کارخانه‌های تولید کننده مرتبط باشد. به عنوان مثال کربنات کلسیم به کار برده شده جهت ساخت دی‌کلسیم فسفات بدلیل این که از نواحی مختلف تأمین می‌شود، می‌تواند در کیفیت دی‌کلسیم فسفات تولیدی اثر داشته باشد (۲۱ و ۲۲). لازم به ذکر است که علیرغم تأمین بخش عمده کلسیم جیره با صدف به علت مشابه بودن صدف به کار برده شده تفاوت موجود نمی‌تواند به خاطر صدف باشد.

چاندارمونی و همکاران (۱۳) علت وجود اختلاف بین اکثر صفات کیفی پوسته تخم‌مرغ‌ها را منبع و میزان کلسیم نمونه‌های متفاوت ذکر کرد. راش و همکاران (۳۶) بیان کردند که صفات کیفی پوسته به طور معنی‌داری به وسیله سطوح کلسیم و فسفر و منبع آن تحت تأثیر قرار می‌گیرد. هورتز و بار (۱۹) عنوان کردند که تفاوت عمده در صفات کیفی پوسته ناشی از میزان ابقای کلسیم جیره است. در مرغ‌هایی که درصد پوسته و ضخامت پوسته بالائی داشتند نشان داده شده است که میزان پروتئین ناقل کلسیم (Calcium binding protein. CaBP) آنها در روده بیشتر است.

مشابه با نتیجه آزمایش دیگر (۳۵) چنین به نظر می‌رسد که میزان فسفر یا منبع آن هیچ‌گونه تأثیری بر کیفیت داخلی از جمله واحدها ندارد. به نظر می‌رسد از لحاظ اثر دوره‌های متفاوت آزمایشی بر صفات کیفی پوسته روند مشابهی مشاهده شد. به طوری که با گذشت زمان به جز در مورد واحدها از کیفیت صفات کیفی پوسته کاسته شد. نتایج به دست آمده موافق

جدول ۳. تأثیر نمونه‌های مختلف دی کلسیم فسفات و دوره‌های متفاوت آزمایشی بر صفات تولیدی

منبع تغیر	وزن تخم مرغ (گرم)	تولید تخم مرغ (درصد)	مصرف خوراک (گرم/مرغ/روز)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/مرغ/روز)	بازده تخم مرغ (گرم/مرغ/روز)
A	61/9 ± 0/61	78/3 ± 1/9	105/7 ± 1/1 <sup>ab</sup>	2/1 ± 0/07	48/2 ± 1/0
B	59/0 ± 0/57	79/6 ± 1/8	101/6 ± 1/1 <sup>b</sup>	2/1 ± 0/03	47/8 ± 1/4
C	60/5 ± 0/75	78/4 ± 1/7	106/7 ± 2/9 <sup>ab</sup>	2/2 ± 0/07	47/5 ± 1/0
D	59/1 ± 0/83	77/1 ± 2/4	105/5 ± 3/4 <sup>ab</sup>	2/2 ± 0/09	45/7 ± 1/7
E	60/4 ± 0/73	79/9 ± 1/2	104/2 ± 3/7 <sup>ab</sup>	2/1 ± 0/07	48/2 ± 0/8
F	60/6 ± 0/8	82/3 ± 2/0	104/3 ± 1/2 <sup>ab</sup>	2/2 ± 0/04	49/8 ± 1/2
G	60/8 ± 0/8	78/8 ± 1/5	110/2 ± 2/0 <sup>a</sup>	2/2 ± 0/04	47/9 ± 0/7
H	60/9 ± 0/7	79/2 ± 1/3	106/2 ± 2/9 <sup>ab</sup>	2/2 ± 0/07	48/2 ± 0/9
دوره (۱)	59/4 ± 0/4 <sup>b</sup>	83/2 ± 0/9 <sup>a</sup>	103/4 ± 1/3 <sup>b</sup>	2/2 ± 0/03	49/5 <sup>a</sup> ± 0/6 <sup>a</sup>
دوره (۲)	60/8 ± 0/4 <sup>a</sup>	78/1 ± 0/1 <sup>b</sup>	104/2 ± 1/4 <sup>b</sup>	2/2 ± 0/03	47/5 <sup>b</sup> ± 0/7 <sup>b</sup>
دوره (۳)	61 <sup>a</sup> ± 0/5 <sup>a</sup>	76/4 ± 0/9 <sup>b</sup>	109/1 ± 2/3 <sup>a</sup>	2/2 ± 0/05	46/5 <sup>b</sup> ± 0/7 <sup>b</sup>

داخل تیمارها و دوره‌ها اعداد با حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (P > 0/05).

قرار نمی‌گیرد. نتایج به دست آمده در مورد اثر زمان بر صفات کمی از جمله وزن تخم مرغ گزارش بار و همکاران (۸)، جری و همکاران (۱۷) و شیلا و همکاران (۴۱) را تایید می‌کند. به نظر می‌رسد که همراه با افزایش سن مرغ به خاطر کاهش درصد تولید تخم مرغ از یک طرف و افزایش میزان مصرف غذا از طرف دیگر و در نتیجه سنگین تر شدن وزن بدن، وزن تخم مرغ افزایش می‌یابد. در مورد اثر زمان بر درصد تولید تخم این نتایج گزارش بار و همکاران (۹)، جری و همکاران (۱۷) شیلا و همکاران (۴۱) را تایید می‌کند. بولینک و همکاران (۱۰) آزمایشی را در سن ۲۰ تا ۷۰ هفتگی با مرغ‌های تخم‌گذار انجام دادند و گزارش کردند که با افزایش سن درصد تولید تخم مرغ نیز کاهش می‌یابد. وزن بالاتر مرغ‌ها باعث افزایش میزان مصرف غذا همراه با گذشت زمان می‌شود. مشاهده می‌شود که با افزایش سن ضریب تبدیل غذایی بالا رفته است، این اختلاف معنی‌دار نشده اما می‌تواند به علت افزایش میزان مصرف غذا از یک طرف و کاهش بازده تخم مرغ از طرف دیگر باشد. این دو

بهترین ضریب تبدیل مربوط به تیمار A با ۲/۱۳ و بالاترین ضریب تبدیل مربوط به تیمار G با متوسط ۲/۲۷ گرم غذا به ازای هر گرم تولید تخم مرغ بود. اثر دوره‌های متفاوت آزمایشی بر وزن تخم مرغ، درصد تولید تخم مرغ، مصرف خوراک و بازده تخم مرغ معنی‌دار (P < 0/05) شد. اما بر ضریب تبدیل خوراک اثر معنی‌داری نداشت (P > 0/05). بار و همکاران (۸) مشابه همین نتایج، گزارش کردند که صفات تولیدی تحت تأثیر سطح کلسیم یا فسفر جیره قرار نمی‌گیرد. از این گفته می‌توان چنین نتیجه گرفت که نمونه‌های دی کلسیم فسفات نیز چون منبع تأمین کننده کلسیم و فسفر جیره بوده‌اند از این قاعده مستثنی نبوده‌اند. رامرو و همکاران (۳۴) علت تفاوت در میزان مصرف خوراک منابع مختلف فسفات را مقدار عناصر سمی موجود در آنها از جمله فلئوئور گزارش کردند. نلسون و همکاران (۲۹) در آزمایشی که با جوجه‌های گوشتی انجام دادند، گزارش کردند که ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر منبع فسفات جیره غذایی

جدول ۴. تأثیر دی کلسیم فسفات‌های مختلف بر خصوصیات استخوان درشت‌نی

تیمارها	خاکستر استخوان (درصد)	فسفر استخوان (درصد)	کلسیم استخوان (درصد)
A	۵۷/۶ ± ۲/۰۴ <sup>a</sup>	۸/۶ ± ۰/۱۴	۳۵/۶ ± ۰/۳۱ <sup>b</sup>
B	۴۹/۱۰ ± ۲/۵ <sup>b</sup>	۷/۹ ± ۰/۴۰	۳۵/۸ ± ۰/۳۲ <sup>b</sup>
C	۵۲/۶ ± ۲/۳ <sup>ab</sup>	۸/۲ ± ۰/۳۶	۳۶/۹ ± ۰/۳ <sup>ab</sup>
D	۵۵/۲ ± ۱/۴ <sup>ab</sup>	۸/۱ ± ۰/۵۸	۳۶/۹ ± ۰/۵۷ <sup>ab</sup>
E	۵۵/۴ ± ۱/۳ <sup>ab</sup>	۸/۶ ± ۰/۲۴	۳۵/۹ ± ۰/۴۴ <sup>a</sup>
F	۵۷/۹ ± ۲/۷ <sup>a</sup>	۸/۹ ± ۰/۳۲	۳۷/۹ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>
G	۵۵/۷ ± ۰/۶ <sup>ab</sup>	۹/۱ ± ۰/۰۶	۳۵/۸ ± ۰/۲۵ <sup>b</sup>
H	۵۷/۳ ± ۲/۹ <sup>a</sup>	۹/۰ ± ۰/۳۷	۳۷/۰ ± ۰/۱۵ <sup>ab</sup>

در هر ستون اعداد با حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ( $P > ۰/۰۵$ ).

عملکرد بهتر شده است. دلیل آن را ماندگاری بیشتر منابع فسفات در سنگدان و در نتیجه بیشتر در دسترس قرار گرفتن عناصر معدنی آن ذکر کرده‌اند. با توجه به این‌که میزان خاکستر، کلسیم یا فسفر استخوان درشت‌نی نشان دهنده وضعیت مرغ از لحاظ تعادل کلسیم یا فسفر است، تا زمانی که مرغ از لحاظ تأمین کلسیم از طریق جیره با مشکلی روبه‌رو نشود، میزان کلسیم استخوان در طی دوره‌ای که مرغ در حال تشکیل پوسته نباشد، جایگزین می‌شود و در نتیجه میزان کلسیم استخوان ثابت می‌ماند. اما اگر مرغ برای تأمین کلسیم مورد نیاز از طریق جیره با مشکل روبه‌رو شود، به ذخائر استخوانی روی می‌آورد و با آزاد سازی کلسیم از طریق استخوان سعی در جبران این کمبود می‌کند، پس از مدتی ذخایر استخوانی هم کم شده و مرغ تولید خود را کاهش می‌دهد (۴۳).

توابع رگرسیونی بین میزان مصرف فسفر بر حسب گرم برای هر نمونه دی کلسیم فسفات (X) و میزان خاکستر استخوان درشت‌نی بر حسب درصد مربوط به مرغان کشتار شده از همان نمونه (Y) به ترتیب زیر می‌باشد.

$$(۱) \text{ تابع رگرسیونی نمونه A (شاهد) } r^2 = ۰/۶۰$$

$$Y_A = ۵۵/۲۸۵ + ۰/۷۲۸ X$$

$$(۲) \text{ تابع رگرسیونی نمونه B } r^2 = ۰/۷۲$$

اثر در کنار هم باعث شدند که هیچ اثری ناشی از سن مرغ بر ضریب تبدیل وجود نداشته باشد. با افزایش سن مرغ درصد تولید کاهش می‌یابد، از طرف دیگر وزن تخم مرغ تولیدی افزایش می‌یابد ولی چون درصد تولید نسبت به وزن تخم مرغ اثر بیشتری دارد پس با افزایش سن مرغ بازده تخم مرغ کاهش می‌یابد که موافق با نتایج بولینگ و همکاران (۱۰) می‌باشد.

بین نمونه‌های مختلف آزمایشی از لحاظ درصد خاکستر و کلسیم استخوان تفاوت معنی‌داری ( $P < ۰/۰۵$ ) مشاهده شد. اما اختلاف بین تیمارها از لحاظ فسفر استخوان درشت‌نی معنی‌دار نبود. بیشترین درصد خاکستر مربوط به تیمار F با متوسط ۵۷/۹۰ درصد و کمترین آن مربوط به تیمار B با ۴۹/۱۳ درصد خاکستر استخوان بود. بیشترین درصد فسفر استخوان مربوط به تیمار G با متوسط ۹/۰۸ درصد و کمترین آن مربوط به تیمار B با متوسط ۷/۸۷ درصد بود. بالاترین درصد کلسیم استخوان مربوط به تیمار F با متوسط ۳۷/۹۹ درصد و کمترین آن مربوط به تیمار A با میانگین ۳۵/۶۵ درصد بود. برنل و همکاران (۱۱) و لیما و همکاران (۲۵) تفاوت در درصد خاکستر استخوان را به اندازه ذرات منابع فسفات نسبت داده‌اند. چنین گزارش شده‌است که با افزایش اندازه ذرات منابع فسفات، به‌خصوص در جیره‌هایی که از لحاظ کلسیم و فسفر در حد مرزی هستند،



(به نقل از ۳۳) به ترتیب اختلاف معنی دار ۱۰-۲۵ و ۲۵ تا ۳۷ درصدی بین زیست فراهمی منابع فسفات را گزارش کردند. نلسون و همکاران (۲۹) اظهار می‌دارند که روش ثابت و تایید شده‌ای جهت تعیین زیست فراهمی نمونه‌های فسفات وجود ندارد. تفاوت‌های موجود در به‌نظر می‌رسد که روش‌های اندازه‌گیری از جمله نمونه مورد آزمایش به‌طور خاص، منبع استاندارد مورد استفاده، معیار انتخاب شده جهت ارزیابی پاسخ و سطح کلسیم موجود در نمونه‌های مورد آزمایش همگی می‌توانند بر پاسخ به‌دست آمده تأثیرگذار باشند (۲۹).

### نتیجه‌گیری

بین صفات کیفی پوسته تخم‌مرغ و صفات تولیدی مرغ روند خاصی که به‌طور واضح مشخص کننده یک تیمار بهتر باشد وجود نداشت. بین دوره‌های آزمایشی روند مشخصی از لحاظ صفات کیفی پوسته و صفات تولیدی مرغ وجود داشت، به این صورت که مرغ‌ها در دوره اول نسبت به بقیه دوره‌ها وضعیت بهتری داشتند.

از لحاظ خصوصیات استخوان، روند نسبتاً واضحی بین تیمارها جهت مشخص کردن چگونگی کیفیت وجود داشت. در این دسته از آزمایش‌ها نمونه F نسبت به بقیه منابع در وضعیت بهتری قرار داشت و نمونه B هم نسبت به بقیه منابع نتایج ضعیف‌تری نشان داد. ارزش بیولوژیکی نسبی نمونه‌ها نیز روند مشخصی داشتند. به‌طوری که تیمار F با ۱۰۵/۷ درصد بالاترین و تیمار B و D کمترین ارزش بیولوژیکی را دارا بودند. با نگاهی به نتایج به‌دست آمده مشخص می‌شود که نمونه F در کل به عنوان یک نمونه بهتر و برتر قابل معرفی است.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از کلیه اساتید محترم گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، تشکر و قدردانی می‌شود. هم‌چنین از پرسنل محترم آزمایشگاه و هم‌کلاسی‌های عزیزم که به هر نحو مرا در انجام این تحقیق یاری دادند کمال تقدیر و تشکر را دارم.

$$Y_B = 47/3 + 0/64 x$$

$$r^2 = 0/59$$

(۳) تابع رگرسیونی نمونه C

$$Y_C = 49/665 + 0/701 x$$

$$r^2 = 0/75$$

(۴) تابع رگرسیونی نمونه D

$$Y_D = 53/3 + 0/62 x$$

$$r^2 = 0/85$$

(۵) تابع رگرسیونی نمونه E

$$Y_E = 53/5 + 0/67 x$$

$$r^2 = 0/83$$

(۶) تابع رگرسیونی نمونه F

$$Y_F = 56/75 + 0/77 x$$

$$r^2 = 0/64$$

(۷) تابع رگرسیونی نمونه G

$$Y_G = 53/35 + 0/68 x$$

$$r^2 = 0/9$$

(۸) تابع رگرسیونی نمونه H

$$Y_H = 53/35 + 0/68 x$$

با تقسیم ضرایب رگرسیونی هر نمونه بر نمونه استاندارد ارزش بیولوژیکی نمونه‌های B, C, D, E, F, G و H به ترتیب ۸۸/۰، ۹۶/۳، ۸۵/۰، ۹۲/۰، ۱۰۵/۷، ۹۳/۵، ۹۵/۰ درصد شد. (لازم به ذکر است که ارزش بیولوژیکی نمونه استاندارد ۱۰۰ درصد فرض شده‌است). لیما و همکاران (۲۵) متوسط ارزش بیولوژیکی منابع مختلف دی کلسیم فسفات را از ۸۰/۳ تا ۱۰۷/۸ درصد گزارش کرد. این محققین علت تفاوت در ارزش بیولوژیکی نمونه‌های مختلف را فرم شیمیایی فسفات موجود در هر نمونه دانستند. نسبت مونو و دی کلسیم فسفات موجود در هر نمونه مشخص کننده فرم شیمیایی فسفات موجود در هر نمونه می‌باشد. فرم مونو کلسیم فسفات نسبت به دی کلسیم فسفات قابلیت جذب بالاتری دارد. به‌طور کلی با افزایش محلولیت منابع فسفات در آب، اسیدسیتریک و اسیدکلریدریک میزان ارزش بیولوژیکی آن منبع افزایش می‌یابد (۴۲). ویل به نقل از (۳۳) با استفاده از مونو/دی کلسیم فسفات تجاری به‌عنوان منبع استاندارد ارزش بیولوژیکی ۲۰ نمونه دی کلسیم فسفات را بین ۷۶/۳ تا ۱۰۴/۸ درصد گزارش داد (۳۰). اندازه ذرات منابع فسفات می‌تواند فراهمی منابع فسفات را تحت تأثیر قرار دهد. گرفت و روبرت (۲۰) زیست فراهمی منابع فسفات با ذرات درشت تر را بیشتر گزارش کردند. یاشیدا و همکاران

## منابع مورد استفاده

۱. استاندارد ملی ایران. ۱۳۷۸. شماره ۲۵۱۳، دی‌کلسیم فسفات، ویژگی‌ها و روش‌های آزمون.
۲. ایروانی، ح. ۱۳۷۷. مقایسه ارزش بیولوژیکی دی‌کلسیم فسفات‌های داخلی و وارداتی و ارزیابی اثر آنها بر کیفیت پوسته تخم‌مرغ. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
۳. حسینی، ا. ۱۳۷۵. بررسی فنی فرایند تولید دی‌کلسیم فسفات (DCP) در ایران. مجله تغذیه دام و طیور ۱۷: ۴۴-۴۸.
۴. رسوخی، س. ۱۳۷۵. نقش مواد معدنی در غذای دام و طیور. نشریه شماره (۲)، مرکز تحقیقات صنعتی گدازه.
۵. صیفی‌آبادی شاپوری، ر. ۱۳۶۸. تعیین ارزش بیولوژیکی دی‌کلسیم فسفات‌های ساخت داخل و مقایسه آن با نمونه وارداتی به روش تغذیه در جوجه‌های گوشتی. پایان نامه دکترای دام‌پزشکی، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه تهران.
6. Ahmad, S. H., H.C. Alustin and H. J. Thomas. 1989. Effect of dietary aluminium on calcium and phosphorous metabolism of laying hens. *Poult. Sci.* 68:706-714.
7. AOAC. 1975. Official Methods of the Association of Official Analytical Chemists. 12<sup>th</sup> Ed., Washington DC., USA.
8. Bar, A. and E. Vax. 2002. Re-evaluation of calcium and phosphorous requirements in laying hens. *Brit. Poult. Sci.* 43:261-269.
9. Bar, A., E. Vax and S. Steriem. 1998. Effects of age at onset of production, Light regime and dietary calcium on performance, egg shell traits, duodenal calbindin and cholecalciferol metabolism. *Brit. Poult. Sci.* 39: 282-290.
10. Boling, S. D., M. W. Douglas, M. L. Johnson, X. Wang, C. M. Parsons, K. W. Koelkebeck and R. A. Zimmermant. 2000. The effect of dietary available phosphorous levels and phytase on performance of young and older laying hens. *Poult. Sci.* 79: 224-230.
11. Burneil, T.W., G. L. Cromwell and T.S. Stahly. 1990. Effects of particle size on the biological availability of calcium and phosphorous in deflurinated phosphate for chicks. *Poult. Sci.* 69: 1110- 1117.
12. Caelos, A. B. and H. M. Edwards. 1988. The effect of 1,25-Dihydroxycholecalciferol and phytase on the natural phytase phosphorus utilization by laying hens. *Poult. Sci.* 77: 850-858.
13. Chandramoni, S., B. Jadhao and R. P. Sinha. 1998. Effect of dietary calcium and phosphorus concentration on retention of these nutrients by caged layers. *Brit. Poult. Sci.* 39: 544-548.
14. Damron, B. L., A. R. Eldred and R. H. Harms. 1974. The relationship of dietary phosphorus to egg shell quality. *Poult. Sci.* 53: 1716 (Abstract).
15. Duncan, D. B. 1995. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11: 1-42.
16. Fernandez, J. I. M., F. R. Lima. C.X. Mendonca, I. Mabe, R. Albuquerque and P. M. leal. 1999. Relative bioavailability of phosphorus in feed and agricultural phosphates. *Poult. Sci.* 78: 1729-1736.
17. Jerry, L, S. and J. J. Martha. 1996. Availaity for poult of phosphorous from meat and bone meals of different particle sizes. *Poult. Sci.* 75: 232- 239.
18. Julian, W. and D. J. A. Cole. 1990. Feedstuff Evaluation. 1<sup>st</sup> ed., Elsevier Pub., USA.
19. Hurwits, S. and A. Bar. 1969. Intestinal calcium absorption in the laying fowl and its importance in calcium homeostasis, *Anim. J. Clin. Nutr.* 22:391-396.
20. Griffith, M. and S Robert. 1970. The relation of dietary particle size to phosphorous availability in purified diets, *Poult. Sci.* 1217: 1274.
21. Keshavrz, K. 1998. Further investigations on the effect of dietary manipulation of protein, phosphorous, and calcium for reducing their daily requirement for laying hens. *Poult. Sci.* 77: 1333 – 1346.
22. Keshavarz, Z. K. 1994. Laying hens respond differently to high dietary Levels of phosphorous in monobasic and dibasic calcium phosphate. *Poult. Sci.* 73: 687- 703.
23. Keshavarz, K. 1986. The effect of dietary levels of calcium and phosphorous on performance and retention of these nutrients by laying hens, *Poult. Sci.* 65: 114- 121.
24. Lima, F. R., J. I. M. Fernandes., E. oliveira, C. Fronzaglia, and H, Kahn. 1999. Laboratory evaluation of feed grade and agricultural grade phosphates. *Poult. Sci.* 78: 1717- 1728.
25. Lima, F. R., C.X. Mendonca. J. C. Alvarez, J.M.F. Garzillo, E. Ghion. and P. M. Leal. 1997. Biological evaluations of commercial dicalcium phosphate as sources of available phosphorus for broiler chicks. *Poult. Sci.* 76: 1707- 1713.
26. Major, trace and specific minerals in animal nutrition feed and animal nutrition. International Association of the European (EU) Manufacture of Major, Trace and Specific feed Mineral Marerials(EMFEMA).

27. McDoland, P., R. A. Evards, J. F. D. Greenhatgh and C. A. Morgan. 1996. *Animal Nutrition*. 5th ed., Longman, UK.
28. MaCNab, J. M. and K. B. Boorman. 2002. *Poultry Feedstuffs*. 1<sup>st</sup> ed., CABI International, England.
29. Nelson, T. S., L. K. Kirby and Z. B. Johnson. 1990. The relative biological value of feed phosphates for chicks. *Poult Sci*. 69: 113- 118.
30. NRC. 1994. *Nutrient Research Council*. 9<sup>th</sup> ed., National Academy Press., Washington DC.
31. Pensack, J. M. 1974. Biological availability of commercial feed phosphates. *Poult. Sci*. 53: 143- 148.
32. Peterson, C. F. 1995. Factors influencing egg shell quality. *World's Poult. Sci*. 21:118-138.
33. Potchanakorn, M. and L. M. Potter. 1987. Biological values of phosphorous from various sources for young turkeys. *Poult. Sci*. 66: 505- 513.
34. Rama-Rao, S. V. and V. Rama subba-Reddy. 2001. Utilization of different phosphorous sources in relation to their fluorine content for broilers and layers. *Br.Poult. Sci*. 42:376-383.
35. Rossi, A. F., R. D. Miles and R. H. Harms. 1990. Research note: influence of aluminum on phosphorous availability in laying hen diets. *Poult. Sci*. 69: 2237- 3340.
36. Roush, W. B., M. Mylet, J. L. Rosenberger and J. Derr. 1986. Investigation of calcium and available phosphorous requirements for laying hens by response surface methodology *Poult. Sci*. 65: 964.
37. Said, N. W. and T. W. Sullivan. 1985. A comparison of continuous and phased levels of dietary phosphorous for commercial laying hens. *Poult. Sci*. 64: 1763- 1771.
38. SAS Institute. 1993. *SAS/STATE Users Guide*. version 6.03 SAS Institute INC., Cary, NC.
39. Scott, M. L., M.C.Nesheim and R.J.Young. 1982. *Nutrition of The Chicken*, 3<sup>rd</sup> ed., M. L. Scott. Associates Publishers, W.F.Humphrey Press Inc., Geneva, NY.
40. Sell, J. L., S. E. Sheideler and B. E. Rohn. 1987. Influence of different phosphorous phase feeding programs and dietary calcium levels on performance and body phosphorous of laying hens. *Poult. Sci*. 66: 1524- 1530.
41. Sheila, E. and L. S. Jerry. 1986. Effects of calcium and phase- feeding phosphorous on production traits and phosphorous retention in two strains of laying hens. *Poult. Sci*. 65: 2110 – 2119.
42. Sullivan, T. W. J. H. Douglas, N. J. Gonzales and P. L. Bond. 1992. Corrolation of biological value of feed phosphate with their solubility in water dilute hydrogen chloride, dilute citric acid and neutral ammonium citrate. *Poult. Sci*. 71: 2065- 2074.
43. Well, R. G. and C. G. Belyarin. 1985. Egg quality- current problemes and recent advances. *Poult. Sci. Symposium*, Volume 20., Hurper Adams, Agricultural College, Buterworth, London.