

Determining the bioavailability percentage of bone ash phosphorus compared to monocalcium phosphate and its effect on performance, bone quality and phosphorus digestibility in broilers

Mohammad Sedghi^{1,*}, Zahra Sarrami¹, Razie Ghasemi¹ and Mahdi Zanghae

1- Department of Animal Sciences, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

2- Bone Ash Almas Novin Company, Iran.

*-Corresponding Author Email: mo.sedghi@iut.ac.ir

Introduction: Phosphorus (P) and calcium (Ca) are macro-minerals for normal growth and development. Phosphorus plays a vital role in muscle function, enzyme activity, lipid metabolism, bone mineralization, maintaining osmotic and acid-base balance, energy metabolism, amino acid metabolism, and protein synthesis. In addition, in layers, P is required to replace tissue metabolites such as nucleotides and phospholipids, maintain skeletal integrity, and produce the egg. Also, Ca is essential for eggshell formation, coagulation, muscle, and nerve function. Bone is a rich source of P and Ca, which can be converted into bone ash (BA) as an organic source to supply P and Ca. Today, BA has been introduced as a suitable alternative for mineral sources of P and Ca in the poultry industry. Barshan et al reported in 2019 that the use of BA compared to dicalcium phosphate caused a significant increase in weight in broilers. The purpose of this study was to use bone ash as a dietary P source and to investigate the P bioavailability in it compared to monocalcium phosphate (MCP) as a standard source.

Material and Methods: 350 one-day-old broilers were used in a completely randomized design with 7 treatments and 5 repetitions. The dietary treatments were: 1) basic diet containing 0.11% of available P; 2, 4, 3) supplementing the basic diet with 0.05, 0.1, and 0.15% P from MCP source; 5, 6, 7) supplementing the basic diet with 0.05, 0.1, and 0.15% P from BA source. All experimental diets contained 0.78% Ca. At the end of the experiment, the P bioavailability in the BA was obtained based on the P consumed in relation to the daily weight gain and tibia bone ash by the slope-ratio method. Also, the investigated parameters such as digestibility and antibody titer against sheep red blood cells (SRBC) were analyzed in a factorial design.

Results and Discussion: The results showed that based on the weight gain in the grower (10 to 25 days) and finisher (26 to 35 days) periods, the bioavailability of P in BA was 82.37% and 93.24%, respectively. Therefore, it can be concluded that with the increase in the consumption time of BA, its P bioavailability has also increased and it has been able to compensate for the lack of growth well and almost similar to monocalcium phosphate. Also, based on the percentage of ash and P of tibia bone, the P bioavailability was 92.86% and 96.39%, respectively.

The factorial analysis of digestibility results also showed that by increasing the level of P in diet and using MCP, the percentage of dry matter digestibility increases significantly ($P < 0.05$). Also, the percentage of P digestibility increased numerically with the increase in diet P and the use of BA. Also, factorial analysis of the data related to the production of antibody titer against sheep red blood cells, we observed that the only significant difference in the main effects was for the total antibody titer and IgG in the secondary response; So that the antibody titer produced in the secondary response was significantly higher in chickens fed with monocalcium phosphate than in chickens fed with bone ash ($P < 0.05$).

The results of the bone quality test showed that the shear and tensile stress for the tibia was significantly higher in chickens fed with 0.26% P ($P < 0.05$); but there was no significant difference between chickens fed with MCP and BA. An increase in tensile and shear stress means that more force is required to break these bones, which indicates the greater strength of these bones. Also, measuring the percentage of ash and P in tibia bones showed that with increasing P level in the diet, the percentage of ash and P in tibia increases significantly ($P < 0.05$). Also, the use of MCP in the diet caused a significant increase in tibia P ($P < 0.05$); but there was no significant difference in the percentage of tibia bone ash.

Due to the limited use of P and Ca mineral resources and also the high cost of these resources, we need to choose suitable alternatives for P and Ca mineral resources. BA is a rich source of P and Ca, which can be used as an organic source to supply P and Ca in industrial poultry diets. In agreement with our results, Van Haren et al. reported that BA can compensate for growth deficits in broiler chickens, similar to DCP and MCP, compared to diets without a P source.

Conclusion: In general, according to the results, it can be concluded that the bioavailability of P in BA is 92 to 96% compared to MCP. This result shows the good ability of BA to replace mineral sources of P. Also, since the absorbability of MCP is higher than dicalcium phosphate (DCP), it

can be concluded that BA can have the same efficiency as DCP and be introduced as a substitute in the poultry industry.

Keywords: bone ash, bioavailability, phosphorus, bone quality, digestibility.

تعیین درصد زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم فسفات و تاثیر آن بر عملکرد، کیفیت استخوان و قابلیت هضم فسفر در جوجه‌های گوشتی سویه‌ی آرین

محمد صدقی^{۱*}، زهرا صرّامی^۲، راضیه قاسمی^۲ و مهدی زنقای^۳

- ۱- استادیار دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی-تغذیه طیور
 - ۲- کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی-تغذیه طیور
 - ۳- کارشناسی ارشد دامپزشکی، شرکت خاکستر استخوان الماس نوین
- *- نویسنده مسئول: mo.sedghi@iut.ac.ir

چکیده

استخوان منبع سرشار از فسفر و کلسیم است که میتوان طی فرآیندهایی آن را به خاکستر استخوان تبدیل کرد. هدف از این مطالعه استفاده از خاکستر استخوان به عنوان منبع فسفر و بررسی درصد زیست‌فراهمی فسفر موجود در آن بود. برای این منظور از ۳۵۰ قطعه جوجه‌گوشتی در قالب طرح کاملا تصادفی با ۷ تیمار و ۵ تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: (۱) جیره پایه حاوی ۰/۱۱ درصد فسفر قابل دسترس؛ (۲،۳،۴) مکمل کردن جیره پایه با ۰/۰۵ و ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد فسفر از منبع مونوکلسیم فسفات؛ (۵،۶،۷) مکمل کردن جیره پایه با ۰/۰۵ و ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد فسفر از منبع خاکستر استخوان. درصد زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان بر اساس فسفر مصرفی نسبت به افزایش وزن روزانه و خاکستر استخوان با روش نسبت شیب خط به دست آمد. نتایج نشان داد که بر اساس افزایش وزن پرنده، فسفر خاکستر استخوان در دوره‌ی رشد و در دوره‌ی پایانی به ترتیب ۸۲/۳۷ درصد و ۹۳/۲۴ درصد اثر بخشی زیستی داشته است. بر اساس نتایج حاصل از عملکرد و افزایش درصد زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان در دوره‌ی پایانی، می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش زمان مصرف خاکستر استخوان، زیست‌فراهمی فسفر آن نیز افزایش یافته و توانسته است کمبود رشد اولیه را جبران کند. همچنین بر اساس درصد خاکستر و فسفر استخوان درشت‌نی، قابلیت زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم‌فسفات به ترتیب ۹۲/۸۶ و ۹۶/۳۹ درصد بود. آنالیز فاکتوریل نتایج قابلیت هضم نشان داد که با افزایش سطح فسفر خوراک و استفاده از مونوکلسیم‌فسفات، درصد قابلیت هضم ماده خشک خوراک به طور معناداری افزایش می‌یابد. به طور کلی می‌توان نتیجه

گرفت که قابلیت زیست فراهمی فسفر خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم فسفات ۹۲ تا ۹۶ درصد است. این نتیجه بیانگر قابلیت خوب خاکستر استخوان برای استفاده به عنوان منبع معدنی فسفر و کلسیم است.

کلمات کلیدی: خاکستر استخوان، قابلیت زیست فراهمی، فسفر، کیفیت استخوان، قابلیت هضم.

مقدمه

فسفر دومین عنصر معدنی مورد نیاز در بدن پرندگان و یکی از اجزای ضروری در جیره‌های طیور تجاری به حساب می‌آید. این عنصر در فرآیندهای زیادی مانند حرکت ماهیچه‌ها، عملکرد آنزیم‌ها، متابولیسم چربی‌ها، استحکام استخوان، حفظ فشار اسمزی بدن و متابولیسم انرژی شرکت می‌کند (Suttle, 2010). علاوه بر این، فسفر در پرندگان برای جایگزینی متابولیت‌های بافتی مانند نوکلئوتیدها و فسفولیپیدها، حفظ یکپارچگی اسکلتی و تولید تخم مورد نیاز است (Li et al., 2017; Li et al., 2016). تقریباً ۷۰ درصد فسفر موجود در غلات به شکل فیتات است (Haug et al., 1983). اسید فایتیک موجود در غلات جیره‌ها باعث ایجاد محدودیت در زیست‌فراهمی عناصر معدنی می‌شود؛ زیرا فیتات عناصری مانند فسفر و کلسیم را باند می‌کند و آن‌ها را از دسترس پرنده خارج می‌کند (Cowieson et al., 2004) و این امر باعث افت تولید و کاهش عملکرد می‌شود (Cowieson et al., 2004). امروزه برای جبران این کمبود دو راهکار دنبال می‌شود: ۱) استفاده از آنزیم فیتاز در جیره؛ ۲) افزودن منابع معدنی فسفر و کلسیم مثل دی‌کلسیم فسفات و کربنات. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که منابع معدنی فسفات که در دنیا وجود دارند رو به اتمام است و از طرف دیگر حدود ۵۰ درصد از فسفات مصرفی در بخش خوراک دام و طیور، مربوط به بخش طیور است. به همین دلیل ما نیاز به جایگزین کردن منابع فسفر داریم. استخوان یکی از منابع سرشار از فسفر و کلسیم است که میتوان طی فرآیندهایی مانند چربی و ژلاتین‌زدایی و خاکستر کردن، آن‌ها را به خاکستر استخوان به عنوان یک منبع آلی برای تامین فسفر و کلسیم جیره، تبدیل کرد. امروزه خاکستر استخوان به عنوان جایگزینی مناسبی برای منابع معدنی فسفر و کلسیم در صنعت طیور معرفی شده است.

بارشان و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند که استفاده از خاکستر استخوان نسبت به دی‌کلسیم فسفات در جوجه‌های گوشتی باعث افزایش معنادر وزن در دوره‌ی آغازین شد و همچنین در کل دوره نیز وزن در جوجه‌های تغذیه شده با خاکستر استخوان به صورت عددی افزایش یافت (Barshan et al., 2019). این امر نشان می‌دهد که خاکستر استخوان می‌تواند جایگزین مناسبی برای منابع معدنی فسفر و کلسیم باشد. نکته‌ی حائز اهمیت این است که در محتوای فسفر و قابلیت هضم خاکستر استخوان، تنوع قابل توجهی وجود دارد که به شرایط شیمیایی و ترموفیزیکی اعمال شده در طول فرآیند بستگی دارد (Barshan et al., 2019). ون‌هارن و همکاران در سال ۲۰۱۷ اشاره کردند که قابلیت هضم فسفر خاکستر استخوان کمتر از فسفر فسفات معدنی است (Van Harn et al., 2017)؛ اما با این وجود احتمال افزایش قابلیت هضم فسفر را در طی فرآیند ژلاتین‌زدایی پیشنهاد کردند؛ به همین دلیل می‌توان گفت که درصد زیست فراهمی فسفر موجود در خاکستر استخوان

هنوز در حاله‌ایی از ابهام است. بنابراین هدف از این مطالعه استفاده از خاکستر استخوان چربی و ژلاتین‌زدایی شده به عنوان منبع فسفر جیره و بررسی درصد زیست فراهمی فسفر موجود در آن در برابر مونوکلسیم فسفات است.

مواد و روش

۱. پرندگان و تیمارهای آزمایشی

به منظور انجام این آزمایش از ۳۵۰ قطعه جوجه‌گوشتی یک روزه نژاد آرین در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۵ تکرار و ۱۰ پرنده در هر تکرار با میانگین وزنی ۳۸/۸ گرم استفاده شد. پرندگان جیره‌های آزمایشی را طی دو دوره‌ی رشد (۱۰ تا ۲۵ روز) و پایانی (۲۶ تا ۳۵ روز) مصرف کردند. جیره‌های استفاده شده به جزء فسفر تامین کننده احتیاجات بر مبنای توصیه کاتالوگ جوجه‌ی گوشتی آرین بود (جدول ۱ و ۲). به منظور فرموله کردن جیره‌ها، ابتدا مواد خوراکی به منظور تعیین درصد فسفر کل آنالیز شدند و جیره‌ها فرموله شدند. فسفر مواد خوراکی نیز تعیین و در جدول ۱ گزارش شد. میزان مواد مغذی (آسیدهای آمینه) جیره‌های پایانی (جدول ۲) بر اساس نیاز جوجه‌ی گوشتی آرین در سن ۲۶ روزگی تغییر کرد؛ اما درصد فسفر و کلسیم ثابت ماند (درصد کلسیم و فسفر در جیره‌های رشد و پایانی مشابه بود). درصد کلسیم در تمامی تیمارهای آزمایشی یکسان و به میزان ۰/۷۸ درصد بود. تیمارهای آزمایشی به شرح زیر بودند:

۱. جیره پایه داری کمبود فسفر و فاقد منبع فسفات (۰/۱۱ درصد فسفر قابل دسترس)
۲. جیره پایه + ۰/۰۵ درصد فسفر از منبع مونوکلسیم فسفات (۰/۱۶ درصد فسفر قابل دسترس)
۳. جیره پایه + ۰/۱ درصد فسفر از منبع مونوکلسیم فسفات (۰/۲۱ درصد فسفر قابل دسترس)
۴. جیره پایه + ۰/۱۵ درصد فسفر از منبع مونوکلسیم فسفات (۰/۲۶ درصد فسفر قابل دسترس)
۵. جیره پایه + ۰/۰۵ درصد فسفر از منبع خاکستر استخوان (۰/۱۶ درصد فسفر قابل دسترس)
۶. جیره پایه + ۰/۱ درصد فسفر از منبع خاکستر استخوان (۰/۲۱ درصد فسفر قابل دسترس)
۷. جیره پایه + ۰/۱۵ درصد فسفر از منبع خاکستر استخوان (۰/۲۶ درصد فسفر قابل دسترس)

مونوکلسیم فسفات استفاده شده در این طرح از شرکت ایران فسفات تهیه شد و قابلیت زیست فراهمی آن بر اساس ادعای شرکت تولید کننده در نظر گرفته شد (۲۲ درصد فسفر و ۱۷ درصد کلسیم). همچنین خاکستر استخوان استفاده شده در این مطالعه از شرکت الماس نوین شرق تهیه شد. در این شرکت خاکستر استخوان از ضایعات کشتارگاهی و مراکز بسته‌بندی گوشت تهیه می‌شود. برای این منظور ضایعات استخوانی جمع‌آوری شده و به کارخانه منتقل می‌شود؛ سپس استخوان‌ها طی دو مرحله پخت، چربی‌زدایی و ژلاتین‌زدایی می‌شوند و برای از دست دادن رطوبت به اتاقک‌های خشک‌کن منتقل می‌شوند. پس از خشک شدن به داخل کوره منتقل شده تا در دمای بالا عملیات سوختن صورت گیرد. پس از سوختن و خنک شدن

آنالیز مواد مغذی

Nutrient analysis

انرژی قابل متابولیسم (Kcal/kg)	2950	2950	2950	2950	2950	2950	2950
ME (Kcal/Kg)							
پروتئین خام (%)	20.08	20.08	20.08	20.08	20.08	20.08	20.08
Crude protein (%)							
لیزین قابل هضم (%)	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07	1.07
Digestible lysine (%)							
متیونین قابل هضم (%)	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47
Digestible Methionine (%)							
متیونین+سیستئین قابل هضم (%)	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81
Digestible Met+Cys (%)							
ترئونین قابل هضم (%)	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72
Digestible threonine (%)							
کلسیم (%)	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78
Calcium (%)							
فسفر کل آنالیز شده (%)	0.25	0.30	0.35	0.40	0.31	0.36	0.41
Total phosphorus analyzed (%)							
فسفر قابل دسترس (%)	0.11	0.16	0.21	0.26	0.16	0.21	0.26
Available phosphorus (%)							

^۲ مکمل ویتامینی تامین کننده مقادیر زیر در هر کیلوگرم جیره بود: ویتامین A 12000 IU، ویتامین D₃ 5000 IU، ویتامین E 80 IU، ویتامین K 3.2 mg، ویتامین B₁ 3.2 mg، ویتامین B₂ 8.6 mg، نیاسین 65 mg، ویتامین B₅ 20 mg، ویتامین B₆ 4.3 mg، بیوتین 0.22 mg، اسید فولیک 2.2 mg، ویتامین B₁₂ 0.017 mg
^۳ مکمل معدنی تامین کننده مقادیر زیر در هر کیلوگرم جیره بود: مس 16 mg، ید 1.25 mg، آهن 20 mg، منگنز 120 mg، سلنیوم 0.3 mg، روی 110 mg

¹ B₂, 65 mg niacin, 20 mg B₁, 8.6 mg Vit K, 3.2 mg Vit E, 3.2mg Vit D₃, 80 IU Vit A, 5000 IU Vit Supplied per kg of diet: 12000 IU Vit B₆, 0.22 mg biotin, 2.2 mg folic acid and 0.017 mg VitB₁₂. pantothenic acid, 4.3 mg Vit

² Supplied per kg of diet: 16 mg copper, 1.25 mg iodine, 20 mg iron, 120 mg manganese, 0.3 mg selenium and 110 mg zinc.

جدول ۲- مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی از ۲۶ تا ۳۵ روزگی (گرم/کیلوگرم جیره)

Table 2- Food ingredients and nutrients of experimental diets from 26 to 35 days (g/kg)

ترکیب جیره	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	تیمار ۶	تیمار ۷
Diet composition	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
ذرت	657.0	654.3	652.0	649.8	656.6	656.3	656.0
(CP= 7.6%) Corn							
سویا (CP=) Soybean meal	288.2	288.6	288.8	289.1	288.4	288.4	288.5
(43.0%)							
روغن سویا	21.3	22.2	23	23.7	21.4	21.5	21.6
Soy oil							

Bone ash خاکستر استخوان (P=17%, Ca=36%)	0.0	0.0	0.0	0.0	3.4	6.3	9.3
P=22%,) MCP فسفات کلسیم (Ca=17%	0.0	2.6	4.9	7.2	0.0	0.0	0.0
کربنات کلسیم Limestone	17.8	16.6	15.6	14.5	14.5	11.8	9.0
جوش شیرین NaHCO ₃	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
نمک طعام Common salt	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
DL-متیونین DL-Methionine	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
لیزین هیدروکلراید L-Lysine-HCl	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9	1.9
L-ترئونین L-Threonine	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
کولین کلراید Choline Chloride	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
مکمل ویتامینی ¹ Vitamins premix ¹	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
مکمل معدنی ² Mineral Premix ²	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

آنالیز مواد مغذی

Nutrient analysis

انرژی قابل متابولیسم (Kcal/kg)	3025	3025	3025	3025	3025	3025	3025
ME (Kcal/Kg)							
پروتئین خام (%)	18.56	18.55	18.54	18.56	18.56	18.56	18.56
Crude protein (%)							
لیزین قابل هضم (%)	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98	0.98
Digestible lysine (%)							
متیونین قابل هضم (%)	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43
Digestible Methionine (%)							
متیونین+سیستین قابل هضم (%)	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Digestible Met+Cys (%)							
ترئونین قابل هضم (%)	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66
Digestible threonine (%)							
کلسیم (%)	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78
Calcium (%)							
فسفر کل آنالیز شده (%)	0.25	0.30	0.35	0.40	0.31	0.36	0.41

Total phosphorus analyzed (%)	0.11	0.16	0.21	0.26	0.16	0.21	0.26
فسفر قابل دسترس (%)							
Available phosphorus (%)							

^۲ مکمل ویتامینی تامین کننده مقادیر زیر در هر کیلوگرم جیره بود: ویتامین A 12000 IU، ویتامین D₃ 5000 IU، ویتامین E 80 IU، ویتامین K 3.2 mg، ویتامین B1 3.2 mg، ویتامین B2 8.6 mg، نیاسین 65 mg، ویتامین B5 20 mg، ویتامین B6 4.3 mg، بیوتین 0.22 mg، اسید فولیک 2.2 mg، ویتامین B12 0.017 mg، مکمل معدنی تامین کننده مقادیر زیر در هر کیلوگرم جیره بود: مس 16 mg، ید 1.25 mg، آهن 20 mg، منگنز 120 mg، سلنیوم 0.3 mg، روی 110 mg

¹ B2, 65 mg niacin, 20 mg B1, 8.6 mg Vit K, 3.2 mg Vit E, 3.2mg Vit D3, 80 IU Vit A, 5000 IU Vit Supplied per kg of diet: 12000 IU Vit B6, 0.22 mg biotin, 2.2 mg folic acid and 0.017 mg VitB12. pantothenic acid, 4.3 mg Vit

² Supplied per kg of diet: 16 mg copper, 1.25 mg iodine, 20 mg iron, 120 mg manganese, 0.3 mg selenium and 110 mg zinc.

مدت زمان آزمایش از ۱۰ تا ۳۵ روزگی بود و جیره‌های آزمایشی طی دو دوره‌ی ۱۰ تا ۲۵ و ۲۶ تا ۳۵ روزگی به صورت دسترسی آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت. لازم به ذکر است که پرندگان از سن ۱ تا ۹ روزگی با جیره‌ی استاندارد تغذیه شدند. پرندگان در سن ۱۰، ۲۵ و ۳۵ روز به صورت انفرادی وزن شدند و میانگین افزایش وزن روزانه، میانگین خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک برای هر دوره‌ی پرورشی محاسبه شد. همچنین تعداد تلفات در هر دوره ثبت شد و ضریب تبدیل خوراک بر اساس تلفات تصحیح شد؛ اما از آنجایی که تعداد تلفات کم بود، آنالیز آماری برای آن صورت نگرفت.

۲. تیترا آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی

به منظور تعیین تیترا آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفندی، در سن ۲۱ و ۲۸ روزگی سوسپانسیون ۵ درصد گلبول قرمز گوسفندی در سرم فیزیولوژی تهیه شد و به یک پرده از هر تکرار تزریق شد. سپس ۷ و ۱۴ روز پس از تزریق اول از همان پرده خونگیری شد و سرم آن‌ها جدا شد. تیترا آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفندی به روش سنجش هم‌آگلوتیناسیون بر اساس توضیحات اخلاقی و همکاران در سال ۲۰۱۳ اندازه‌گیری شد (Akhlaghi *et al.*, 2013).

۳. قابلیت هضم

به منظور برآورد قابلیت هضم فسفر از سن ۱۹ تا ۲۵ روزگی، اکسید کروم به عنوان نشانگر به خوراک اضافه شد و سپس در سن ۲۵ روزگی یک جوجه از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب و کشتار شد. سپس محتویات روده از قسمت ایلئوم جهت بررسی قابلیت هضم فسفر نمونه‌گیری شد. جهت برآورد درصد قابلیت هضم ماده خشک و فسفر از فرمول‌های زیر استفاده شد (Liu *et al.*, 2013).

$$\left[100 \times \left(\frac{\text{درصد ماده‌ی مغذی در خوراک}}{\text{درصد ماده‌ی مغذی در محتویات روده}} \right) \times \left(\frac{\text{درصد اکسید کروم در خوراک}}{\text{درصد اکسید کروم در محتویات روده}} \right) \right] - 100 = \text{درصد قابلیت هضم ماده‌ی مغذی}$$

$$\left[100 \times \left(\frac{\text{درصد اکسید کروم در خوراک}}{\text{درصد اکسید کروم در محتویات روده}} \right) \right] - 100 = \text{درصد قابلیت هضم ماده خشک}$$

برای اندازه‌گیری میزان اکسید کروم در محتویات روده و خوراک از روش فنتون فنتون استفاده شد (Fenton and Fenton, 1979). همچنین به منظور اندازه‌گیری درصد فسفر محتویات روده و خوراک از روش توضیح داده شده در AOAC 2016 استفاده شد.

۴. کیفیت استخوان

در پایان دوره‌ی آزمایشی، یک پرندۀ از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و کشتار شد و استخوان درشتنی از پای چپ جهت اندازه‌گیری خاکستر و فسفر و تعیین پارامترهای کیفیت استخوان جدا شد. برای این منظور، ابتدا استخوان‌ها به طور کامل تمییز شدند و سپس جهت جداسازی کلاهیک غضروفی به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند (Kocabagli, 2001). طول و عرض استخوان توسط کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد و سپس جهت به دست آوردن وزن خشک، استخوان‌ها در آون با دمای ۱۶۰ درجه قرار گرفتند (Imari et al., 2020). به منظور بررسی استحکام استخوان و اندازه‌گیری تنش برشی و خمشی از دستگاه اینسترون (Santam, STM 20, Iran) بر اساس توضیحات کوباباگلی و همکاران در سال ۲۰۰۱ استفاده شد (Kocabagli, 2001). پس از شکستن استخوان ضخامت دیواره‌ی داخلی با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد و جهت برآورد درصد فسفر و خاکستر، استخوان‌ها به مدت ۸ ساعت در کوره با دمای ۶۰۰ درجه قرار گرفتند (Efranji et al., 2022). در نهایت شاخص‌های تیپوتارسال و ربوستیسیته بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Riesenfeld, 1972; Barnett et al., 1960).

$$\text{شاخص تیپوتارسال} = \frac{\text{قطر کانال مدولاری} - \text{قطر دیافیز}}{\text{قطر دیافیز}} \times 100$$

$$\text{شاخص ربوستیسیته} = \frac{\text{طول استخوان}}{\sqrt[3]{\text{وزن استخوان}}}$$

۵. تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مربوط به عملکرد، کیفیت استخوان و SRBC به صورت یک طرح فاکتوریل ۳×۲ همراه با یک فاکتور اضافه با دو نوع منبع فسفات و ۳ سطح از هر منبع (۷ تیمار) توسط نرم‌افزار SAS 9.4 آنالیز شدند و مقایسه میانگین توکی در سطح معناداری $P < 0.05$ صورت گرفت. همچنین به منظور محاسبه درصد زیست فراهمی نسبی فسفر، داده‌های حاصل از بررسی افزایش وزن روزانه، قابلیت هضم و پارامترهای کیفیت استخوان نسبت به فسفر مصرف شده توسط پرنده در یک مدل رگرسیون خطی برازش شدند. سپس درصد زیست فراهمی نسبی فسفر موجود در خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم فسفات، به عنوان یک منبع استاندارد، با روش نسبت شیب خط محاسبه شد (Matin et al., 2021). در این روش ارزش زیست فراهمی فسفر براساس تقسیم ضریب رگرسیون معادله‌ی سطوح مختلف خاکستر استخوان نسبت به ضریب رگرسیون معادله‌ی سطوح مختلف مونوکلسیم فسفات محاسبه شد (Cuevas et al., 2019).

$Y=a+bx$: معادله رگرسیون منبع استاندارد (مونوکلسیم فسفات) $Y=a+bx$: معادله رگرسیون خاکستر استخوان

$$100 \times \left(\frac{\text{ضریب رگرسیون معادله‌ی خاکستر استخوان}}{\text{ضریب رگرسیون معادله‌ی مونوکلسیم فسفات}} \right) = \text{درصد زیست فراهمی فسفر خاکستر استخوان}$$

نتایج و بحث

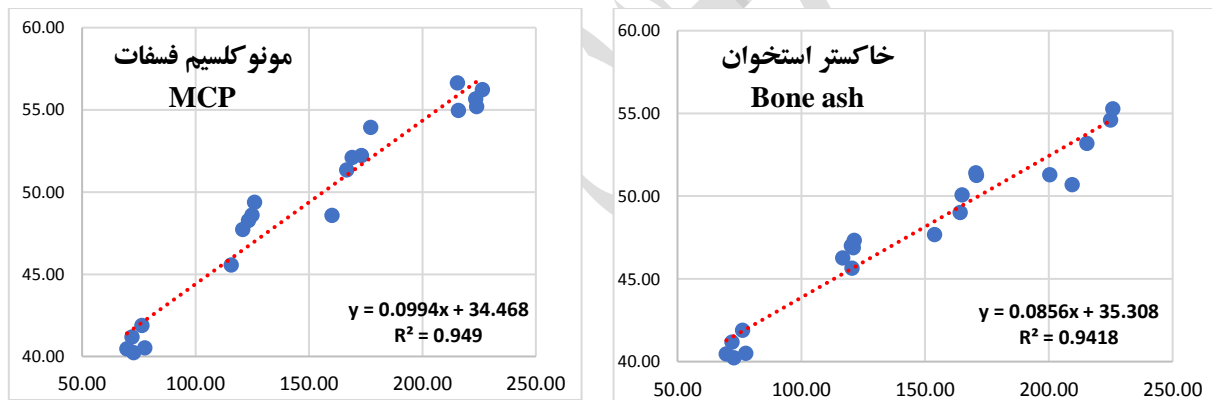
۱. عملکرد پرنده

نتایج حاصل از عملکرد و برآورد ارزش زیست فراهمی فسفر خاکستر استخوان براساس افزایش وزن روزانه نسبت به فسفر مصرفی در جدول ۳ و شکل ۱ گزارش داده شده است. همانطور که مشاهده می‌کنید فسفر خاکستر استخوان در دوره‌ی رشد (۱۰ تا ۲۵ روز) و در دوره‌ی پایانی (۲۶ تا ۳۵ روز) به ترتیب ۸۲/۳۷ درصد و ۹۳/۲۴ درصد زیست فراهمی داشته است. نتایج حاصل از عملکرد به صورت یک طرح فاکتوریل با یک فاکتور اضافه نیز آنالیز شد که در جدول ۴ گزارش شده است. همانطور که مشاهده می‌کنید، با توجه به اثرات اصلی، در هر دو دوره‌ی رشد و پایانی بیشترین افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک و کمترین ضریب تبدیل مربوط به تیمارهایی بود که بالاترین سطح فسفر (۰/۲۶ درصد) را داشتند ($P < 0.05$). همچنین در هر دو دوره‌ی آزمایشی، جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم فسفات افزایش وزن بیشتر و ضریب تبدیل کمتری نسبت به جوجه‌ها تغذیه شده با خاکستر استخوان داشتند ($P < 0.05$). هیچ تفاوت معناداری در اثرات متقابل دیده نشد.

جدول ۳- تخمین زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان بر اساس میانگین افزایش وزن روزانه نسبت به فسفر مصرفی

Table 3- Estimation of bone ash phosphorus (P) bioavailability based on average daily weight gain compared to consumed phosphorus

	منبع فسفر P source	معادله‌ی رگرسیون Regression equation	ضریب تبیین R-square	ارزش زیست‌فراهمی نسبی (%) Bioavailability (%)
۱۰ تا ۲۵ روز 10 to 25 days	مونوکلسیم فسفات MCP	$Y=0.0732 X+ 33.14$	0.96	100
	خاکستر استخوان Bone ash	$Y=0.0603X+ 33.94$	0.92	82.37
۲۶ تا ۳۵ روز 26 to 35 days	مونوکلسیم فسفات MCP	$Y=0.1199 X+ 37.04$	0.90	100
	خاکستر استخوان Bone ash	$Y=0.1118 X+ 37.19$	0.91	93.24
۱۰ تا ۳۵ روز 10 to 35 days	مونوکلسیم فسفات MCP	$Y=0.0994 X+ 34.46$	0.94	100
	خاکستر استخوان Bone ash	$Y=0.0856 X+ 35.30$	0.94	86.11



شکل ۱- نمودار رگرسیون افزایش وزن روزانه نسبت به فسفر مصرفی در کل دوره‌ی آزمایشی (۱۰ تا ۳۵ روز)

Figure 1- Regression diagram of daily weight gain in relation to phosphorus consumed during the total experimental period (10 to 35 days)

محور عمودی نشان دهنده‌ی میانگین افزایش وزن روزانه (گرم) و محور افقی نشان دهنده‌ی میزان فسفر مصرفی در روز (میلی گرم) است.
The vertical axis shows the average daily weight gain (g) and the horizontal axis shows the amount of phosphorus consumed per day (mg).

مطالعات زیادی نشان می‌دهند که افزایش فسفر قابل دسترس جیره از طریق تغییر منبع فسفات جیره و یا افزودن فیتاز باعث بهبود عملکرد و افزایش بهره‌وری خوراک می‌شود (Dilger *et al.*, 2004; Cowieson *et al.*, 2006; Pieniazek *et al.*, 2017). در این مطالعه نیز افزایش فسفر قابل دسترس خوراک باعث افزایش معنای وزن و بهبود عملکرد شد. در توافق با نتایج ما اکثر و همکاران گزارش کردند که افزایش فسفر قابل دسترس جیره به طور معناداری باعث افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل خوراک می‌شود (Akter *et al.*, 2016). همچنین بر اساس نتایج حاصل از عملکرد در این مطالعه متوجه این نکته می‌شویم که با افزایش سطح فسفر جیره، پرنده‌گانی که از منبع خاکستر استخوان استفاده کرده‌اند در مقایسه با پرنده‌گانی که منبع مونوکلسیم فسفات را استفاده کرده‌اند، تفاوت وزن معناداری ندارند. به همین دلیل می‌توانیم نتیجه بگیریم که خاکستر استخوان توانسته است کمبود رشد اولیه را به خوبی و تقریباً مشابه با مونوکلسیم فسفات جبران کند. در توافق با نتایج ما ون هارن و همکاران گزارش کردند که خاکستر استخوان می‌تواند مشابه با دی و مونوکلسیم فسفات کمبود رشد را نسبت به جیره‌های بدون منبع فسفات در جوجه‌های گوشتی جبران کند (Van Harn *et al.*, 2017). همچنین بارشان و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند که استفاده از خاکستر استخوان ژلاتین-زدایی شده در مقایسه با دی کلسیم فسفات باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی از ۱ تا ۲۸ روزگی می‌شود (Barshan *et al.*, 2019). بنابراین به طور کلی می‌توانیم نتیجه بگیریم که خاکستر استخوان می‌تواند جایگزین خوبی برای منابع معدنی فسفات باشد.

جدول ۴- تاثیر منبع و سطح فسفر بر عملکرد جوجه‌های گوشتی سویه‌ی آرین (گرم)

Table 4- The effect of the source and level of phosphorus (P) on the performance of Arian strain broilers (g)

منبع فسفر P source	سطح فسفر P level	۱۰ تا ۲۵ روز 10 to 25 days			۲۶ تا ۳۵ روز 26 to 35 days		
		ADWG ¹	ADFI ²	FCR ³	ADWG ¹	ADFI ²	FCR ³
فاقد منبع فسفر No phosphorus source	0.11 %	38.15 ^e	61.72 ^c	1.61 ^a	44.62 ^e	74.33 ^e	1.66
مونوکلسیم فسفات MCP	0.16 %	40.55 ^d	64.39 ^{bc}	1.59 ^{abc}	58.20 ^d	93.06 ^{bc}	1.59
	0.21 %	43.36 ^{bc}	65.25 ^{abc}	1.50 ^d	63.19 ^{bcd}	102.03 ^{ab}	1.50
	0.26 %	46.12 ^a	68.56 ^a	1.48 ^d	69.18 ^a	108.03 ^a	1.48
خاکستر استخوان Bone ash	0.16 %	39.92 ^{de}	64.43 ^{bc}	1.61 ^{ab}	55.99 ^d	89.75 ^c	1.68
	0.21 %	42.61 ^c	65.82 ^{ab}	1.54 ^{bcd}	60.04 ^{bcd}	96.22 ^{bc}	1.54
	0.26 %	44.42 ^{ab}	68.13 ^{ab}	1.53 ^{cd}	65.93 ^{ab}	103.22 ^{ab}	1.55
P-value		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.203
SEM		0.398	0.852	0.015	1.343	1.493	0.029
اثرات اصلی Main effects							
درصد فسفر P level	0.16 %	40.23 ^c	64.41 ^b	1.60 ^a	57.09 ^c	91.40 ^c	1.60
	0.21 %	42.99 ^b	65.53 ^b	1.52 ^b	61.62 ^b	99.13 ^b	1.61
	0.26 %	44.94 ^a	68.35 ^a	1.52 ^b	67.55 ^a	105.65 ^a	1.56

P-value	<0.0001	0.0002	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.099
منبع فسفر	مونوکلسیم فسفات	43.34 ^a	66.07	1.52 ^b	63.52 ^a	101.05 ^a
P source	MCP	42.10 ^b	66.13	1.57 ^a	60.65 ^b	96.39 ^b
	خاکستر استخوان					
	Bone ash					
P-value	0.0026	0.927	0.0009	0.0215	0.034	0.971
4 اثرات متقابل Intraactional						
P-value	0.129	0.828	0.276	0.923	0.885	0.909
منبع فسفر × سطح فسفر						
P source × P level						

¹ میانگین افزایش وزن روزانه؛ ² میانگین خوراک مصرفی روزانه؛ ³ ضریب تبدیل خوراک.

⁴ به دلیل معنادار نبودن اثرات متقابل، مقایسات میانگین اثرات متقابل گزارش نشد.

^{ab} اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی $P < 0.05$).

¹ average daily weight gain; ² average daily feed intake; ³ feed conversion ratio

⁴ Due to non-significance of interaction effects, mean comparisons of interaction effects were not reported.

^{ab} Value in each column with different letters has statistically significant differences (Tukey's test $P < 0.05$).

بررسی درصد زیست فراهمی فسفر بر اساس فسفر مصرفی نسبت به عملکرد نشان داد که زیست فراهمی فسفر خاکستر استخوان در مرحله‌ی پایانی نسبت به مرحله‌ی رشد افزایش یافته است. بر همین اساس می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش زمان مصرف خاکستر استخوان توسط پرنده، زیست فراهمی فسفر آن نیز افزایش می‌یابد. همچنین در این مطالعه به دلیل بررسی اثرات رگرسیون، کمبود فسفر اعمال شد و سطح استاندارد فسفر بررسی نشد؛ اما در مطالعه‌ی دیگری که انجام دادیم، مشاهده کردیم که زمانی که سطح فسفر قابل دسترس جیره در سطح استاندارد توصیه شده در کاتالوگ باشد (۰/۴۸ درصد استارتر، ۰/۴۳ درصد رشد و ۰/۳۹ درصد پایانی)؛ خاکستر استخوان می‌تواند حتی بهتر از دی‌کلسیم‌فسفات عمل کند؛ به طوری که در کل دوره پرورش افزایش وزن روزانه در پرندگان تغذیه شده با خاکستر استخوان ۴۷/۰۶ گرم و در پرندگان تغذیه شده با دی‌کلسیم‌فسفات ۴۵/۷۷ گرم بود (Sedghi et al., 2023). بنابراین این احتمال وجود دارد که با افزایش زمان مصرف خوراک و تامین فسفر و کلسیم در سطح استاندارد توصیه شده، خاکستر استخوان بتواند بهتر از منابع معدنی فسفات نیز عمل کند.

۲. تیترانتی بادی علیه SRBC

تأثیر سطح و منبع فسفر بر تیترانتی بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفندی در جدول ۵ گزارش شده است. همانطور که مشاهده می‌کنید، تنها تفاوت معنادار در اثرات اصلی برای تیترانتی بادی کل و IgG در پاسخ ثانویه مشاهده شده است؛ به

نحوی که تیترا آنتی‌بادی تولید شده در پاسخ ثانویه، در جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم فسفات به طور معناداری بیشتر از جوجه‌های تغذیه شده با خاکستر استخوان بوده است ($P < 0.05$). برای سایر میانگین‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد.

جدول ۵- تاثیر منبع و سطح فسفر بر تیترا آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفندی در جوجه‌های گوشتی (Log2)

Table 5- The effect of the source and level of phosphorus (P) on the antibody titer produced against sheep red blood cells in broilers (Log2)

منبع فسفر P source	سطح فسفر P level	پاسخ اولیه Primary response			پاسخ ثانویه Secondary response		
		آنتی‌بادی کل Total antibody	IgG	IgM	آنتی‌بادی کل Total antibody	IgG	IgM
فاقد منبع فسفر No phosphorus source	0.11 %	2.20	1.00	1.20	3.40 ^b	1.80 ^a	1.60
مونوکلسیم فسفات MCP	0.16 %	3.20	1.20	2.00	6.00 ^a	3.40 ^{ab}	2.60
	0.21 %	3.40	1.60	1.80	6.22 ^a	3.60 ^{ab}	2.60
	0.26 %	3.80	1.80	2.00	6.40 ^a	4.00 ^a	2.40
خاکستر استخوان Bone ash	0.16 %	2.60	1.40	1.20	4.00 ^{ab}	2.00 ^b	2.00
	0.21 %	3.20	1.60	2.60	5.40 ^{ab}	2.60 ^{ab}	2.80
	0.26 %	4.00	2.00	2.00	5.80 ^{ab}	3.40 ^{ab}	2.40
P-value		0.371	0.393	0.767	0.0041	0.008	0.518
SEM		0.595	0.329	0.489	0.568	0.444	0.437
اثرات اصلی Main effects							
درصد فسفر P level	0.16 %	2.90	1.30	1.60	5.00	2.70	2.30
	0.21 %	3.30	1.60	1.70	5.80	3.10	2.40
	0.26 %	3.90	1.90	2.00	6.10	3.70	2.70
P-value		0.261	0.261	0.862	0.165	0.125	0.623
منبع فسفر P source	مونوکلسیم فسفات MCP	3.49	1.53	1.93	6.20 ^a	3.36 ^a	2.53
	خاکستر استخوان Bone ash	3.26	1.66	1.60	5.06 ^b	2.66 ^b	2.40
P-value		0.685	0.650	0.396	0.024	0.016	0.703
اثرات متقابل¹ Intraactional							
P-value	منبع فسفر × سطح فسفر P source × P level	0.800	0.948	0.682	0.425	0.702	0.623

^{ab} اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی $P < 0.05$).
¹ به دلیل معنادار نبودن اثرات متقابل، مقایسات میانگین اثرات متقابل گزارش نشد.

^{ab} Value in each column with different letters has statistically significant differences. (Tukey's test $P < 0.05$).

¹ Due to non-significance of interaction effects, mean comparisons of interaction effects were not reported.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که افزایش سطح فسفر جیره باعث افزایش تیترا آنتی‌بادی می‌شود که می‌تواند نشان دهنده‌ی تقویت سیستم ایمنی باشد. در توافق با نتایج ما ناری و همکاران در مطالعه‌ی خود گزارش کردند که کاهش سطح فسفر جیره باعث کاهش وزن اندام‌های لنفاوی می‌شود که نشان دهنده‌ی کاهش عملکرد سیستم ایمنی پرنده است (Nari *et al.*, 2020). همچنین در این راستا امامی و همکاران گزارش کردند که کاهش سطح فسفر جیره باعث کاهش تولید تیترا آنتی-بادی‌های کل و IgG و IgM علیه گلوبول قرمز گوسفندی می‌شود (Emami *et al.*, 2013). این امر احتمالاً به دلیل تضعیف بدن پرنده در اثر کمبود مواد مغذی و متعاقب آن تضعیف سیستم ایمنی است.

۳. کیفیت استخوان درشت‌نی

نتایج حاصل از تست کیفیت استخوان درشت‌نی در جدول ۶ گزارش شده است. باتوجه به اثرات اصلی، بیشترین وزن خشک، طول استخوان درشت‌نی، ضخامت دیواره و شاخص وزن مربوط به جوجه‌هایی بود که با بیشترین سطح فسفر (۲۶٪ درصد) و مونوکلسیم فسفات تغذیه شده بودند ($P < 0.05$). برای پارامترهای قطر کانال مدولاری و شاخص تییبوتارسال هیچ تفاوت معناداری بین تیمارها وجود نداشت؛ اما بر اساس اثرات اصلی، شاخص روبوستیستی در جوجه‌های تغذیه شده با ۱۶٪ درصد فسفر به طور معناداری بیشتر بود. اثرات متقابل برای وزن خشک و شاخص روبوستیستی معنادار بود؛ اما برای سایر پارامترها تفاوت معناداری نداشت.

جدول ۶- تاثیر منبع و سطح فسفر بر کیفیت استخوان درشت‌نی در جوجه‌های گوشتی

Table 6- The effect of the source and level of phosphorus (P) on tibia bone quality in broilers

منبع فسفر P source	سطح فسفر P level	وزن خشک (mg) Dry weight	طول Length (mm)	شاخص وزن Weight index	قطر دیافیز Diaphysis diameter (mm)	ضخامت دیواره Wall thickness (mm)	قطر کانال مدولاری Medullary canal diameter (mm)	شاخص تییبوتارسال Tibiotarsal index	شاخص روبوستیسیتی Robusticity index
فاقد منبع فسفر No P source	0.11 %	1606 ^e	67.7 ^d	23.71 ^e	5.93 ^c	0.88 ^c	5.05	14.86	5.75 ^{ab}
مونوکلسیم فسفات	0.16 %	1772 ^d	70.3 ^{bc}	25.17 ^{de}	6.00 ^{bc}	0.93 ^{bc}	5.07	15.52	5.81 ^a
MCP	0.21 %	2018 ^b	71.3 ^b	28.28 ^b	6.14 ^{abc}	0.98 ^{ab}	5.16	15.98	5.64 ^b
خاکستر استخوان	0.26 %	2332 ^a	73.6 ^a	30.31 ^a	6.35 ^a	1.03 ^a	5.32	16.24	5.63 ^b
Bone ash	0.16 %	1706 ^{de}	68.7 ^{bc}	24.80 ^{de}	6.19 ^a	0.95 ^{abc}	5.34	15.34	5.75 ^{ab}
	0.21 %	1840 ^{cd}	70.6 ^b	26.05 ^{cd}	6.35 ^a	0.95 ^{abc}	5.40	14.95	5.76 ^a
	0.26 %	1960 ^{bc}	71.1 ^b	27.53 ^{bc}	6.28 ^{ab}	1.00 ^{ab}	5.28	15.92	5.68 ^{ab}

P-value		<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0012	0.0002	0.05	0.122	0.0007
SEM		32.05	0.388	0.389	0.072	0.019	0.078	0.368	0.029
اثرات اصلی Main effects									
درصد فسفر	0.16 %	1739 ^c	69.5 ^c	24.98 ^c	6.09 ^b	0.94 ^b	5.15	15.43	5.78 ^a
P level	0.21 %	1929 ^b	70.9 ^b	27.16 ^b	6.24 ^{ab}	0.96 ^b	5.28	15.46	5.70 ^b
	0.26 %	2096 ^a	72.4 ^a	28.92 ^b	6.31 ^a	1.01 ^a	5.30	16.08	5.66 ^b
P-value		<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.017	0.002	0.137	0.163	0.0007
منبع فسفر	مونوکلسیم فسفات	2007 ^a	71.7 ^a	27.92 ^a	6.16	0.98	5.18	15.91	5.70
P source	MCP	1835 ^b	70.1 ^b	26.13 ^b	6.37	0.96	5.30	15.41	5.73
	خاکستر استخوان								
	Bone ash								
P-value		<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.074	0.402	0.057	0.107	0.141
اثرات متقابل Intractional									
مونوکلسیم	0.16 %	1772 ^d	70.3	25.17 ^d	6.00	0.93	5.07	15.52	5.81 ^a
فسفات	0.21 %	2018 ^b	71.3	28.28 ^b	6.14	0.98	5.16	15.98	5.64 ^b
MCP	0.26 %	2332 ^a	73.6	30.31 ^a	6.35	1.03	5.32	16.24	5.63 ^b
خاکستر استخوان	0.16 %	1706 ^d	68.7	24.80 ^d	6.19	0.95	5.34	15.34	5.75 ^{ab}
Bone ash	0.21 %	1840 ^{cd}	70.6	26.05 ^{cd}	6.35	0.95	5.40	14.95	5.76 ^a
	0.26 %	1960 ^{bc}	71.1	27.53 ^{bc}	6.28	1.00	5.28	15.92	5.68 ^{ab}
P-value		0.020	0.081	0.019	0.118	0.327	0.178	0.476	0.015
	منبع فسفر × سطح فسفر								
P source × P level									

^{ab} اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی $P < 0.05$).

^{ab} Value in each column with different letters has statistically significant differences. (Tukey's test $P < 0.05$).

نتایج حاصل از تست استحکام و میزان خاکستر و فسفر درشتنی در جدول ۷ گزارش شده است. باتوجه به اثرات اصلی، تنش برشی و خمشی برای استخوان درشتنی در جوجه‌های تغذیه شده با ۲۶٪ درصد فسفر به طور معناداری بیشتر بود ($P < 0.05$)؛ اما بین جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم فسفات و خاکستر استخوان تفاوت معناداری وجود نداشت. افزایش نیروی خمشی و برشی بدین معنا است که برای شکستن این استخوان‌ها نیروی بیشتری لازم است، که نشان دهنده استحکام بیشتر این استخوان‌ها است. هیچ تفاوت معناداری برای اثرات متقابل وجود نداشت. اندازه‌گیری درصد خاکستر و فسفر استخوان‌های درشتنی نشان داد که با افزایش سطح فسفر در جیره، درصد خاکستر و فسفر درشتنی به طور معناداری بیشتر می‌شود ($P < 0.05$). همچنین استفاده از مونوکلسیم فسفات در جیره باعث افزایش معنادار فسفر درشتنی شده بود ($P < 0.05$)؛ اما در درصد خاکستر تفاوت معناداری ایجاد نکرده بود. نتایج حاصل از آنالیز رگرسیون درصد خاکستر و فسفر درشتنی نیز در جدول ۸ و شکل ۲ و ۳ گزارش شده است. براساس نتایج حاصل از آنالیز رگرسیون، قابلیت زیست فراهمی فسفر خاکستر استخوان بر اساس درصد خاکستر و فسفر درشتنی، به ترتیب ۹۲/۸۶ و ۹۶/۳۹ درصد بود.

جدول ۷- تاثیر منبع و سطح فسفر بر استحکام و میزان خاکستر و فسفر استخوان درشتنی در جوجه‌های گوشتی
Table 7- Effect of source and level of phosphorus on strength and tibia bone ash and phosphorus (P) in broilers

منبع فسفر P source	سطح فسفر P level	تنش برشی Shear stress (N/mm ²)	تنش خمشی Tensile stress (N/mm ²)	خاکستر درشتنی Tibia ash (% of dry matter)	فسفر درشتنی Tibia P (% of dry matter)
فاقد منبع فسفر No phosphorus source	0.11 %	13.03 ^c	28.99 ^b	39.56 ^c	2.59 ^e
مونوکلسیم فسفات MCP	0.16 %	22.79 ^{ab}	49.64 ^a	41.77 ^c	3.11 ^d
	0.21 %	25.00 ^{ab}	52.80 ^a	46.89 ^{ab}	3.78 ^{bc}
	0.26 %	27.71 ^a	55.44 ^a	48.19 ^a	4.19 ^a
خاکستر استخوان Bone ash	0.16 %	19.76 ^{bc}	40.92 ^{ab}	41.86 ^c	2.94 ^d
	0.21 %	25.04 ^{ab}	51.48 ^a	45.25 ^b	3.68 ^c
	0.26 %	26.63 ^{ab}	56.08 ^a	47.65 ^{ab}	4.04 ^{ab}
P-value		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
SEM		1.61	3.397	0.651	0.072
اثرات اصلی Main effects					
درصد فسفر P level	0.16 % 0.21 % 0.26 %	21.27 ^b 25.02 ^{ab} 27.17 ^a	45.28 ^b 52.14 ^{ab} 55.75 ^a	41.81 ^c 46.07 ^b 47.92 ^a	3.02 ^c 3.73 ^b 4.11 ^a
P-value		0.006	0.023	<0.0001	<0.0001
منبع فسفر P source	مونوکلسیم فسفات MCP خاکستر استخوان Bone ash	25.16 23.81	52.63 49.49	45.62 44.92	3.69 ^a 3.55 ^b
P-value		0.328	0.296	0.171	0.027
¹ اثرات متقابل Intraactional					
P-value	منبع فسفر × سطح فسفر P source × P level	0.663	0.404	0.364	0.861

^{ab} اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی $P < 0.05$).
¹ به دلیل معنادار نبودن اثرات متقابل، مقایسات میانگین اثرات متقابل گزارش نشد.

^{ab} Value in each column with different letters has statistically significant differences. (Tukey's test $P < 0.05$).

¹ Due to non-significance of interaction effects, mean comparisons of interaction effects were not reported.

شاخص وزن (نسبت وزن به طول استخوان) یک شاخص ساده برای توصیف چگالی استخوان است (Onyango *et al.*, 2003). بر همین اساس ما مشاهده کردیم که در جوجه‌های تغذیه شده با سطوح پایین فسفر، این شاخص کمتر بود. همچنین شاخص‌های ریبوستیسیته و تییبوتار سال نشان دهنده‌ی درجه‌ی معدنی شدن و استحکام استخوان هستند. هر چقدر شاخص ریبوستیسیته کمتر و شاخص تییبوتار سال بیشتر باشد، نشان می‌دهد که استخوان مستحکم‌تر است و

درجه‌ی کانی‌سازی در آن بیشتر بوده است (Mutuş *et al.*, 2006). لیم و همکاران گزارش کردند که افزودن مونوکلسیم فسفات به جیره و افزایش سطح فسفر باعث افزایش شاخص تیپوتار سال می‌شود (Lim Teik Chung *et al.*, 2019). در مطالعه‌ی حاضر نیز میزان شاخص تیپوتار سال در جوجه‌هایی که کمترین سطح فسفر را دریافت کرده بودند، کمتر بود؛ اما شاخص روبروستیسی برای این جوجه‌ها به طور معناداری بیشتر شده بود که نشان دهنده‌ی کاهش درجه‌ی معدنی شدن درشتنی با کاهش سطح فسفر جیره است. همچنین باتوجه به عدم وجود تفاوت معنادار در شاخص روبروستیسی، تیپوتار سال و تنش خمشی و برشی در استخوان درشتنی جوجه‌های تغذیه شده با خاکستر استخوان و مونوکلسیم فسفات، می‌توان نتیجه گرفت که خاکستر استخوان توانسته است همانند مونوکلسیم فسفات در استخوان‌سازی و تقویت سیستم اسکلتی پرنده نقش ایفا کند و کمبود فسفر را به خوبی جبران کند.

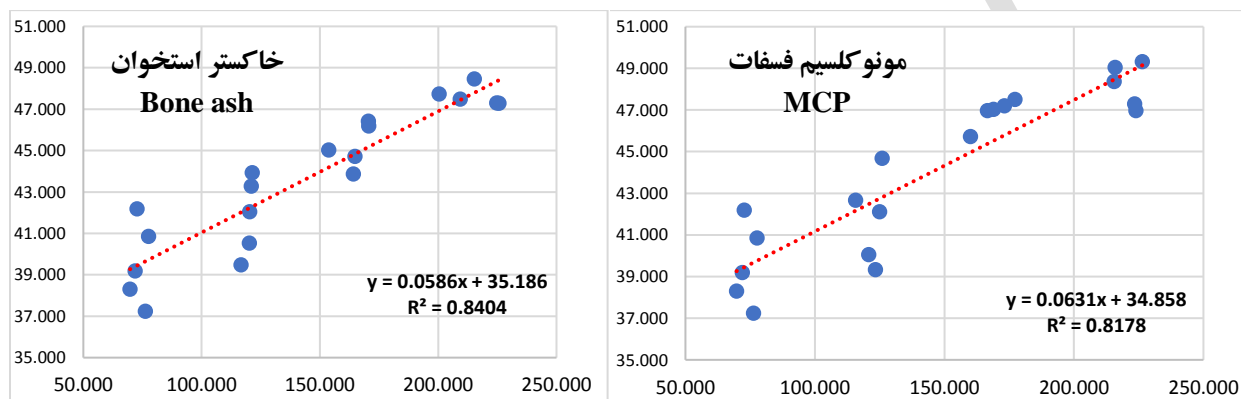
درصد خاکستر استخوان پرنده بازتابی از سطح عناصر معدنی در جیره به خصوص کلسیم و فسفر است و زمانی که کمبود این عناصر در جیره وجود داشته باشد، منجر به تاخیر در سرعت رشد و کانی‌سازی ضعیف می‌شود (Li *et al.*, 2020). والابل و همکاران گزارش کردند که کاهش سطح فسفر و کلسیم جیره باعث کاهش معنادار وزن خاکستر استخوان درشتنی و انگشت پا می‌شود (Valable *et al.*, 2018). والترز و همکاران نیز مشاهده کردند که با افزایش سطح فسفر قابل دسترس در خوراک از طریق منابع معدنی یا افزودن فیتاز به جیره، درصد فسفر و خاکستر درشتنی افزایش می‌یابد (Walters *et al.*, 2019). بر همین اساس ما نیز در این مطالعه مشاهده کردیم که با افزایش سطح فسفر جیره، درصد خاکستر و فسفر درشتنی به طور معناداری افزایش می‌یابد. همچنین از مشابه بودن درصد خاکستر درشتنی در جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم فسفات و خاکستر استخوان، می‌توانیم نتیجه بگیریم که هر دو منبع توانسته‌اند به خوبی فسفر و کلسیم را جهت استخوان‌سازی در اختیار پرنده قرار بدهند. همچنین با در نظر گرفتن این نکته که درصد قابل توجهی از خاکستر تیپ درشتنی یا مربوط به کلسیم است (۳۴٪) و از آنجایی که درصد فسفر درشتنی در جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم فسفات بیشتر بود؛ اما در درصد خاکستر درشتنی مشابه بود، می‌توان نتیجه گرفت که کلسیم موجود در خاکستر استخوان نیز برای پرنده قابلیت دسترس خوبی داشته است و خاکستر استخوان می‌تواند مشابه مونوکلسیم فسفات منبع خوبی برای تامین کلسیم نیز باشد.

جدول ۸- تخمین زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان بر اساس درصد خاکستر و فسفر درشتنی نسبت به فسفر مصرفی

Table 8- Estimation of phosphorus (P) bioavailability in bone ash based on the percentage of tibia ash and phosphorus compared to consumed phosphorus

	منبع فسفر P source	معادله‌ی رگرسیون Regression equation	ضریب تبیین R-square	ارزش زیست‌فراهمی نسبی (%) Bioavailability (%)
خاکستر	مونوکلسیم فسفات	$Y=0.0631 X+ 34.58$	0.81	100
درشتنی	MCP			
Tibia ash	خاکستر استخوان Bone ash	$Y=0.0586X+ 35.18$	0.84	92.86

فسفر	مونوکلسیم فسفات	$Y=0.0111 X+ 1.794$	0.92	100
درشت‌نی	MCP	$Y=0.0107 X+ 1.786$	0.92	96.39
Tibia P	خاکستر استخوان			
	Bone ash			

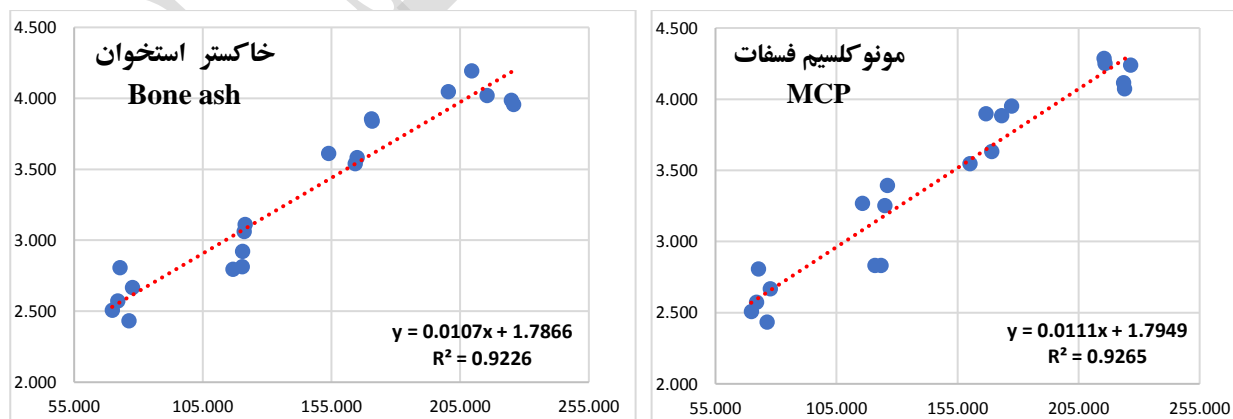


شکل ۲- نمودار رگرسیون درصد خاکستر استخوان درشت‌نی نسبت به فسفر مصرفی

Figure 2- Regression diagram of percentage of tibia bone ash relative to consumed phosphorus

محور عمودی نشان دهنده درصد خاکستر درشت‌نی (% از ماده خشک) و محور افقی نشان دهنده فسفر مصرفی در روز (میلی گرم) است.

The vertical axis shows the percentage of tibia ash (% of dry matter) and the horizontal axis shows the phosphorus consumed per day (mg).



شکل ۳- نمودار رگرسیون درصد فسفر استخوان درشت‌نی نسبت به فسفر مصرفی

Figure 3- Regression diagram of phosphorus percentage of tibia bone in relation to consumed phosphorus

محور عمودی نشان دهنده درصد فسفر درشتنی (% از ماده خشک) و محور افقی نشان دهنده فسفر مصرفی در روز (میلی گرم) است.
The vertical axis shows the percentage of tibia phosphorus (% of dry matter) and the horizontal axis shows the phosphorus consumed per day (mg).

۴. قابلیت هضم

نتایج حاصل از آزمایش قابلیت هضم در جدول ۹ گزارش شده است. با توجه به اثرات اصلی با افزایش سطح فسفر خوراک و استفاده از مونوکلسیم فسفات در صد قابلیت هضم کل خوراک به طور معناداری افزایش یافته است ($P < 0.05$). همچنین درصد قابلیت هضم فسفر نیز با افزایش فسفر خوراک و استفاده از خاکستر استخوان، به صورت عددی افزایش یافته است؛ اما تاثیر معناداری نداشته است.

مطابق با نتایج ما، امامی و همکاران گزارش کردند که کاهش فسفر جیره باعث کاهش درصد قابلیت هضم ماده خشک و فسفر خوراک می شود (Emami *et al.*, 2013). والترز و همکاران نیز گزارش کردند که افزایش سطح فسفر قابل دسترس جیره از طریق منابع معدنی یا فیتاز باعث افزایش قابلیت هضم فسفر خوراک می شود (Walters *et al.*, 2019). در این مطالعه نیز ما مشاهده کردیم که افزایش فسفر خوراک، قابلیت هضم ماده خشک خوراک را به طور معناداری زیاد می کند؛ اما بر قابلیت هضم فسفر تاثیر معناداری ندارد. این امر احتمالاً به این دلیل بوده است که در زمان کمبود فسفر در جیره، پرنده جذب فسفر را در روده افزایش می دهد تا بتواند بهره‌وری از خوراک را بیشتر کند و با این کمبود مواد مغذی سازگار شود (Rousseau *et al.*, 2016)؛ بنابراین احتمالاً به دلیل وجود کمبود فسفر، قابلیت هضم فسفر تحت تاثیر معناداری قرار نگرفته است؛ هرچند که به صورت عددی کاهش یافته است.

جدول ۹- تاثیر منبع و سطح فسفر بر قابلیت هضم در جوجه‌های گوشتی (%)

Table 9- Effect of source and level of phosphorus (P) on digestibility in broilers (%)

منبع فسفر P source	سطح فسفر P level	قابلیت هضم ماده خشک Dry matter digestibility	قابلیت هضم فسفر P digestibility
فاقد منبع فسفر No phosphorus source	0.11 %	56.54 ^b	81.83
مونوکلسیم فسفات MCP	0.16 %	65.64 ^a	83.22
	0.21 %	67.42 ^a	85.46
	0.26 %	69.92 ^a	86.03
خاکستر استخوان	0.16 %	62.83 ^{ab}	84.70
	0.21 %	65.57 ^a	85.71

Bone ash	0.26 %	66.01 ^a	86.30
P-value		0.0026	0.483
SEM		2.00	1.704
Main effects اثرات اصلی			
درصد فسفر	0.16 %	64.23 ^b	83.96
P level	0.21 %	66.49 ^{ab}	85.58
	0.26 %	67.97 ^a	86.17
P-value		0.049	0.391
منبع فسفر	مونوکلسیم فسفات		
P source	MCP	67.66 ^a	84.90
	خاکستر استخوان	64.80 ^b	85.57
	Bone ash		
P-value		0.023	0.621
¹ Intraactional اثرات متقابل			
	P-value		
	منبع فسفر × سطح فسفر	0.774	0.912
	P source × P level		

^{ab} اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی $P < 0.05$).

¹ به دلیل معنادار نبودن اثرات متقابل، مقایسات میانگین اثرات متقابل گزارش نشد.

^{ab} Value in each column with different letters has statistically significant differences.

(Tukey's test $P < 0.05$).

¹ Due to non-significance of interaction effects, mean comparisons of interaction effects were not reported.

قابلیت هضم ایلئومی فسفر خاکستر استخوان در این مطالعه ۸۵/۵۷ درصد برآورد شد، در صورتی که در مطالعه ون هارن و همکاران قابلیت هضم فسفر خاکستر استخوان ۷۸/۲ درصد (Van Harn *et al.*, 2017) و در مطالعه‌ی سیمونس و همکاران ۷۹/۳ درصد گزارش شده است (Simons *et al.*, 1991). این تفاوت شاید به دلیل شرایط متفاوت در فرآیند تولید خاکستر استخوان بوده است؛ چرا که در مطالعه‌ی آن‌ها از خاکستر استخوان ژلاتین‌زدایی نشده استفاده شده بود و همین امر باعث کاهش قابلیت هضم فسفر می‌شود (Barshan *et al.*, 2019).

نتیجه‌گیری

باتوجه به محدودیت استفاده از منابع معدنی فسفر و کلسیم و همچنین گران شدن این منابع، ما نیاز داریم تا جایگزین‌های مناسبی برای منابع معدنی فسفر و کلسیم انتخاب کنیم. استخوان یک منبع غنی از فسفر و کلسیم است که می‌توان از آن به عنوان یک منبع آلی برای تامین فسفر و کلسیم در جیره‌های طیور صنعتی استفاده کرد. با توجه به مطالعات گذشته برآورد درصد قابلیت زیست فراهمی بر اساس درصد خاکستر یا فسفر استخوان یک روش استاندارد و دقیق برای محاسبه‌ی قابلیت زیست فراهمی فسفر یک ماده‌ی خوراکی نسبت به یک ماده‌ی خوراکی استاندارد مثل مونوکلسیم‌فسفات است. به همین دلیل

با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که به طور کلی قابلیت زیست فراهمی فسفر خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم فسفات ۹۲ تا ۹۶ درصد است. این نتیجه بیانگر قابلیت خوب خاکستر استخوان در جایگزینی منابع معدنی فسفر است.

تشکر و قدردانی

از شرکت خاکستر استخوان الماس نوین که حمایت مالی این پژوهش را به عهده داشتند، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

منابع

- Akhlaghi, A, Zamiri, M.J. Jafari Ahangari, Y. Atashi, H. Ansari Pirsaraei, Z. Deldar, H. Eghbalian, A.N. Akhlaghi, A.A. Navidshad, B. and Yussefi Kelarikolaei, K.. (2013). Oral exposure of broiler breeder hens to extra thyroxine modulates early adaptive immune responses in progeny chicks. *Poultry Science*, 92: 1040-49. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02545>.
- Akter, Marjina, Graham, H. and Iji, P.A. (2016). Response of broiler chickens to different levels of calcium, non-phytate phosphorus and phytase. *British poultry science*, 57: 799-809. <https://doi.org/10.1080/00071668.2016.1216943>.
- Barnett, Ellis, and Nordin, BEC. (1960). The radiological diagnosis of osteoporosis: a new approach. *Clinical radiology*, 11: 166-7. [https://doi.org/10.1016/S0009-9260\(60\)80012-8](https://doi.org/10.1016/S0009-9260(60)80012-8)
- Barshan, Sakineh, Saeedi K., Hedayati, M. and Yari, M. (2019). Influence of bone meal degelatinisation and calcium source and particle size on broiler performance, bone characteristics and digestive and plasma alkaline phosphatase activity. *British poultry science*, 60: 297-308. <https://doi.org/10.1080/00071668.2019.1587151>.
- Cowieson, AJ, Acamovic, T. and Bedford, MR. (2004). The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *British poultry science*, 45: 101-08. <https://doi.org/10.1080/00071660410001668923>.
- Cowieson, AJ, Acamovic, T. and Bedford. M. R. (2006) Supplementation of corn–soy-based diets with an Eschericia coli-derived phytase: effects on broiler chick performance and the digestibility of amino acids and metabolizability of minerals and energy. *Poultry Science*, 85: 1389-97. <https://doi.org/10.1093/ps/85.8.1389>.

- Cuevas, Arturo Cortés, Ernesto Avila González, Carlos López Coello, and José Arce Menocal. (2019). Phosphorus bioavailability, amino acid digestibility and metabolizable energy of broiler chick diets supplemented with low-oil distiller's dried grains with solubles. *Veterinaria México*, 6: 40-51.
- Dilger, RN, Onyango, E.M. Sands, J.S. and Adeola, O. (2004). Evaluation of microbial phytase in broiler diets. *Poultry Science*, 83: 962-70. <https://doi.org/10.1093/ps/83.6.962>.
- Efranj, S., Sedghi, M. Mahdavi, A. H. and Abdollahi, M. R.. (2022). Effects of Feed Physical Form and Insoluble Fiber during Different Rearing Periods on Productive Performance, Immune Response, Behavior, Tibia indices and Gastrointestinal Alterations of W-36 Laying Pullets. *Poultry Science Journal*, 10: 111-27.
- Emami, N. Khodambashi, S. Naeini, Z. and Ruiz-Feria, CA. (2013). Growth performance, digestibility, immune response and intestinal morphology of male broilers fed phosphorus deficient diets supplemented with microbial phytase and organic acids. *Livestock Science*, 157: 506-13. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.08.014>
- Fenton, T.W., and Fenton, M. (1979). An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. *Canadian Journal of Animal Science*, 59: 631-34. <https://doi.org/10.4141/cjas79-081>
- Haug, Wolfgang, and Hans- Joachim Lantzsch. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34: 1423-26. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740341217>
- Imari, Zeyad k., Hassanabadi, A. and Nassiri Moghaddam, H.. (2020). Response of broiler chickens to calcium and phosphorus restriction: Effects on growth performance, carcass traits, tibia characteristics and total tract retention of nutrients. *Italian Journal of Animal Science*, 19 :929.- <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1808101>
- Kocabagli, NEŞE. (2001). The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 25: 797-802.
- Li, T., Guanzhong X., Yuxin S., Liyang Z., Sufen Li, Lin Lu, Zongping L., Xiudong L., and Xugang L. (2020). Dietary calcium or phosphorus deficiency impairs the bone

- development by regulating related calcium or phosphorus metabolic utilization parameters of broilers. *Poultry Science*, 99: 3207-14. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.01.028>.
- Li, X, Zhang, D. and Bryden, W. L. (2017). Calcium and phosphorus metabolism and nutrition of poultry: are current diets formulated in excess? *Animal Production Science*, 57: 2304-10.
- Li, Xiuhua, Zhang, D. Tsung, Y. and Wayne, L. (2016). Phosphorus bioavailability: a key aspect for conserving this critical animal feed resource with reference to broiler nutrition. *Agriculture*, 6: 25. <https://doi.org/10.3390/agriculture6020025>.
- Lim T. C., Eric, Mamat H. Kamalludin, Faez F. Abdullah J., Mohd Farhan, H. R., Teck C., and Zulkifli, I. (2019). Effect of Monocalcium Phosphate Supplementation on the Growth Performance, Carcass Characteristic, Gut Histomorphology, Meat and Bone Quality of Broiler Chickens. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 42.
- Liu, J.B., Chen, D. W. and Adeola, O. (2013). Phosphorus digestibility response of broiler chickens to dietary calcium-to-phosphorus ratios. *Poultry Science*, 92: 1572-78. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02758>.
- Matin, N, Utterback, P. L. and Parsons, C. M. (2021). Phosphorus digestibility and relative phosphorus bioavailability in two dried black soldier fly larvae meals and a defatted black soldier fly larvae meal in broiler chickens. *Poultry Science*, 100: 101221. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101221>.
- Mutuş, R, Neşe Kocabağlı, Müjdat Alp, NÜKET Acar, MUSTAFA Eren, and ŞŞ Gezen. (2006). The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Poultry Science*, 85: 1621-25. <https://doi.org/10.1093/ps/85.9.1621>.
- Nari, N, Ghasemi, H. A., Hajkhodadadi, I. and Khaltabadi Farahani, A. H.. (2020). Intestinal microbial ecology, immune response, stress indicators, and gut morphology of male broiler chickens fed low-phosphorus diets supplemented with phytase, butyric acid, or *Saccharomyces boulardii*. *Livestock Science*, 234: 103975. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103975>.
- Onyango, E.M., Hester, P.Y., Stroshine, R. and Adeola, O. (2003). Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*, 82: 1787-91. <https://doi.org/10.1093/ps/82.11.1787>

- Pieniasek, J., KA Smith, MP Williams, MK Manangi, M Vazquez-Anon, A Solbak, M Miller, and JT Lee. (2017). Evaluation of increasing levels of a microbial phytase in phosphorus deficient broiler diets via live broiler performance, tibia bone ash, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility. *Poultry Science*, 96: 370-82. <https://doi.org/10.3382/ps/pew225>
- Riesenfeld ,Alphonse. (1972). Metatarsal robusticity in bipedal rats. *American Journal of Physical Anthropology*, 36: 229-33. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330360211>
- Rousseau, X., Anne-Sophie V., Marie-Pierre L.-M., Nathalie M., Estelle G., Michel M., Yves N., Michel, J. D., and Agnès N. (2016). Adaptive response of broilers to dietary phosphorus and calcium restrictions. *Poultry Science*, 95: 2849-60. <https://doi.org/10.3382/ps/pew172>
- Sedghi, M., Sarrami, Z., Ghasemi, R., Abbasi, M., (2023). Replacing dicalcium phosphate with bone ash in broiler diets and its effect on performance. Second International Congress of Animal Sciences of Iran, University of Tehran. <https://iransascongress.com> (in Persian)
- Simons, PCM, HAJ Versteegh, and JD Van der Klis. (1991). De beschikbaarheid van fosfor voor slachtkuikens in voederfosfaten en in dierlijke veevoedergrondstoffen. *Verlag No. 93*.
- Suttle, Neville F. (2010). The mineral nutrition of livestock-4-th ed. *Wallingford, Oxfordshire: CABI Publishing*.
- Valable, A. S., Agnès N., Jacques Duclos, M. Pomar, C. Page, G., Nasir, C., Magnin, M., and Létourneau-Montminy, M. P. (2018). Effects of dietary calcium and phosphorus deficiency and subsequent recovery on broiler chicken growth performance and bone characteristics. *Animal*, 12: 1555-63. <https://doi.org/10.1017/S1751731117003093>
- Van Harn, J., Spek, J. W., Van Vuure, C. A., and Van Krimpen, M. M. (2017). 'Determination of pre-cecal phosphorus digestibility of inorganic phosphates and bone meal products in broilers. *Poultry Science*, 96: 1334-40. <https://doi.org/10.3382/ps/pew458>
- Walters, H.G., Coelho, M. Coufal, C. D. and Lee. J. T. (2019). Effects of increasing phytase inclusion levels on broiler performance, nutrient digestibility, and bone mineralization in low-phosphorus diets. *Journal of Applied Poultry Research*, 28: 1210-25. <https://doi.org/10.3382/japr/pfz087>

نسخه پیش انتشار

نسخه پیش انتشار