

Evaluation of the chemical properties and absorption capacity of different manganese sources using Everted Gut Sacs technique and their effects on the performance and immune response of broiler chickens

Farogh Kargar¹, Hassan Kermanshahi^{2*}, Ali Javadmanesh³, Reza Majidzade Heravi³

1-Phd Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2-Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3-Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

hassbird@yahoo.com

<https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.84906.1177>

Introduction: Manganese is an essential trace element that is an activating component of many essential enzymes such as alginase and pyruvate carboxylase. This is involved in carbohydrate, lipid and protein metabolism, vital biochemical reactions (Hassan *et al.*, 2020) and cofactor in the synthesis of chondroitin sulfate. As cofactor plays a role to bone formation in broiler chickens (Mwangi *et al.*, 2019). Also, manganese plays a vital role in the antioxidant and immune system of animals (Patra and Lalhriatpuii, 2020; Wang *et al.*, 2018). In the production of broiler chickens, manganese sources commonly used include inorganic Mn (Mn sulfate, Mn carbonate and Mn oxide) and organic Mn (Mn chelated with amino acid and protein). Inorganic sources of manganese are cheaper, although they have low digestibility (Tufarelli and Laudadio, 2017; Yenice *et al.*, 2015). Organic sources have excellent chemical stability and high absorption efficiency. They have not been widely used in poultry diet due to different quality levels of manufactured products, unpredictable effects and high cost (Tufarelli and Laudadio, 2017; Brooks *et al.*, 2012). Therefore, it is important to assess new sources of manganese that have higher digestibility and lower cost. Manganese hydroxychloride is a group of minerals which solubility in water is minimal, but it becomes more soluble in acidic conditions in intestine (Wang *et al.*, 2011). The purpose of this experiment was to investigate the different levels and sources of manganese in the diet of broiler chickens by investigating their effects on growth performance, immunity, the digestibility of different sources in different solvents, and the digestibility using the technique of Everted Gut Sacs.

Materials and Methods: Manganese sulfate, organic manganese, and manganese Hydroxychloride were obtained from Ariana Company. In order to measurement of the amount of dry matter and ash, one gram in four repetitions was sampled from each of the sources. They were dried at 105°C for 12 hours and dry matter was calculated through subtraction. Then samples were transferred to the oven at 550°C for 16 hours and their ash content was determined. Finally, they were digested in hydrochloric acid and passed through Whatman filter paper No. 42. After making up to volume with mili-Q water, they were read by an atomic absorption device at a wavelength of 520 to 560 nm (AOAC, 1995; Williams, 1972). In order to evaluate the solubility, three samples (0.1 gr) were prepared and dissolved in 100 ml of 2% citric acid, 0.4% hydrochloric acid and deionized water (Watson *et al.*, 1970). For assessment ability to absorb minerals by the technique of Everted Gut Sacs, 180 one-day-old broilers of the Ross 308 commercial strain were fed from one to twenty-one days old with corn and soybean based (2018). On the 22nd day to the 28th day, they were fed with a diet free of manganese and on 29th day, they were starved for one day and night. Chickens were grouped into three treatments with Hydroxychloride, organic and manganese sulfate sources with 6 replications and 10 pieces per replication. Three parts were selected from each replication for the test steps (Feng *et al.*, 2006). Samples prepared from jejunum and ileum in two buffers, Mis-Krebs and Tris-Krebs. In order to determine the relative

bioavailability of different manganese sources, an experiment was conducted with 12 treatments included four different levels of manganese (35, 70, 105 and 140 mg/kg) with three different sources including Hydroxychloride, organic and sulfate.

Results and discussion: The highest amount of dry matter of manganese was related to manganese sulfate (99.23%). The lowest was manganese hydroxychloride (92.58%). The highest ash percentage was related to manganese hydroxychloride with 86.14% and the lowest was related to organic manganese with 21.56%. The amount of manganese calculated after testing organic sources, hydroxychloride and sulfate was 5.64, 34.64 and 34.47% respectively. The organic form of manganese had the highest solubility in 2% citric acid and the lowest in deionized water with 96.12 and 34.14%, respectively. Manganese hydroxychloride also had the highest solubility in 2% citric acid solution. Manganese sulfate had the highest solubility in hydrochloric acid and the lowest solubility in deionized water. In general, manganese sulfate had the highest solubility in deionized water compared to the other two sources. Also, the highest solubility of organic manganese in 2% citric acid was 96.12% in the whole experiment. It has been reported in studies that binding minerals with proteins will be a weak chelate and when they are placed in solvents, their chelate breaks easily and dissolve (Cao *et al.*, 2000). The results related to performance traits and primary and secondary response of antibody titer against sheep red blood cells (SRBC) showed that experimental treatments had no significant effect on them.

Conclusion: The results showed that the highest solubility of the organic form of manganese in citric acid and the lowest in deionized water with 96.12 and 34.13 receptivity. The source of manganese hydroxychloride had the highest solubility in 2% citric acid and manganese sulfate had the highest solubility in 0.4% hydrochloric acid. In general, the highest solubility of manganese was in hydrochloric acid and the lowest in deionized water. The results of the technique of inverted intestinal segments showed that the most absorption of manganese occurs in the ileum, and these results were in line with the results of other researchers who had performed this experiment in vitro and *in vivo*. Among the experimental treatments, the highest absorption in the technique of inverted intestinal segments was related to the organic source of manganese, and the lowest was related to the form of sulfate, 3.25% and 1.99%, respectively. At the end, the use of organic manganese in broiler diet is recommended due to its high absorption level.

Keywords: Chemical properties, Bioavailability, Everted Gut Sacs, Performance traits, Broiler chicken

ارزیابی خصوصیات شیمیایی و قابلیت جذب منابع مختلف منگنز با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده و بررسی اثر سطوح و منابع مختلف منگنز بر عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه های گوشتی

فاروق کارگر^۱، حسن کرمانشاهی^{۲*}، علی جوادمنش^۳، رضا مجیدزاده هروی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۲۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۰/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۵

۱- دانشجوی دکترا، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

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

چکیده

آزمایشی با هدف تخمین زیست فرآهمی و ارزیابی خصوصیات شیمیایی منابع آلی و معدنی منگنز شامل منگنز آلی، هیدروکسی کلراید منگنز و سولفات منگنز در **جوجه‌های** گوشتی با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده اجرا شد. در ابتدا به منظور ارزیابی حلالیت و خصوصیات شیمیایی منابع منگنز در **حلال‌های** مختلف، از هر کدام از نمونه‌ها 0.1 گرم با 3 تکرار نمونه برداری شد. در ادامه به منظور تعیین قابلیت جذب منابع منگنز از تکنیک قطعات وارونه روده استفاده شد. به این منظور از جوجه خروس های 29 روزه که به مدت یک هفته (29-23 روزگی) از جیره فاقد مکمل منگنز تغذیه شده بودند استفاده شد و **بعد از کشتار از ژژنوم و ایلئوم آنها نمونه برداری** شد. در ادامه به منظور بررسی اثر سطوح و منابع مختلف منگنز بر صفات عملکردی و ایمنی جوجه های گوشتی از 600 قطعه جوجه خروس راس 308 در 12 تیمار شامل چهار سطح (35، 70، 105 و 140 میلی گرم بر کیلوگرم) و سه منبع (هیدروکسی کلراید، آلی و سولفات) منگنز استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین حلالیت را منگنز آلی در سیتربیک اسید 2 درصد (96.12 درصد) داشت و کمترین حلالیت منابع منگنز در آب دیونیزه بود. منبع هیدروکسی کلراید بیشترین حلالیت خود را در سیتربیک اسید 2 درصد با 83.02 درصد نشان داد. همچنین بیشترین ابقای منگنز در ایلئوم (3.25 درصد) بود. **منگنز آلی با ۳,۲۵ درصد به طور معنی داری قابلیت جذب بالاتری نسبت به منابع سولفات (1.99 درصد) و هیدروکسی کلراید (2.30 درصد) داشت.** منابع منگنز اثر معنی داری بر صفات عملکردی نداشتند. ضریب تبدیل غذایی در سن 11-23 روزگی در تیمار دارای 35 میلی گرم بر کیلوگرم منبع هیدروکسی کلراید به طور معنی داری افزایش یافت. در خصوص ایمنی، تیمارهای آزمایشی اثر معنی داری بر پاسخ اولیه و ثانویه نداشتند. بنابراین، استفاده از منگنز آلی بدلیل ارزش جذب بالاتر توصیه می شود.

کلمات کلیدی: منگنز آلی، زیست فرآهمی، تکنیک قطعات وارونه روده، صفات عملکردی، جوجه گوشتی

مقدمه

منگنز به عنوان یک عنصر کمیاب ضروری، بعنوان کوآنزیم یا در ساختار بسیاری از آنزیم های ضروری مانند آرژیناز، پیرووات کربوکسیلاز، هیدرولازها و غیره است که در متابولیسم کربوهیدرات، لیپید و پروتئین و بسیاری از واکنش های

بیوشیمیایی حیاتی نقش دارد (Spears, 2019; Hassan *et al.*, 2020). همچنین یک کوفاکتور ضروری در سنتز کوندریوتین سولفات است که ارتباط نزدیکی با استخوان سازی جوجه های گوشتی دارد (Mwangi *et al.*, 2019). از سوی دیگر، منگنز نقش حیاتی در سیستم آنتی اکسیدانی و ایمنی حیوانات دارد (Patra and Lalhriatpui, 2020; Wang *et al.*, 2018; Pan *et al.*, 2018). میزان مصرف منگنز توسط شورای تحقیقات ملی (NRC, 1994) در جیره جوجه های گوشتی حداقل 60 میلی گرم بر کیلوگرم توصیه می شود. با این حال، محتوای منگنز فقط در حدود 30 میلی گرم بر کیلوگرم در جیره غذایی می باشد که عمدتاً از ذرت و کنجاله سویا تامین می شود و میزان منگنز در دسترس و قابل ابقای آن بسیار پایین است (Halpin *et al.*, 1986). به منظور تامین نیاز منگنز در پرورش جوجه های گوشتی، معمولاً افزودنی های منابع منگنز به جیره جوجه های گوشتی اضافه می شود. در حال حاضر، منابع منگنز که معمولاً در جیره جوجه های گوشتی استفاده می شود، شامل منگنز معدنی (مانند سولفات منگنز، کربنات منگنز و اکسید منگنز) و منگنز آلی (مانند منگنز کلات شده با اسید آمینه و پروتئین) است. منابع غیر آلی منگنز قابلیت هضم نسبتاً پایینی دارند، اگرچه ارزان تر هستند (Tufarelli and Laudadio, 2017; Yenice *et al.*, 2015). منابع آلی منگنز پایداری شیمیایی مناسب و راندمان جذب بالایی از خود نشان داده اند، اما به دلیل کیفیت های مختلف محصولات تولیدی، اثرات غیر قابل پیش بینی و گران قیمت بودن، به طور گسترده در تولید استفاده نشده اند (Tufarelli and Laudadio, 2017; Wang *et al.*, 2012; Brooks *et al.*, 2012). بنابراین، توسعه منابع جدید منگنز با قابلیت هضم بهتر و هزینه نسبتاً کم بسیار مهم است. هیدروکسی کلرید منگنز (MHC)، همچنین به عنوان کلرید منگنز پایه یا کلرید منگنز سه ظرفیتی شناخته می شود، یک دسته از مواد معدنی هیدروکسی است. حالیت آن در آب حداقل است، اما در شرایط اسیدی در روده محلول تر می شود (Wang *et al.*, 2011). هیدروکسی کلراید منگنز حاوی پیوندهای کووالانسی قوی است که شبیه به مواد معدنی آلی است و ساختار کریستالی خاصی دارد که ممکن است برای ثبات در جیره غذایی و جذب بهتر در روده مفید باشد. هیدروکسی کلراید منگنز به عنوان یک افزودنی خوراک توسط سازمان ایمنی غذای اروپا (EFSA, 2016) تایید شده است. مطالعات قبلی نشان داد که هیدروکسی کلراید منگنز می تواند سطح زرده و منگنز پوسته تخم مرغ های مرغ های تخم گذار را افزایش دهد و ضریب تبدیل خوراک جوجه های گوشتی را بهبود بخشد (Jasek *et al.*, 2019; Jasek *et al.*, 2020). در مطالعه ای که روی خوک ها انجام شد همچنین نشان داده شده است که گنجاندن هیدروکسی کلراید منگنز در جیره غذایی باعث بهبود سرعت رشد و مصرف خوراک در مقایسه با سولفات منگنز می شود (Kerkaert *et al.*, 2020). با این حال، اطلاعات محدودی در مورد سطح افزودن مناسب هیدروکسی کلراید منگنز و منگنز آلی در جوجه های گوشتی وجود دارد و اثر نسبی آن در مقایسه با منگنز غیر آلی گزارش نشده است. بنابراین، هدف اصلی این مطالعه بررسی قابلیت هضم با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده و همچنین بررسی منابع و سطوح مناسب منگنز در جیره جوجه های گوشتی با بررسی اثرات آنها بر عملکرد رشد و ایمنی، قابلیت هضم منابع مختلف در حلال های متفاوت بود.

مواد و روش ها

کلید مراحل انجام این مطالعه در مزرعه تحقیقاتی و مجموعه آزمایشگاههای دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

تعیین ترکیبات شیمیایی و حالیت منابع مختلف منگنز استفاده شده در آزمایش

منابع منگنز مورد استفاده در این آزمایش شامل **سولفات منگنز، منگنز آلی و هیدروکسی کلراید منگنز** بود که از شرکت دانش بنیان توسعه مکمل زیست فناوری آریانا تهیه گردید.

۱- تعیین ترکیبات شیمیایی

به منظور اندازه گیری مقدار ماده خشک و خاکستر از هر کدام از منابع مورد استفاده یک گرم در چهار تکرار نمونه برداری شد و سپس در ابتدا در دمای 105 درجه سانتی گراد به مدت 12 ساعت خشک گردید و میزان ماده خشک از تفاضل اعداد بدست آمده محاسبه گردید. و سپس نمونه ها به داخل کوره با دمای 550 درجه سانتی گراد به مدت 16 ساعت منتقل شد و میزان خاکستر آنها نیز تعیین گردید و در انتها به منظور اندازه گیری مقدار منگنز نمونه ها در هیدروکلریک اسید حل شدند و از کاغذ صافی بدون خاکستر واتمن شماره 42 عبور داده شد بعد از رساندن به حجم با آب مقطر دوبار تقطیر در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد با استفاده از دستگاه جذب اتمی شیماتزو در طول موج 520 تا 560 نانومتر قرائت شد (AOAC,1995; Williams, 1972).

۲- بررسی حالیت منابع سولفات، آلی و هیدروکسی کلراید منگنز در اسید سیتریک، اسید کلریدریک و آب دوبار تقطیر

انجام این آزمایش با استفاده از دستورالعمل **واتسون و همکاران** بود (Watson *et al.*, 1970). برای انجام این آزمایش ابتدا از هر کدام از منابع، **سه نمونه 0.1 گرمی** توزین شد و در 100 میلی لیتر اسید سیتریک 2 درصد و اسید هیدروکلریک 0.4 درصد حل شد. به مدت یک ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوباسیون صورت گرفت سپس با استفاده از کاغذ واتمن شماره 42 بدون خاکستر صاف گردید. به منظور رقیق سازی با استفاده از آب دوبار تقطیر به حجم 100 میلی لیتر رسید و با استفاده از دستگاه جذب اتمی میزان منگنز آن قرائت گردید. میزان منگنز محلول و نامحلول در آب دیونیزه نیز از روش لیچ و پاتون تعیین گردید (Leach and Patton, 1997). **بدین منظور ابتدا از هر کدام از منابع 4 نمونه 0.5 گرمی درون بالن ژوژه 250 میلی لیتری ریخته شد** و به آن 150 میلی لیتر آب دیونیزه اضافه شد و به مدت نیم ساعت در دمای 25 درجه در بن ماری شیک شد و سپس از کاغذ صافی شماره 42 بدون خاکستر عبور داده شد و به حجم 200 میلی لیتر با استفاده از آب دیونیزه رسید و در دستگاه جذب اتمی در طول موج 520-560 نانومتر قرائت شد. کاغذ واتمن بدست آمده نیز به درون کوره با دمای 550 درجه به مدت 16 ساعت منتقل گردید. پس از بدست آمدن خاکستر به آن 5 میلی لیتر هیدروکلریک اسید اضافه شد و میزان منگنز نامحلول با استفاده از دستگاه جذب اتمی قرائت گردید. از اعداد بدست آمده (غلظت منگنز در نمونه اولیه، نمونه فیلتر شده و مقدار باقی ماده روی کاغذ صافی) میزان حالیت منگنز در آب دیونیزه نیز محاسبه گردید.

تعیین قابلیت جذب اشکال مختلف مواد معدنی با استفاده از تکنیک قطعات وارونه روده (Everted Gut Sacs)

180 قطعه جوجه خروس یک روزه سویه تجاری راس 308 از یک روزگی تا بیست و یک روزگی با جیره بر پایه ذرت و سویا و براساس احتیاجات توصیه شده راس 308 (2018) تغذیه شدند. در روز بیست و دوم تا روز بیست و هشتم جیره ای عاری از منگنز به آنها داده شد. سپس در روز بیست و نهم به مدت یک شبانه روز به آنها گرسنگی جهت خالی کردن دستگاه گوارش داده شد. جوجه ها به سه تیمار با منابع هیدروکسی کلراید، آلی و سولفات منگنز با 6 تکرار و 10 قطعه

در هر تکرار دسته بندی شدند. سپس از هر تکرار 3 قطعه بصورت تصادفی انتخاب شد و مراحل زیر انجام گردید. (Feng et al., 2006).

- ۱- ضدعفونی کردن تمامی وسایل استفاده شده در طی انجام آزمایش با آب دوبار تقطیر و اسید نیتریک
 - ۲- بیهوش کردن کامل پرنده با استفاده از تزریق 1-1.5 میلی لیتر کتامین از طریق ورید بال
 - ۳- خارج کردن دستگاه گوارش
 - ۴- استخراج و جداسازی روده پرنده و شستشوی آن با آب دوبار تقطیر با دمای 39-40 درجه
 - ۵- جدا سازی 10 سانتی متر از هر کدام از قسمت های ایلئوم و ژژنوم و وارونه کردن آن با استفاده از میله ای پلاستیکی
 - ۶- شستشوی دوباره قطعات وارونه شده با سرم فیزیولوژیک با دمای 39-40 درجه
 - ۷- وزن کردن قطعات بخش های مختلف جدا شده با ترازوی حساس با دقت 0.001 گرم
 - ۸- بستن یک طرف قطعات جدا شده از نقاط مختلف روده و پر کردن آن با بافر میس-کربس بدون عنصر منگنز با اسیدیتته 6 برای ژژنوم و بافر تریس-کربس با اسیدیتته 7 برای ایلئوم به میزان دو میلی لیتر برای هر کدام و بستن طرف دیگر آن با نخ کتان.
 - ۹- پر کردن ظروف کوچک کد گذاری شده از بافر میس-کربس (اسیدیتته 6 جهت قرار دادن ژژنوم) که در آن 100 میلی گرم از منابع مختلف منگنز (آلی، سولفات و هیدروکسی کلراید) حل شده باشد و همچنین آماده سازی بافر تریس-کربس (اسیدیتته 7 برای ایلئوم) که در آن 100 میلی گرم منگنز با منابع مختلف (آلی، سولفات و هیدروکسی کلراید) حل شده بود.
 - ۱۰- انکوباسیون ظروف در بن ماری شیکر دار در دمای 40 درجه به مدت 45 دقیقه با میزان 90 حرکت در دقیقه.
 - ۱۱- تخلیه کامل قطعات مختلف درون ظروف کوچک شیشه ای و کد گذاری آنها و نگهداری در دمای منفی 20 درجه تا زمان آنالیز
 - ۱۲- تعیین غلظت عنصر منگنز در مایعات سروزی موجود در شیشه با استفاده از دستگاه جذب اتمی شیماتزو در طول موج 520 تا 560 نانومتر (Williams, 1972).
- سپس با استفاده از فرمول های مناسب ریاضی درصد جذب هر کدام از منابع منگنز در ایلئوم و ژژنوم مورد ارزیابی قرار گرفت.

تعیین زیست فراهمی نسبی اشکال مختلف مواد معدنی با سطوح مختلف با استفاده از آزمایش رشد

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 12 تیمار که شامل چهار سطح متفاوت از منگنز (35، 70، 105 و 140 میلی گرم بر کیلوگرم) با سه منبع مختلف (هیدروکسی کلراید، آلی و سولفات) انجام شد (جدول 2 تیمارهای آزمایشی). آزمایش دارای 5 تکرار و 10 قطعه جوجه گوشتی در هر تکرار بود که بطور کلی 600 قطعه جوجه خروس راس 308 در این آزمایش قرار گرفت. جیره ها بصورت آردی تهیه شد و جوجه ها در کل دوره آزمایش دسترسی آزاد به آب و خوراک را خواهند داشت. جیره های آزمایشی بر اساس احتیاجات جوجه گوشتی راس 308 (2018) در سه دوره ابتدایی، رشد و پایانی تنظیم شد. میزان غلظت منگنز هر کدام از جیره ها قبل و بعد از افزودن سطوح مختلف این عنصر اندازه گیری شد و در جدول 3 نشان داده شده است.

جدول (1) - اجزای تشکیل دهنده و ترکیب مواد مغذی جیره پایه جوجه های گوشتی (1-37 روزگی)

Table 1- The ingredient and nutrient composition of basal diet to broiler chickens (1-37 days)

اقلام خوراکی (درصد) Ingredients (Percentage)	آغازین 1-10 روزگی Starter 1-10 days	رشد 11-24 روزگی Grower 11-24 days	پایانی 25-37 روزگی Finisher 25-37 days
ذرت Corn	53.20	55.88	57.25
(پروتئین خام 44%) کنجاله سویا Soybean meal (CP 44%)	38.41	34.90	33.31
گندم Wheat	2.02	2.02	2.02
روغن آفتابگردان Vegetable oil	2.08	3.60	4.10
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.30	1.10	1.04
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	1.65	1.40	1.31
نمک طعام Common salt	0.42	0.42	0.40
DL-متیونین DL-Methionine	0.15	0.10	0.07
L-لایزین L-lysine	0.21	0.08	0.00
ترئونین Threonine	0.06	0.00	0.00
مکمل ویتامینه ¹ Vitamin- premix	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی بدون منگنز ² Mineral- Premix without manganese	0.25	0.25	0.25
ترکیبات شیمیایی جیره Chemical compounds of the diet			
انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری بر کیلوگرم) ME, kcal/kg	2850	2970	3020
پروتئین خام (درصد) CP, %	22.1	20.7	19.8
کلسیم Ca%	1.00	0.85	0.80
فسفر قابل دسترس Available P, %	0.47	0.42	0.39
لایزین قابل هضم (درصد) Digestible Lys %	1.35	1.17	1.03
متیونین قابل هضم (درصد) Digestible Met%	0.48	0.42	0.39
متیونین + سیستین قابل هضم (درصد) Digestible Met + Cys, %	1.01	0.90	0.81

ترئونین قابل هضم (درصد)

0.89

0.78

0.70

Digestible Thr%

¹ هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل: 11025 واحد بین المللی ویتامین A، 3528 واحد بین المللی ویتامین D₃، 33 واحد بین المللی ویتامین E، 0.91 میلی گرم ویتامین K₃، 0.18 گرم ویتامین B₁، 0.825 گرم ویتامین B₂، 1 گرم ویتامین B₃، 3 گرم ویتامین B₅، 0.3 گرم ویتامین B₆، 0.125 گرم ویتامین B₉، 0.15 گرم ویتامین B₁₂ و 50 گرم کولین کلراید است.

² هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل: 50 گرم آهن، 11 گرم روی، 6 گرم مس، 1 گرم ید و 0.2 گرم سلنیوم و بدون منگنز بود.

¹Vitamin permix Supplied the following, per kilogram of diet: vitamin A, 11025 IU; vitamin D₃, 3528 IU; vitamin E, 33 mg; vitamin K₃, 0.91 mg; Vitamin B₁, 0.18 g; Vitamin B₂, 0.825 g; Vitamin B₃, 1.00g; Vitamin B₅, 3.00g; Vitamin B₆, 0.30g; Vitamin B₉, 0.125g; Vitamin B₁₂, 0.15g; choline chloride, 50g;

²Mineral permix Supplied the following per kilogram of diet: Fe (Fe-sulfate), 50g; Zn(Zn-sulfate), 11g; 110 mg; Cu (Cu-sulfate), 6g; I (calcium iodate), 1g; Se (Sodium selenite), 0.2 g.without Mn.

جدول (2) ترتیب تیمارهای آزمایشی

Table 2- The order of the experimental treatments

تیمار treatment	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
منبع source	منگنز آلی Organic manganese				هیدروکسی کلراید منگنز Manganese Hydroxychloride				سولفات منگنز Manganese sulfate			
میلی گرم بر کیلوگرم mg/kg	35	70	105	140	35	70	105	140	35	70	105	140

جدول (3) میزان منگنز اضافه شده و آنالیز شده در جیره های ابتدایی، رشد و پایانی

Table (3) the amount of manganese added and analyzed in the starter, grower and finisher diets.

منابع منگنز Source Manganese	اضافه شده added	ابتدایی Starter	رشد grower	پایانی Finisher
		آنالیز شده analyzed	آنالیز شده analyzed	آنالیز شده Analyzed
منگنز آلی Organic manganese	35	59.14	58.63	58.91
	70	82.43	80.14	78.69
	105	124.72	123.68	116.38
	140	153.66	150.29	149.62
هیدروکسی کلراید منگنز Manganese Hydroxychloride	35	48.41	47.58	48.96
	70	78.63	79.36	83.15
	105	119.16	121.20	120.28
	140	148.36	147.92	151.28
سولفات منگنز Manganese sulfate	35	37.65	39.63	38.91
	70	79.61	81.21	80.28
	105	121.13	118.63	120.25
	140	147.71	151.27	150.28

صفات عملکردی

افزایش وزن روزانه، میزان خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در دوره های سنی 10-1 روزگی، 23-11 روزگی و 37-24 روزگی با استفاده از رکورد برداری های انجام شده هر پن به کمک ترازوی دیجیتال با دقت یک گرم در پایان هر دوره محاسبه گردید.

سنجش سیستم ایمنی

از روش سنجش مستقیم هموآگلوتیناسیون، برای اندازه گرفتن پاسخ ایمنی (یعنی آنتی بادی تولید شده) بر علیه گلبول های قرمز گوسفندی (SRBC) استفاده گردید (Van and Leenstra, 1980). بدین منظور از یک گوسفند سالم خون تهیه گردید و پس از سانتریفیوژ کردن آن و شستشوی گلبول های قرمز با بافر سالین فسفات، گلبولهای قرمز حاصله با استفاده از بافر سالین فسفات به نسبت 5 درصد رقیق شد. در سن 22 روزگی از هر تکرار دو پرند انتخاب شد و مقدار 0.5 میلی لیتر سوسپانسیون SRBC به سینه آن تزریق شد و در سن 29 روزگی پس از 7 روز اولین خونگیری انجام شد و مجدداً 0.5 میلی لیتر سوسپانسیون SRBC به سینه مرغ ها تزریق شد و نهایتاً در 37 روزگی خونگیری نهایی صورت گرفت. خون های جمع آوری شده پس از سانتریفیوژ و جدا سازی سرم برای تعیین ایمونوگلوبولین های M و G و کل به آزمایشگاه منتقل گردید. (Allahdo *et al.*, 2018).

نتایج و بحث

ارزیابی ویژگی های شیمیایی مواد مورد آزمایش می تواند کمک بسیاری در زمینه پیش بینی ارزش بیولوژیک مواد معدنی مختلف داشته باشد. درصد ماده خشک، درصد خاکستر و درصد منگنز منابع آلی، سولفات و هیدروکسی کلراید منگنز در جدول چهار گزارش شده است. بیشترین مقدار ماده خشک منگنز مربوط به سولفات منگنز (99.23 درصد) و کمترین مربوط به هیدروکسی کلراید منگنز (92.58 درصد) بود. همچنین بیشترین درصد خاکستر مربوط به هیدروکسی کلراید منگنز با 86.14 درصد و کمترین مربوط به منگنز آلی با 21.56 درصد بود. میزان منگنز محاسبه شده پس از آزمایش هر کدام از منابع آلی، هیدروکسی کلراید و سولفات به ترتیب برابر با 5.64، 34.64 و 34.47 درصد بود.

جدول (4) ترکیبات شیمیایی منابع مختلف منگنز

Table (4) chemical compositions of different manganese sources

	منگنز آلی Organic manganese	هیدروکسی کلراید منگنز Manganese Hydroxychloride	سولفات منگنز Manganese sulfate
ماده خشک Dry matter	95.06	92.58	99.23
خاکستر Ash	21.56	86.14	82.88
درصد منگنز Manganese percentage	5.64	34.63	34.47

بررسی حلالیت مواد معدنی در حلال های مختلف یک روش مناسب آزمایشگاهی برای پیش بینی زیست فرآهمی این منابع در بدن حیوانات است و بر اساس حلالیت نسبی نیز زیست فرآهمی نسبی منابع منگنز قابل پیش بینی است (Ledoux *et al.*, 1991). درصد حلالیت هر کدام از منابع مختلف منگنز در حلال های مختلف (آب دیونیزه، سیتریک اسید ۲ درصد و هیدروکلریک اسید 0.4 درصد) در جدول 5 نشان داده شده است. شکل آلی منگنز بیشترین حلالیت را

در سیتریک اسید ۲ درصد و کمترین را در آب دیونیزه به ترتیب با 96.12 و 34.14 درصد داشت. هیدروکسی کلراید منگنز نیز بیشترین حلالیت را در محلول 2 درصد سیتریک اسید داشت اما سولفات منگنز بیشترین حلالیت را در هیدروکلریک اسید داشت و کمترین آن نیز در آب دیونیزه بود. بطور کلی سولفات منگنز بیشترین حلالیت را در آب دیونیزه نسبت به دو منبع دیگر داشت. همچنین بیشترین حلالیت در کل آزمایش مربوط به منگنز آلی در سیتریک اسید 2 درصد با 96.12 درصد بود. در مطالعات گزارش شده است که باند شدن مواد معدنی با پروتئین ها، کلات ضعیفی خواهد بود و زمانی که در حلال ها قرار میگیرند به راحتی کلات آنها میشکند و در حلال حل می شوند (Cao et al., 2000). در مطالعه ای که بلک و همکاران انجام دادند نشان دادند که بین حلالیت مواد معدنی و زیست فرآهمی آنها در جوجه ها و گوسفند ها رابطه وجود دارد (Black et al., 1984) اما در مطالعه حاضر هیچگونه ارتباطی مابین حلالیت منبع منگنز و زیست فرآهمی آن مشاهده نشد. در خصوص منابع آلی، حلالیت تابعی از نوع باندهای تشکیل شده است بنابراین نتایج حلالیت میتواند گمراه کننده باشد (Li et al., 2011).

جدول (5) درصد حلالیت منابع مختلف منگنز در آب دیونیزه، سیتریک اسید (2 درصد) و هیدرو کلریک اسید (0.4 درصد)
Table (5) Solubility of different sources of manganese in deionized water, 2% citric acid and 0.4% hydrochloric acid

	هیدروکلریک اسید 0.4 درصد 0.4% hydrochloric acid	سیتریک اسید 2 درصد 2% citric acid	آب دیونیزه deionized water
منگنز آلی Organic manganese	85.82	96.12	34.13
هیدروکسی کلراید منگنز Manganese Hydroxychloride	64.35	83.02	34.07
سولفات منگنز Manganese sulfate	82.46	74.99	39.31

نتایج حاصل از تکنیک قطعات وارونه روده در جدول 6 گزارش شده است. نتایج نشان داد که بیشترین جذب منگنز در ایلئوم اتفاق می افتد و این نتایج همسو با نتایج سایر محققان بود که در شرایط برون تنی و درون تنی این آزمایش را انجام داده بودند (Ji et al. 2006a; Ji et al. 2006b; Bai et al. 2008). در مطالعه ای که مشتاقی و همکاران در سال 2006 بر روی موش ها انجام دادند گزارش دادند که بیشترین جذب منگنز در دوازدهه اتفاق می افتد آنها گزارش کردند که جذب منگنز در دوازدهه موش ها به ترتیب 12 و 14 درصد بیشتر از ژژنوم و ایلئوم است (Moshtaghie et al., 2006). تفاوت بین گزارش های تحقیقاتی را می توان به دلیل سن حیوانات مورد استفاده، نوع، سویه و طول دوره آزمایش ارتباط داد. به نظر می رسد که محل اصلی جذب مواد معدنی ایلئوم باشد. در مطالعه ای که یو و همکاران در سال 2008 انجام دادند نشان دادند که جذب روی توسط ایلئوم 1 تا 5 برابر بیشتر از جذب آن در دئودنوم و ژژنوم است (Yu et al., 2008). در مطالعه حاضر نتایج نشان داد که قابلیت جذب منابع مختلف منگنز در ژژنوم معنی دار نبود اما در ایلئوم معنی دار بود. به طوری که بیشترین قابلیت جذب مربوط به منبع آلی منگنز بود که اختلاف معنی داری با دو منبع هیدروکسی کلراید و سولفات داشت و اختلاف معنی داری بین قابلیت جذب منگنز در دو منبع هیدروکسی کلراید و سولفات وجود نداشت. جی و همکاران گزارش کردند که منابع آلی منگنز (متیونین-منگنز و آمینو اسید-منگنز) قابلیت جذب بالاتری از منبع غیر آلی در سه قسمت روده جوجه های گوشتی داراست (Ji et al., 2006b). مطالعات متعددی نشان داده اند که مواد معدنی به شکل آلی که با اسیدهای آمینه، پپتید ها و پروتئین ها پیوند تشکیل داده اند قابلیت

هضم بالاتری نسبت به اشکال معدنی دارند (Li *et al.*, 2005) زیرا کیلات تشکیل شده آنها مانع از تشکیل کمپلکس های نامحلول مواد معدنی با سایر عناصر میکرو میگردد (Nollet *et al.*, 2007; Rubio Zapata., 2016).

جدول (6) درصد جذب منابع مختلف منگنز در ژژنوم و ایلئوم در جوجه های گوشتی 29 روزه با استفاده از قطعات وارونه روده مدت 45 دقیقه
Table (6) Uptake percentage (%) of Mn as each source in the Everted sacs of jejunum and ileum of broilers at 29 days of age in 45 minutes

	ایلئوم (درصد) Ileum %	ژژنوم (درصد) Jejunum %
منگنز آلی Organic manganese	3.25 ^a	0.702
هیدروکسی کلراید Manganese Hydroxychloride	2.30 ^b	0.665
سولفات Manganese sulfate	1.99 ^b	0.560
SEM	0.1514	0.0526
P.Value	0.0001	0.1754

^{a-b} میانگین هایی با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی دار در سطح 5 درصد هستند.

^{a-b} Means within a row with different superscripts are significantly different at the p-value indicated for ANOVA.

در جدول 7 اثر منابع و سطوح مختلف عنصر منگنز بر صفات عملکردی در سنین مختلف جوجه های گوشتی سویه راس 308 نشان داده شده است. میزان مصرف خوراک روزانه و افزایش وزن روزانه در هیچکدام از بازه های زمانی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. ضریب تبدیل غذایی در سن 11-23 روزگی در گروه تغذیه شده با 35 میلی گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع هیدروکسی کلراید بطور معنی داری افزایش یافت. در سنین دیگر، اثر معنی داری از ضریب تبدیل غذایی مشاهده نشد. گزارش های مربوط به اثرات منگنز بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی متناقض است. بسیاری از مطالعات نشان داده اند که مکمل های غذایی با اشکال مختلف منگنز مانند منگنز پروپیونات (Brooks *et al.*, 2012) منگنز کلات شده با پروتئین (Li *et al.*, 2004)، اکسید منگنز (Olgun, 2017)، سولفات منگنز (Lu *et al.*, 2006)، فومارات منگنز (Berta *et al.*, 2004)، یا کیلات اسید آمینه-منگنز (Pacheco *et al.*, 2017) به طور قابل توجهی بر میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی جوجه های گوشتی تأثیری نداشت. با این حال، منگ و همکاران (Meng *et al.*, 2021) گزارش کردند گنجاندن 50 میلی گرم بر کیلوگرم منگنز در رژیم غذایی به عنوان کیلات آنالوگ متیونین هیدروکسیل منگنز می تواند افزایش وزن روزانه و میزان خوراک مصرفی روزانه جوجه های گوشتی را بهبود بخشد. از طرفی اوگنیک و همکاران گزارش دادند که رژیم غذایی حاوی 50 یا 100 میلی گرم بر کیلوگرم منگنز به شکل نانوذرات اکسید منگنز باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی در بوقلمون ها شد (Ognik *et al.*, 2019). در حال حاضر، مطالعات کمی در مورد اثر هیدروکسی کلراید منگنز بر جوجه های گوشتی انجام شده است که نتایج آن متناقض است. کانلی و همکاران نشان داد که جیره (45 میلی گرم بر کیلوگرم منگنز) همراه با 30 تا 130 میلی

گرم بر کیلوگرم منگنز به شکل گزارش‌های مربوط به اثرات منگنز بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی متناقض بود (Conly *et al.*, 2012). در مطالعه ای که سان و همکاران در سال 2021 انجام دادند نشان دادند که افزودن سطوح مختلف هیدروکسی کلراید منگنز اثر معنی داری بر صفات عملکردی ندارد (Sun *et al.*, 2021).

جدول (7) اثر منابع و سطوح مختلف منگنز بر صفات عملکردی در جوجه های گوشتی سویه راس 308

Table (7) Effect of different sources and levels of manganese on performance traits in Ross 308 broilers

تیمار treatment	مصرف خوراک روزانه Daily Feed Intake				افزایش وزن روزانه Daily Weight Gain				ضریب تبدیل غذایی Feed Conversion Ratio			
	1-10	11-23	24-35	1-35	1-10	11-23	24-35	1-35	1-10	11-23	24-35	1-35
	روزگی starter	روزگی grower	روزگی finisher	روزگی total	روزگی starter	روزگی grower	روزگی finisher	روزگی Total	روزگی starter	روزگی grower	روزگی Finisher	روزگی Total
1	26.07	81.36	132.47	83.62	24.70	48.88	70.60	48.55	1.06	1.66 ^{ab}	1.88	1.73
2	25.95	81.97	142.00	87.88	25.76	48.58	80.50	53.77	1.01	1.69 ^{ab}	1.76	1.63
3	26.29	84.14	139.51	86.96	25.19	52.80	75.59	51.88	1.04	1.59 ^b	1.85	1.68
4	26.41	83.76	133.46	86.61	25.84	50.29	74.33	50.04	1.02	1.67 ^b	1.80	1.73
5	26.47	86.88	132.39	84.79	26.79	45.93	69.77	48.94	0.99	1.89 ^a	1.90	1.73
6	27.80	85.21	137.43	88.14	27.60	52.54	72.58	52.85	1.01	1.62 ^b	1.89	1.67
7	26.89	81.50	137.82	85.34	27.04	50.34	70.66	49.82	0.99	1.62 ^b	1.95	1.71
8	26.94	84.89	135.48	86.97	25.60	46.84	76.37	51.69	1.05	1.81 ^{ab}	1.77	1.68
9	26.17	82.19	139.84	87.92	26.41	46.13	78.07	51.74	0.99	1.78 ^{ab}	1.79	1.70
10	24.99	81.90	134.92	85.76	25.91	47.52	66.03	47.96	0.96	1.72 ^{ab}	2.04	1.79
11	27.80	84.45	133.38	84.52	25.82	47.24	70.58	48.23	1.08	1.79 ^{ab}	1.89	1.75
12	25.21	81.15	131.46	84.83	26.03	49.19	78.03	51.95	0.97	1.65 ^{ab}	1.68	1.63
خطای استاندارد SEM	0.749	1.541	2.830	1.001	0.639	1.645	3.308	1.856	0.015	0.027	0.042	0.027
سطح احتمال معنی داری P-VALUE												
کل total	0.2362	0.1827	0.1765	0.6779	0.2307	0.0559	0.1137	0.3853	0.1545	0.0057	0.1722	0.6345
منبع source	0.1443	0.1090	0.6212	0.8830	0.1870	0.0895	0.4463	0.6855	0.9313	0.0590	0.5988	0.7399
سطح level	0.5048	0.9863	0.2012	0.5729	0.2463	0.1161	0.4561	0.5653	0.0870	0.0461	0.0798	0.7378
سطح*منبع Level*source	0.2435	0.1075	0.1359	0.4282	0.3375	0.1438	0.0480	0.1861	0.1657	0.0195	0.2607	0.3412
خطی linear	0.7632	0.9422	0.4541	0.9251	0.0461	0.1679	0.2702	0.5490	0.0462	0.1117	0.1519	0.4278
درجه دوم quadratic	0.3495	0.8431	0.0473	0.5251	0.7905	0.0445	0.3319	0.8040	0.2910	0.0191	0.0332	0.8580
درجه سوم cubic	0.2444	0.7573	0.7636	0.2121	0.8908	0.9921	0.5070	0.2079	0.2071	0.7614	0.6154	0.4443

^{a-b} میانگین هایی با حروف متفاوت در یک ستون دارای اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد هستند.

تیمار ۴ تا ۱۰: به ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع آلی

تیمار ۵ تا ۸: به ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع هیدروکسی کلراید

تیمار ۹ تا ۱۲: به ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع سولفات

^{a-b} Means within a row with different superscripts are significantly different at the p-value indicated for ANOVA.

Treatments 1 to 4: containing 35, 70, 105 and 140 mg/kg of manganese with an organic source, respectively.

Treatment 5 to 8: including 35, 70, 105 and 140 mg/1 manganese with hydroxy chloride source, respectively.

Treatment 9 to 12: including 35, 70, 105 and 140 mg of manganese oil with sulfate source, respectively.

جدول 8 نشان دهنده اثر تیمارهای آزمایشی بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) است. نتایج نشان داد که منابع مختلف منگنز و سطوح متنوع آن نتوانست اثر معنی داری بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی داشته باشند. در مطالعه ای که ساندر و همکاران (Sunder *et al.*, 2006) انجام دادند اثر سطوح مختلف منگنز را بر پاسخ ایمنی جوجه های گوشتی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که سطوح 10، 40 و 80 میلی گرم بر کیلوگرم منگنز اثر معنی داری بر پاسخ ایمنی هومورال ندارد اما سطوح 160 و 320 میلی گرم بر کیلوگرم در جیره به طور معنی داری باعث کاهش تیتر آنتی بادی در جوجه های گوشتی شد. براساس گزارشات، عملکرد سیستم ایمنی تابعی از اثرات ژنتیک، تغذیه و محیط است که بر همین اساس تغییر در هر کدام از آنها میتواند بر فیزیولوژی و سیستم ایمنی اثر گذار باشد. عدم تعادل در مواد مغذی و یا انحرافات شدید در تغذیه می تواند ایمنی حیوان را مختل کند.

جدول (8) تاثیر منابع و سطوح مختلف منگنز بر پاسخ اولیه و ثانویه تیتر آنتی بادی علیه گلبول‌های قرمز گوسفندی (SRBC) جوجه های گوشتی (سن 29 و 35 روزگی)

Table (8) The effect of different sources and levels of manganese on the primary and secondary response of antibody titers against sheep red blood cells (SRBC) of broilers (29 and 35 days age)

تیمار treatment	تزریق اول First injection (mg/dl)			تزریق دوم Second injection (mg/dl)		
	IgM1	IgG1	Total Ig1	IgM2	IgG2	Total Ig2
1	3.6	3.4	7.0	3.4	3.6	7.0
2	3.2	4.0	7.2	2.8	3.2	6.0
3	4.6	4.0	8.6	3.0	2.2	5.2
4	4.0	4.4	8.4	2.8	4.0	6.8
5	2.6	5.2	7.8	4.0	2.6	6.6
6	4.0	3.6	7.6	2.2	2.2	4.4
7	4.4	5.0	9.4	1.8	3.4	5.2
8	3.8	4.2	8.0	2.4	2.4	4.8
9	3.4	5.2	8.6	2.8	3.0	5.8
10	3.8	4.6	8.4	2.4	3.8	6.2
11	3.6	3.8	7.4	2.0	2.0	4.0
12	3.6	3.8	7.4	2.6	2.2	4.8
SEM خطای استاندارد	0.7036	0.8236	0.551	0.6610	0.8631	0.8935
P-Value احتمال سطح معنی داری						
کل Total	0.8472	0.8502	0.2821	0.6017	0.7607	0.3322
منبع Source	0.8802	0.6238	0.2160	0.4823	0.5778	0.6859
سطح level	0.3876	0.8617	0.6779	0.1801	0.8574	0.0468
سطح*منبع Source*level	0.8213	0.6160	0.1954	0.8447	0.4940	0.7354
خطی Liner	0.2051	0.5752	0.6750	0.1341	0.6134	0.1269
درجه دوم Quadratic	0.2914	0.6759	0.2546	0.1034	0.7395	0.2255
درجه سوم cubic	0.5745	0.6182	0.8887	0.9072	0.5329	0.1808

تیمار ۴ تا ۸: به ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع آلی
تیمار ۵ تا ۹: به ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع هیدروکسی کلراید
تیمار ۱۰ تا ۱۲: به ترتیب شامل ۳۵، ۷۰، ۱۰۵ و ۱۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم منگنز با منبع سولفات

Treatments 1 to 4: containing 35, 70, 105 and 140 mg/kg of manganese with an organic source, respectively.

Treatment 5 to 8: including 35, 70, 105 and 40 mg/1 manganese with hydroxy chloride source, respectively.

Treatment 9 to 12: including 35, 70, 105 and 140 mg of manganese oil with sulfate source, respectively.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیشترین حالیت فرم آلی منگنز در سیتریک اسید 2 درصد و کمترین آن در آب دیونیزه با 96.12 و 34.13 بود. منبع هیدروکسی کلراید منگنز نیز بیشترین حالیت را در سیتریک اسید 2 درصد داشت و سولفات منگنز بیشترین حالیت آن در هیدروکلریک اسید 0.4 درصد بود. به طور کلی بیشترین حالیت منگنز در هیدروکلریک اسید و کمترین در آب دیونیزه بود. باتوجه به اعداد بدست آمده در تکنیک قطعات وارونه روده مشخص گردید که بیشترین جذب منگنز در ایلئوم می باشد. در بین تیمارهای آزمایشی بیشترین جذب روده ای مربوط به منبع آلی منگنز و کمترین آن مربوط به شکل سولفات به ترتیب 3.25 و 1.99 درصد بود. تیمارهای آزمایشی اثر معنی داری بر صفات عملکردی (افزایش وزن روزانه، خوراک مصرفی روزانه و ضریب تبدیل غذایی) در کل دوره آزمایش نداشت. همچنین منابع و سطوح مختلف منگنز اثری بر پاسخ اولیه و ثانویه تیترا آنتی بادی علیه گلبول های قرمز گوسفندی (SRBC) نشان نداد. باتوجه به داده های بدست آمده از حالیت منگنز در حلال های مختلف و قطعات وارونه روده استفاده از منگنز آلی (۱۰۵ میلی گرم در کیلوگرم) به دلیل ارزش جذب بالا در جوجه های گوشتی توصیه می شود.

از هیات مدیره و بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش بنیان توسعه مکمل زیست فناور آریانا که در انجام این پژوهش مواد اولیه آزمایشی را تامین کردند تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

- Allahdo, P., Ghodratty, J., Zarghi, H., Saadatfar, Z., Kermanshahi, H., & Edalatian Dovom, M. R. (2018). Effect of probiotic and vinegar on growth performance, meat yields, immune responses, and small intestine morphology of broiler chickens. *Italian journal of animal science*, 17(3), 675-685.
- AOAC. (1995). Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Bai, S. P., Lu, L., Luo, X. G., & Liu, B. (2008). Kinetics of manganese absorption in ligated small intestinal segments of broilers. *Poultry science*, 87(12), 2596-2604.
- Berta, E., Andrásófszky, E., Bersényi, A., Glávits, R., Gáspárdy, A., & Fekete, S. G. (2004). Effect of inorganic and organic manganese supplementation on the performance and tissue manganese content of broiler chicks. *Acta Veterinaria Hungarica*, 52(2), 199-209.
- Black, J. R., Ammerman, C. B., Henry, P. R., & Miles, R. D. (1984). Biological availability of manganese sources and effects of high dietary manganese on tissue mineral composition of broiler-type chicks. *Poultry Science*, 63(10), 1999-2006.

6. Brooks, M. A., Grimes, J. L., Lloyd, K. E., Valdez, F., & Spears, J. W. (2012). Relative bioavailability in chicks of manganese from manganese propionate. *Journal of Applied Poultry Research*, 21(1), 126-130.
7. Cao, J., Henry, P. R., Guo, R., Holwerda, R. A., Toth, J. P., Littell, R. C., & Ammerman, C. B. (2000). Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Journal of animal science*, 78(8), 2039-2054.
8. Conly, A. K., Poureslami, R., Koutsos, E. A., Batal, A. B., Jung, B., Beckstead, R., & Peterson, D. G. (2012). Tolerance and efficacy of tribasic manganese chloride in growing broiler chickens. *Poultry Science*, 91(7), 1633-1640.
9. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). (2016). Safety and efficacy of manganese hydroxychloride as feed additive for all animal species. *EFSA Journal*, 14(5), e04474.
10. Feng, Ji. Luo, X.G. Lu, L. Liu, B. & Yu, S.X. (2006b). Effects of manganese source and calcium on manganese uptake by in vitro everted gut sacs of broiler's intestinal segments. *Poultry Science*, 85:1217-1225.
11. Halpin, K. M., Chausow, D. G., & Baker, D. H. (1986). Efficiency of manganese absorption in chicks fed corn-soy and casein diets. *The Journal of nutrition*, 116(9), 1747-1751.
12. Hassan, S., Hassan, F. U., & Rehman, M. S. U. (2020). Nano-particles of trace minerals in poultry nutrition: potential applications and future prospects. *Biological trace element research*, 195, 591-612.
13. Jasek, A., Coufal, C. D., Parr, T. M., & Lee, J. T. (2019). Evaluation of increasing manganese hydroxychloride level on male broiler growth performance and tibia strength. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(4), 1039-1047.
14. Jasek, A., Parr, T., Coufal, C. D., & Lee, J. T. (2020). Research note: Evaluation of manganese hydroxychloride in 45-wk-old white leghorn layers using yolk and shell manganese content. *Poultry science*, 99(2), 1084-1087.
15. Ji F., Luo X.G., Lu L., Liu B. & Yu S.Y. (2006a). Effects of manganese source and calcium on manganese uptake by in vitro everted gut sacs of broilers' intestinal segments. *Poultry science*, 85, 1217-1225.
16. Ji F., Luo X.G., Lu L., Liu B. and Yu S.Y. (2006b). Effects of manganese source on manganese absorption by the intestine of broilers. *Poultry science*, 85, 1947-1952.
17. Kerkaert, H. R., Woodworth, J. C., DeRouchey, J. M., Dritz, S. S., Tokach, M. D., Goodband, R. D., & Manzke, N. E. (2020). Determining the effects of manganese source and level in diets containing high levels of copper on growth performance of growing-finishing pigs. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 6(10), 19.
18. Leach G.A. and Patton R.S. (1997). Analysis techniques for chelated minerals evaluated. *Feedstuffs*. 69, 13-15.
19. Ledoux, D. R., Henry, P. R., Ammerman, C. B., Rao, P. V., & Miles, R. D. (1991). Estimation of the relative bioavailability of inorganic copper sources for chicks using tissue uptake of copper. *Journal of Animal Science*, 69(1), 215-222.
20. Li S., Luo X.G., Lu L., Crenshaw T.D., Bu Y.Q., Liu B., Kuang X., Shao G.Z. & Yu S.X. (2005). Bioavailability of organic manganese sources in broilers fed high dietary calcium. *Animal Feed Science Technology*. 123,703-715.
21. Li, S., Lu, L., Hao, S., Wang, Y., Zhang, L., Liu, S., & Luo, X. (2011). Dietary manganese modulates expression of the manganese-containing superoxide dismutase gene in chickens. *The Journal of Nutrition*, 141(2), 189-194.

22. Li, S., Luo, X., Liu, B., Crenshaw, T. D., Kuang, X., Shao, G., & Yu, S. (2004). Use of chemical characteristics to predict the relative bioavailability of supplemental organic manganese sources for broilers. *Journal of Animal Science*, 82(8), 2352-2363.
23. Lu, L., Ji, C., Luo, X. G., Liu, B., & Yu, S. X. (2006). The effect of supplemental manganese in broiler diets on abdominal fat deposition and meat quality. *Animal Feed Science and Technology*, 129(1-2), 49-59.
24. Meng, T., Gao, L., Xie, C., Xiang, Y., Huang, Y., Zhang, Y., & Wu, X. (2021). Manganese methionine hydroxy analog chelated affects growth performance, trace element deposition and expression of related transporters of broilers. *Animal Nutrition*, 7(2), 481-487.
25. Moshtaghi A.A., Badii A.A. & Hassanzadeh T. (2006). Investigation of manganese and iron absorption by rat everted gut sac. *Pakistan Journal Biological Science*. 9, 1346-1349.
26. Mwangi, S., Timmons, J., Ao, T., Paul, M., Macalintal, L., Pescatore, A., & Dawson, K. A. (2019). Effect of manganese preconditioning and replacing inorganic manganese with organic manganese on performance of male broiler chicks. *Poultry science*, 98(5), 2105-2113.
27. National Research Council. (1994). *Nutrient requirements of poultry: 1994*. National Academies Press.
28. Nollet L., Van der klis J., Lensing M. & Spring P. (2007). The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. *Journal Apply Poultry Research*. 16, 592-597.
29. Ognik, K., Kozłowski, K., Stepniowska, A., Szlżak, R., Tutaj, K., Zduńczyk, Z., & Jankowski, J. (2019). The effect of manganese nanoparticles on performance, redox reactions and epigenetic changes in turkey tissues. *Animal*, 13(6), 1137-1144.
30. Olgun, O. (2017). Manganese in poultry nutrition and its effect on performance and eggshell quality. *World's Poultry Science Journal*, 73(1), 45-56.
31. Pacheco, B. H. C., Nakagi, V. D. S., Kobashigawa, E. H., Caniatto, A. R. D. M., & Faria, D. E. D. (2017). Dietary levels of zinc and manganese on the performance of broilers between 1 to 42 days of age. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19, 171-178.
32. Pan, S., Zhang, K., Ding, X., Wang, J., Peng, H., Zeng, Q., & Bai, S. (2018). Effect of high dietary manganese on the immune responses of broilers following oral Salmonella typhimurium inoculation. *Biological trace element research*, 181, 347-360.
33. Patra, A., & Lalhriatpuii, M. (2020). Progress and prospect of essential mineral nanoparticles in poultry nutrition and feeding—a review. *Biological trace element research*, 197(1), 233-253.
34. Rubio Zapata N.K. (2016). Effect of Increasing Levels of Dietary Zinc (Zn), Manganese (Mn), and Copper (Cu) from Organic and Inorganic Sources on Egg Quality and Egg Zn, Mn, and Cu Content in Laying Hens. MSc, Louisiana State Univ. Zamorano.
35. Spears, J. W. (2019). Boron, chromium, manganese, and nickel in agricultural animal production. *Biological trace element research*, 188(1), 35-44.
36. Sun, Y., Geng, S., Yuan, T., Liu, Y., Zhang, Y., Di, Y., & Zhang, L. (2021). Effects of manganese hydroxychloride on growth performance, antioxidant capacity, Tibia parameters and manganese deposition of broilers. *Animals*, 11(12), 3470.
37. Sunder, G. S., Panda, A. K., Gopinath, N. C., Raju, M. V., Rao, S. V. R., & Kumar, C. V. (2006). Effect of supplemental manganese on mineral uptake by tissues and immune response in broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, 43(4), 371-377.

38. Tufarelli, V., & Laudadio, V. (2017). Manganese and its role in poultry nutrition: an overview. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 5(6), 749-754.
39. Van der Zijpp, A. & F. Leenstra (1980). "Genetic analysis of the humoral immune response of White Leghorn chicks." *Poultry Science* 59(7): 1363-1369.
40. Wang, C., Guan, Y., Lv, M., Zhang, R., Guo, Z., Wei, X., & Jiang, Z. (2018). Manganese increases the sensitivity of the cGAS-STING pathway for double-stranded DNA and is required for the host defense against DNA viruses. *Immunity*, 48(4), 675-687.
41. Wang, F., Lu, L., Li, S., Liu, S., Zhang, L., Yao, J., & Luo, X. (2012). Relative bioavailability of manganese proteinate for broilers fed a conventional corn-soybean meal diet. *Biological trace element research*, 146, 181-186.
42. Wang, Y. S., Zhang, J. P., & Gang, Y. (2011). Solubility and phase diagrams of hydroxyl manganese chloride. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 21(5), 1136-1140.
43. Watson, L. T., Ammerman, C. B., Miller, S. M., & Harms, R. H. (1970). Biological assay of inorganic manganese for chicks. *Poultry Science*, 49(6), 1548-1554.
44. Williams, T. R. (1972). Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry (Perkin-Elmer Corp.)
45. Yenice, E., Mızrak, C., Gültekin, M., Atik, Z., & Tunca, M. (2015). Effects of organic and inorganic forms of manganese, zinc, copper, and chromium on bioavailability of these minerals and calcium in late-phase laying hens. *Biological trace element research*, 167, 300-307.
46. Yu Y., Lu L., Luo X.G. & Liu B. (2008). Kinetics of zinc absorption by in situ ligated intestinal loops of broilers involved in zinc transporters. *Poultry science*, 87, 1146-1155.