

شماره ۱۳۳، زمستان ۱۴۰۰

صص: ۹۱-۱۰۲

## تأثیر دو فرم آلی و معدنی روی بر فعالیت آنتی اکسیدانی، استحکام استخوان و عملکرد تولیدی مرغ های تخمگذار مسن

• آیدین دخت نیک نیا<sup>۱</sup>، رضا وکیلی<sup>۲\*</sup>، عبدالمنصور طهماسبی<sup>۳</sup>

۱- گروه علوم دامی، واحد کاشمر، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشمر، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، واحد کاشمر، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشمر، ایران.

۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۰

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۳۱۶۸۵۱۰

Email: rezavakili2010@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI) : 10.22092/ASJ.2021.353610.2128

چکیده

هدف پژوهش حاضر بررسی اثر دو شکل معدنی و آلی روی بر تولید و کیفیت تخم مرغ، فعالیت آنتی اکسیدانی و استحکام استخوانی در مرحله آخر تولید مرغ تخمگذار انجام شد. ۱۷۵ قطعه مرغ تخمگذار لگهورن (w36) با سن ۸۰ هفته در ۷ تیمار و ۵ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی تقسیم شدند. تیمارها عبارت بودند از: شاهد (بدون مکمل روی) تیمارهای حاوی سولفات روی (۱۵، ۳۰ و ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم). تیمارهای حاوی روی آلی (به ترتیب با ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم). نتایج نشان داد که افزایش معنی داری در رابطه با مصرف خوراک بین تیمار شاهد و تیمارهای ۱۵ و ۴۵ میلی گرم روی معدنی و تیمارهای روی آلی وجود داشت ( $P < 0.05$ ). وزن تخم مرغ در تیمار ۴۵ میلی گرم روی معدنی و تیمارهای روی آلی و توده تخم مرغ در تیمارهای ۱۵ و ۳۰ میلی گرم روی آلی افزایش معنی داری داشت ضریب تبدیل خوراک تیمارهای روی آلی کاهاش معنی دار آماری نشان داد ( $P < 0.05$ ). در رابطه با صفات کیفی تخم مرغ اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد مشاهده نشد. هر دو مکمل معدنی و آلی روی در تمام سطوح باعث افزایش فعالیت SOD (سوپراکسید دیسموتاز) سرمی به عنوان شاخص آنتی اکسیدانی، شدند ( $P < 0.05$ ). استحکام استخوان درشت نی در مرغ های دریافت کننده ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی افزایش یافت. با توجه به نتایج، روی آلی می تواند با بهبود مصرف و ضریب تبدیل خوراک؛ عملکرد، فعالیت آنتی اکسیدانی و استحکام استخوانی را در مرغ های تخمگذار در مرحله آخر تولید افزایش دهد.

واژه های کلیدی: استحکام استخوان، سوپراکسید دیسموتاز، مرغ تخمگذار، مکمل روی.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 133 pp: 91-102

## The effect of two organic and inorganic forms of zinc on antioxidant activity and bone strength and performance in older laying hens

By: Aidin Dokht Niknia<sup>1</sup>, Reza Vakili<sup>2\*</sup>, Abdolmansour Tahmasbi<sup>3</sup>

1- Department of animal Science, Kashmar Branch, Islamic Azad University, Kashmar, Iran.

2-Department of animal Science, Kashmar Branch, Islamic Azad University, Kashmar, Iran.

3-Department of animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

\*Corresponding Author Email: rezavakili2010@yahoo.com

Received: February 2021

Accepted: May 2021

The aim of this study was to investigate the effect of two mineral and organic forms of zinc on antioxidant activity and bone strength in the last phase of laying hens. 175 Leghorn laying hens (w36) with 80 week of age were divided into 7 treatments and 5 replications in a completely randomized design. The treatments were: control (without zinc supplementation) treatments containing zinc sulfate (15, 30 and 45 mg/kg). Organic zinc treatments (15, 30 and 45 mg/kg, respectively). The results showed that there was a significant increase in feed intake between the control treatment and 15 and 45 mg inorganic zinc and all organic zinc treatments ( $P<0.05$ ). Egg weight in 45 mg inorganic zinc and all organic zinc treatments and egg mass in 15 and 30 mg organic zinc treatments showed a statistically significant increased. feed conversion ratio of organic zinc treatments was decreased significantly ( $P<0.05$ ) . Regarding to egg quality traits, no significant difference was observed between experimental treats with control treatment. Both mineral and organic zinc supplements increased serum SOD activity as an antioxidant index at all levels ( $P<0.05$ ). Tibial bone strength increased in laying hens of receiving 30 mg/kg organic zinc. According to the results, organic zinc can be improved feed intake and feed conversion ratio; Increased yield, antioxidant activity and bone strength in laying hens in the final stages of production.

**Key words:** Bone Strength, Laying Hen, Superoxide Dismutase, Zinc Supplementation.

مقدمه

همکاران، ۲۰۱۱).

کاهش کیفیت پوسته تخم مرغ در مرغهای تخم گذار مسن یکی از مهم‌ترین مشکلات صنعت طیور است (Saunders Blades، ۲۰۰۹). کاهش کیفیت پوسته تخم مرغ را می‌توان با افزایش اندازه تخم، کاهش متابولیسم مواد مغذی، به طور عمده کلسیم و Roland هورمون‌های تولید مثل، به ویژه استروژن‌ها مرتبط دانست (همکاران، ۱۹۸۹). تخم مرغ‌ها حاوی ۱۰٪ پوسته و پوسته تخم مرغ حاوی ۴۰٪ کلسیم است. بنابراین، مرغ‌ها برای تشکیل پوسته تخم مرغ به مقدار قابل توجهی کلسیم نیاز دارند (Pizzolante و همکاران، ۲۰۰۹). اگرچه اغلب مطالعات تغذیه‌ای روی کیفیت پوسته بر عناصر پر نیاز کلسیم، فسفر و ویتامین D3 متمرکز بوده است. ولی چندین آنزیم که در ارتباط با برخی عناصر کم نیاز هستند، در فرآیند تشکیل پوسته تخم مرغ دخالت دارند. روی عنوان کوفاکتور

عنصر روی برای رشد و نمو بدن، کیفیت تخم مرغ، سلامت استخوان‌ها و عملکرد سیستم ایمنی مرغهای تخم‌گذار بسیار مهم است. روی جزو بسیاری از متالوآنزیم‌ها و در بیش از ۳۰۰ نوع آنزیم مانند سوپراکسید دسموتاز، کربنیک آنهیدراز، الكل دی هیدروژناز، کربوکسی پپتیداز، آلکالین فسفاتاز، RNA پلیمراز، هیدروکسی پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز می‌باشد و متابولیسم کربوکسیدرات‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک را تحت تأثیر قرار می‌دهند (ما و همکاران، ۲۰۱۱). همچنین در سایر اعمال حیاتی بدن از قبیل رونویسی RNA، دفاع در برابر رادیکال‌های آزاد و تکثیر و بازسازی DNA (Yang و همکاران، ۲۰۰۹)، بهبود عملکرد روده کوچک طیور، بهبود افزایش وزن، افزایش قابلیت زندگانی جنین، افزایش جوجه در آوری، کیفیت بهتر ران نقش دارد و باید به صورت روزانه به جیره حیوانات افروده شود (Croteau و

روی درابتدای دوازدهه و محل تجمع روی استخوان می باشد. منابع سولفات عناصر به دلیل حلالیت زیاد، به یون های قلزی فعال اجازه می دهند که سبب افزایش رادیکال های آزاد شوند و درنتیجه منجر به کاهش ارزش غذایی خوراک به خاطر شکسته شدن ویتامین ها و چربی ها می شوند (Viera, ۲۰۰۸). همچنین اثر منابع آلی معدنی بر تولید رادیکال های آزاد حاصل از متابولیسم و فعالیت آنتی اکسیدانی بدن مشخص نیست. هدف تحقیق حاضر، بررسی وضعیت استحکام استخوان، فعالیت آنتی اکسیدانی و عملکرد تولیدی در مرحله آخر دوره تولیدی مرغ تخمگذار بود.

## مواد و روش

این آزمایش در تابستان ۱۳۹۹ در مرغداری تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر استان خراسان رضوی انجام شد. در این تحقیق از ۱۷۵ قطعه مرغ تخمگذار سویه هایلین W36 در سن ۸۰ هفتاهی (فاز آخر تخمگذاری) استفاده شد. مرغ ها به ۷ تیمار آزمایشی با ۵ تکرار و ۵ قطعه مرغ در هر تکرار تقسیم شدند. تمامی مرغ ها در قفس های سه طبقه قرار داشتند و به لحاظ وزن در طیف یکسانی قرار داشتند و سپس به طور تصادفی در تیمارها قرار گرفتند. خوراک و آب به صورت آزادانه در اختیار مرغ ها قرار داشت و قبل از شروع آزمایش به مدت یک هفته جهت عادت پذیری جیره پایه در اختیار آنها قرار گرفت. تیمار های آزمایشی عبارتند از:

تیمار ۱: شاهد (جیره پایه)، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار ۳: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار ۴: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار ۵: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی، تیمار ۶: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی، تیمار ۷: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی

سولفات روی ۵ آبه (۳۴/۱۲ درصد روی) به عنوان مکمل معدنی استفاده شد و مکمل روی آلی تحت عنوان زینک پرو (کمپلکس پروتئین روی، روی ۱۲ درصد روی) از شرکت سنادام پارس خریداری شد. جدول ۱ ترکیبات جیره پایه را نشان می دهد.

متالو آنزیم ها در ساخت کربنات و موکوبی ساکاریدها، و در تنظیم پروتئین هایی که منجر به کلسیفیکاسیون پوسته می شوند، نقش مهمی دارد (Marie و همکاران، ۲۰۱۵). علاوه بر کیفیت پوسته تخم مرغ پایین (Saunders-Blades و همکاران، ۲۰۱۵)، از بین رفتن Gregory و همکاران، ۱۹۸۹) با افزایش سن مرغ تخمگذار، شکنندگی و شکستگی استخوان می تواند به یک مسئله مهم تبدیل شود و متعاقباً منجر به کاهش تولید تخم مرغ و افزایش مرگ و میر شود. این حالت با عدم تعادل بین فرآیندهای بازسازی، یا جذب استخوان و رسوب استخوان جدید اتفاق می افتد (Whitehead & Fleming, ۲۰۰۰).

خصوص ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی روی به اثبات رسیده است (Haase و همکاران، ۲۰۰۶). روی کوفاکتور آنزیم آنتی اکسیدانی مس روی - سوپراکسید دیسموتاز (SOD1) است. مکمل های روی از طریق تعديل وضعیت سلنیوم به طور قابل توجهی فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) را افزایش می دهند (Zhan و همکاران، ۲۰۱۸).

در منابع ابتدایی، عنصر فلزی با پیوند غیر کربنی به نمک اسید و یا سولفات متصل بود. خلوص پایین، وجود مواد ضد مغذی، هضم در بخش فوقانی دستگاه گوارش به دلیل pH پایین و در نتیجه برهمکنش با سایر مواد معدنی در این ترکیبات از جمله مشخصه آنها است (Viera, ۲۰۰۸). معایب زیادی از شکل معدنی روی مانند دفع زیاد، زیست فراهیمی کم، اکسیداسیون زیاد و از بین رفتن مواد معنی وجود دارد (Cao و همکاران، ۲۰۰۰). در سال های اخیر مکمل های روی آلی به منابع جایگزینی تبدیل شده اند. برخی از محققان بر این باورند که مواد معدنی کم نیاز آلی مانند مکمل متوینین روی و مخمر - روی به راحتی و بیشتر از شکل معدنی آنها جذب بدن می شوند (Nitrayova و همکاران، ۲۰۱۲). منابع آلی عناصر معدنی با پیوند کربنی توسط اسید آمینه کیلات شده، با جلوگیری از جذب شدید عناصر به شکل غیر محلول در روده و یا جلوگیری از جذب شدید آن توسط کلوئیدهای غیر محلول که مانع جذب آنها می شود، جذب عنصر موردنظر را به شدت تسريع می کنند (پور رضا، ۱۳۸۴). درجه خلوص، جذب بالاتر و ثبات بیشتر در قسمت فوقانی دستگاه گوارش فرم آلی مواد معدنی به اثبات رسیده است. محل جذب عنصر



## جدول ۱: اجزا و ترکیبات جیوه پایه

ماده خوراکی	درصد
ذرت	۵۳
سویا	۲۵
کربنات کلسیم	۱۰
روغن گیاهی	۱/۴
سبوس گندم	۶
دی کلسیم فسفات	۲/۲
نمک	۰/۲۵
جوش شیرین	۰/۱۵
مکمل ویتامینه*	۰/۲۵
مکمل معدنی**	۰/۲۵
دی ال متیونین	۰/۲
لایزین	۰/۱
آنالیز محاسباتی جیوه	۱۱۰
(kcal/kg)	۲۸۱۰
پروتئین خام (درصد)	۱۵/۱۵
کلسیم (درصد)	۴/۶۵
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴
سدیم (درصد)	۰/۱۸
متیونین (درصد)	۰/۳۸
متیونین-سیستین (درصد)	۰/۶۵
لایزین (درصد)	۰/۸
آرژینین (درصد)	۰/۹
ترئونین (درصد)	۰/۵۹

میزان خوراک مصرفی طبق راهنمای سویه مورد نظر روزانه ۱۱۰ گرم در نظر گرفته شد. مدت زمان اجرای طرح ۱۲ هفته بود و قبل از کشتار به منظور خون‌گیری و تعزیز فراسنجه‌های خونی، مدت ۱۲ ساعت گرسنگی به مرغ‌ها داده شد سپس خون‌گیری از طریق بریدن رگ گردن انجام شده و در لوله‌های آزمایش فاقد ماده ضد انعقاد ریخته شدند تا لخته شوند. نمونه‌های خون تا زمان استخراج سرمه و اندازه‌گیری فاکتورهای موردنظر در فریزر با دمای -۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

## جدول ۲: مقادیر عنصر روى تأمین شده در منابع معدنی و آلی استفاده شده در آزمایش (درصد)

تیمار	مکمل سولفات روی	مکمل آلی روی
*شاهد*	*	*
۱۵ میلی گرم روی معدنی	۴/۵۲۸	.
۳۰ میلی گرم روی معدنی	۹/۰۵۷	.
۴۵ میلی گرم روی معدنی	۱۳/۵۸	.
۱۵ میلی گرم روی آلی	.	۱۲/۵
۳۰ میلی گرم روی آلی	.	۲۵
۴۵ میلی گرم روی آلی	.	۳۷/۵

\* میزان روی جیره پایه آنالیز شده در آزمایشگاه ۵۸/۶۳ میلی گرم در کیلو گرم بود. میزان احتیاجات سویه هایلین طبق راهنمای پرورش سویه (۲۰۱۶) ۸۰ میلی گرم در کیلو گرم است.

## صفات عملکردی

پس از جداسازی غشای داخلی، پوسته ها با استفاده از آون خشک گردید و بعد از وزن کشی، ضخامت پوسته با استفاده از دستگاه ضخامت سنج (OSK13469) با دقت ۰/۰۱ با سنجش سه نقطه (دو انتهای مرکز برحسب میلی متر) اندازه گیری شد. به منظور بررسی مقاومت پوسته در برابر شکستگی از دستگاه استحکام سنج (digital egg shell force Gauge model-II) برحسب (کیلو گرم نیروی مورد نیاز برای شکستن پوسته در مقطع یک سانتی متر مکعب استفاده شد

### اثرات آنتی اکسیدانی

به منظور بررسی وضعیت آنتی اکسیدانی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD) سرم با استفاده از کیت تشخیصی Ransel (Randox, Crumlin, Uk) SOD (همکار شرکت جوانه خراسان) موردارزیابی قرار گرفت. روش اندازه گیری به این صورت بود که مقدار ۱۰ سی سی خون لخته شده را به منظور جداسازی سرم با دور ۳۰۰۰ در دقیقه و مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ کردیم. سپس میزان SOD سرم جداسازی شده توسط دستگاه راندو کس اندازه گیری شد.

### استحکام استخوانی

جهت بررسی استحکام استخوان، از هر تکرار دو قطعه مرغ انتخاب و پس از کشتار، استخوان درشت نی پای راست جدا گردید و پس از جداسازی بافت های چربی و غضروفی، خصوصیات مکانیکی استخوان ها توسط دستگاه Instron (مدل H5KS, Tinius Olsen Company) اندازه گیری و نتایج با نرم افزار اختصاصی مربوط به این دستگاه (Q Mat) محاسبه شد (حسینی و همکاران، ۱۳۹۴). در این رابطه، فاکتور های انرژی شکست، نیروی شکست، کار انجام شده تا نقطه شکست، خمش شکست و ضخامت قشر مورد اندازه گیری قرار گرفت. انرژی شکست عبارت است از میزان نیرویی که توسط دستگاه بر واحد سطح استخوان بر حسب نیوتون بر میلی متر وارد می شود.

در طی آزمایش مصرف خوراک روزانه (گرم)، تعداد و تولید تخم مرغ (گرم/مرغ/روز) و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. مصرف خوراک روزانه هر تیمار، با اندازه گیری باقیمانده خوراک مصرفی در روز بعد و کسر آن از مقدار کل خوراک در نظر گرفته شده برای هر تیمار (حدود ۳ کیلو گرم در روز) محاسبه شد. وزن تخم مرغ با استفاده از ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۱ اندازه گیری می شد. درصد تولید، وزن تخم مرغ و ضریب تبدیل خوراک با استفاده از فرمول های زیر به دست آمد.

$$Pd = (Te/n) \times 100$$

Pd: درصد تولید روزانه

Te: تعداد تخم مرغ هر واحد آزمایشی

n: تعداد مرغ هر واحد آزمایشی

### وزن تخم مرغ

$$EW = EWT/n$$

EW: میانگین وزن تخم مرغ روزانه

EWT: وزن کل تخم مرغ هر واحد آزمایشی

n: تعداد تخم مرغ تولیدی هر واحد آزمایشی

### ضریب تبدیل

$$FCR = FI/Em$$

FCR: ضریب تبدیل خوراک هر واحد آزمایشی

FI: مصرف خوراک هر واحد آزمایشی

Em: توده تخم مرغ هر واحد آزمایشی (درصد تولید ضریب میانگین وزن تخم مرغ تقسیم بر ۱۰۰)

### صفات کیفی تخم مرغ

جهت بررسی برخی صفات کیفی، تعداد ۴ عدد تخم مرغ از هر تکرار انتخاب و شکسته شد و محتویات داخلی روی شیشه مخصوص قرار داده شد و با استفاده از میکرومتر سه پایه، ارتفاع سفیده غلیظ در سه نقطه به فواصل یکسان از زرده با دقت ۰/۰۱ میلی متر اندازه گیری شد و واحدها و با اندازه گیری ارتفاع سفیده از طریق فرمول زیر محاسبه شد. وزن زرده پس از جداسازی سفیده با استفاده از ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۱ اندازه گیری شد.

کردن استفاده از جیره با یک سوم سطح تجاری مواد معدنی کمیاب شامل (آهن، مس، منگنز و روی)، نسبت به دیگر تیمارها، باعث کاهش تعداد تخم مرغ روزانه و توده تخم و افزایش نسبت مصرف خوراک به تولید تخم مرغ شد ( $P < 0.05$ ). El-katcha و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که افزودن ۳۰ پی ام نانوذرات روی به جیره باعث افزایش تولید تخم مرغ می‌شود. Abedini و همکاران (۲۰۱۸)، آزمایشی با ۲۸۸ مرغ تخمگذار سویه لگه‌هورن در سن ۶۴ هفته‌ای با ۴ تیمار انجام دادند. جیره‌های آزمایشی شامل یک رژیم غذایی مبتنی بر کنجاله دانه سویا (بدون مکمل روی) و یک رژیم غذایی پایه همراه با ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اکسید روی،  $ZnO - NP$  و روی-متیونین بود. نتایج نشان داد که تولید تخم و توده تخم در گروه روی-متیونین و  $ZnO-NPs$  به طور قابل توجهی بالاتر بود ( $P < 0.05$ ). Li و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که تیمار حاوی ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متیونین-روی در جیره باعث افزایش وزن تخم مرغ می‌شود. نظری و همکاران (۱۳۹۹) گزارش کردند که تولید تخم مرغ در تیمارهای تغذیه شده با سطح ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی در جیره در شرایط دمایی فاقد استرس در مقایسه با تیمار تغذیه شده با همین سطح روی در جیره در شرایط استرس گرمایی اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهند ( $P < 0.05$ ). روی بعنوان یک عنصر اشتها آور باعث افزایش مصرف خوراک و متعاقب آن افزایش فرست جذب و زیست‌فرآهمی روی بویژه در جیره‌های حاوی مکمل آلی روی می‌شود. این افزایش جذب روی باعث بهبود فرآیندهای متابولیسمی (از طریق پرطرف کردن نیاز آنزیم‌های متابولیسمی به روی) می‌شوند درنتیجه باعث بهبود فرآیند تشکیل تخم و افزایش تعداد و وزن تخم مرغ و کاهش ضریب تبدیل خوراک می‌شود.

نیروی شکست عبارتست از مقدار نیرویی که بر حسب نیوتون از طرف دستگاه جهت شکستن استخوان اعمال می‌شود و مقدار انرژی که صرف می‌شود بر حسب ژول، تا استخوان شکسته شود را کار تا نقطه شکست می‌نامند. میزان خمیدگی ناشی از وارد شدن نیرو بر استخوان تا نقطه شکست را خمث شکست می‌گویند که بر حسب میلی‌متر بیان می‌شود. ضخامت قشر عبارتست از ضخامت استخوان در ناحیه شکست بر حسب میلی‌متر.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ و مدل آماری GLM ارزیابی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی-کرامون گرفت. مدل آماری مورد استفاده در طرح به صورت زیر است:

$$y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

که در این فرمول

$t_i$ : صفت مورد نظر

$\mu$ : میانگین صفت اندازه گیری شده

$e_{ij}$ : اثر تیمار آزمایشی

$t_i$ : اثر خطای آزمایشی می‌باشد.

### نتایج و بحث

افزایش معنی‌داری در رابطه با مصرف خوراک بین تیمار شاهد و تیمارهای ۱۵ و ۴۵ میلی‌گرم روی معدنی، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میلی‌گرم روی آلی وجود داشت ( $P < 0.05$ ). همچنین وزن تخم مرغ نسبت به شاهد در تیمارهای ۴۵ میلی‌گرم روی معدنی، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میلی‌گرم روی آلی و توده تخم مرغ در تیمارهای ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم روی آلی افزایش معنی‌داری داشت و در نسبت تبدیل خوراک به تخم مرغ تیمارهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میلی‌گرم روی آلی کاهش معنی‌دار آماری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). نتایج در جدول ۱ ارائه شده است. در مطالعه‌ای Jialing و همکاران (۲۰۲۰)، بیان

جدول ۳: مقایسه سطوح افزایشی مکمل معدنی و آلی روی بوصفات عملکردی مرغ های تخمگذار مسن

تیمار	صرف خوراک (گرم)	تولید تخم مرغ (درصد)	وزن تخم مرغ (گرم)	توده تخم مرغ (گرم)	ضریب تبدیل
۱	۱۰۷/۵۶ <sup>a</sup>	۶۲/۶۶ <sup>b</sup>	۶۵/۳۸ <sup>a</sup>	۴۰/۹۷ <sup>a</sup>	۲/۶۲ <sup>a</sup>
۲	۱۰۸/۷۸ <sup>b</sup>	۶۵/۴۶ <sup>ab</sup>	۶۶/۴۰ <sup>ab</sup>	۴۳/۳۷ <sup>ab</sup>	۲/۵۱ <sup>ab</sup>
۳	۱۰۸/۶۸ <sup>ab</sup>	۶۴/۶۶ <sup>ab</sup>	۶۶/۵۹ <sup>ab</sup>	۴۳/۰۶ <sup>ab</sup>	۲/۵۲ <sup>ab</sup>
۴	۱۰۹/۳۲ <sup>b</sup>	۷۲/۰۲ <sup>a</sup>	۶۷/۴۵ <sup>b</sup>	۴۸/۵۸ <sup>ab</sup>	۲/۲۶ <sup>b</sup>
۵	۱۰۹/۴۳ <sup>b</sup>	۷۰/۰۷ <sup>ab</sup>	۶۷/۹۲ <sup>b</sup>	۴۷/۵۹ <sup>b</sup>	۲/۳۲ <sup>b</sup>
۶	۱۰۹/۰۲ <sup>b</sup>	۷۰/۰۴ <sup>ab</sup>	۶۸/۳۶ <sup>b</sup>	۴۷/۸۸ <sup>b</sup>	۲/۳۰ <sup>b</sup>
۷	۱۰۸/۹۲ <sup>b</sup>	۶۸/۶۷ <sup>ab</sup>	۶۸/۴۰ <sup>b</sup>	۴۶/۹۷ <sup>ab</sup>	۲/۳۲ <sup>b</sup>
SEM	۰/۲۷۴	۰/۴۸۴	۰/۳۸۸	۱/۴۲	۰/۰۶۵
P-value	<۰/۰۰۰۹	<۰/۰۱۵۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۲۳	<۰/۰۰۱۲

<sup>a,b</sup> میانگین های با حرف غیر مشابه در هر ستون، از نظر آماری تفاوت معنی داری دارند ( $P < 0.05$ ). SEM: میانگین خطای معیار تیمار: ۱: شاهد (جیره پایه)، تیمار: ۲: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روى، تیمار: ۳: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روى، تیمار: ۴: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روى، تیمار: ۵: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم روى آلی، تیمار: ۶: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم روى آلی، تیمار: ۷: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم روى آلی

طوری معنی داری افزایش داشته است ( $P < 0.05$ ). Manangi و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که استفاده از یک مکمل روی آلی، در این مورد کیلات روی، ضخامت پوسته و استحکام پوسته تخم مرغ را در مرغ های مسن افزایش داده است. با افزودن مکمل روی، میزان کربنیک آنهیدراز که در واقع یک پروتئین باند کننده کلسیم است، افزایش می یابد و موجب کاهش نفائص پوسته و بهبود کیفیت پوسته می گردد (Nys و همکاران، ۱۹۹۹).

به لحاظ آماری، اختلاف معنی داری در ضخامت، استحکام و وزن پوسته، ارتفاع سفیده، شاخص هاو و وزن زرده بین تیمار شاهد و تیمارهای دریافت کننده مکمل معدنی و آلی روی مشاهد نشد. هرچند افزایش عددی در مقادیر صفات مذکور در تیمارهای دریافتی روی آلی دیده می شود (جدول ۲). نظری و همکاران (۱۳۹۹) گزارش کردند که مقاومت و ضخامت پوسته در تیمارهای تغذیه شده با ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم روی به

## جدول ۴: اثر سطوح افزایشی مکمل معدنی و آلی روی بر متغیرهای کیفی تخم مرغ های تخمگذار مسن

تیمار	ضخامت پوسته (mm)	استحکام پوسته (kg/cm <sup>3</sup> )	ارتفاع سفیده (mm)	شاخص هاو(درصد)	وزن زرده (gr)	وزن پوسته (gr)
۱	۰/۲۵	۲/۱۴	۴/۱۸	۵۷/۳۸	۱۸/۳۵	۵/۴۲
۲	۰/۲۹	۲/۸۷	۴/۲۸	۵۷/۳۲	۱۹/۳۲	۵/۸۸
۳	۰/۲۷	۲/۲۳	۳/۴۰	۴۹/۲۴	۱۸/۹۸	۵/۲۰
۴	۰/۲۷	۲/۰۵	۳/۹۸	۵۲/۸۶	۱۹/۷۰	۵/۶۹
۵	۰/۲۷	۱/۷۶	۳/۷۸	۵۲/۹۴	۲۰/۱۴	۵/۳۲
۶	۰/۲۸	۲/۱۶	۴/۱۲	۵۲/۰۲	۲۰/۱۰	۵/۹۴
۷	۰/۲۷	۲/۲۱	۳/۷۲	۵۱/۸۸	۱۸/۴۳	۵/۸۳
۸	۰/۰۱۰	۰/۲۸۸	۰/۴۶۵	۵/۵۸	۰/۶۹۰	۰/۲۵۳
۹	۰/۰۴۵۲۶	۰/۲۷۰۳	۰/۸۴۶۳	۰/۹۳۸۱	۰/۳۶۳۶	۰/۲۷۱۲

SEM: میانگین خطای معتبر تیمار: ۱: شاهد (جیره پایه)، تیمار: ۲: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار: ۳: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار: ۴: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار: ۵: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی، تیمار: ۶: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی، تیمار: ۷: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی

SOD و GSH-Px تحمدانی در ۴۸ میلی گرم در کیلو گرم روی افزایش یافته است. براساس گزارش El-katcha و همکاران (۲۰۱۸)، افزودن ۶۰ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی و یا ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم نانو روی در جیره به طور قابل توجهی (P < ۰/۰۵) فعالیت سوپراکسید دیسموتاز سرم (SOD) را افزایش می دهد در حالی که، بر فعالیت MDA و GPx سرمی در مقایسه با گروه های تغذیه شده با روی غیرآلی اثری نداشت. روی به عنوان عنصر کمیاب ضروری برای ساختار و عملکرد Cu - Zn-SOD مهم است، زیرا که بیش از ۹۰٪ SOD را تشکیل می دهد و بدن را از تنفس اکسیداتیو و رادیکال های آزاد محافظت می کند (Noor) و همکاران (۲۰۰۲). استفاده از روی در جیره مرغ تخمگذار با افزایش محتوای Cu - Zn-SOD که از اکسیداسیون خودکار گلوتاتیون (GSH) جلوگیری می کند، رادیکال های آزاد را از بین می برد. بهبود عملکرد آنتی اکسیدانی را می توان با حذف رادیکال اکسیژن از طریق افزایش Cu / Zn- SOD توضیح داد، بنابراین Zn از GSH در خون و بافت محافظت می کند (Reid & Tervit ۱۹۹۹).

نتایج نشان داد که تیمارهای دریافت کننده مکمل معدنی و آلی روی باعث افزایش معنی دار سطح سوپراکسید دیسموتاز سرمی نسبت به تیمار شاهد شدند ( $P < ۰/۰۵$ ) (جدول ۳). Abedini و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که تیمارهای تغذیه شده با مکمل نانوذرات روی و متیونین- روی دارای فعالیت SOD بیشتری در کبد، پانکراس و پلاسما نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی می باشند ( $P < ۰/۰۵$ ) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تحقیقی، تیمارهای دریافت کننده اکسید روی و متیونین- روی فقط میزان فعالیت Cu-Zn-SOD را تحت تأثیر قرار دادند (۲۰۲۰ Abd El-Hack و همکاران، ۲۰۱۸) و همکاران (۲۰۲۰) دو منیع روی شامل روی آلی (اسید آمینه- روی) و سولفات روی به عنوان منیع معدنی روی را در دو سطح ۳۵ و ۷۰ میلی گرم در کیلو گرم مورد آزمایش قرار دادند آنها بیان کردند که تیمارهای دریافت کننده روی، غلظت سرمی  $Zn^{+2}$  و کمپلکس آنزیمی مس- روی سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داده و تمایل به افزایش محتوای سوپراکسید دیسموتاز دارد ( $P = ۰/۰۶۵$ ). Li و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که فعالیت سرمی Cu-Zn- Cu-Zn- SOD در ۷۲ میلی گرم بر کیلو گرم روی و فعالیت

جدول ۵: اثرات سطوح افزایشی مکمل معدنی و آلی روی بر شاخص آنتی اکسیدانی سرم خون مرغ های تخمگذار مسن

P-value	SEM	تیمار ۷	تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	SOD (U/mL)
<0.0001	0.694	۳۰۶/۶۰ <sup>b</sup>	۲۷۹/۲۰ <sup>b</sup>	۳۱۴/۲۰ <sup>b</sup>	۳۴۱/۴۰ <sup>b</sup>	۳۳۲ <sup>b</sup>	۲۸۵/۷۰ <sup>b</sup>	۲۲۱/۲۰ <sup>a</sup>	

<sup>a,b</sup> میانگین های با حرف غیر مشابه در هر ردیف، از نظر آماری تفاوت معنی داری دارند ( $P < 0.05$ ). تیمار ۱: شاهد (جیره پایه)، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار ۳: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار ۴: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار ۵: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی، تیمار ۶: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی، تیمار ۷: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی. SEM: انحراف معیار میانگین.

درشت نی، به عنوان پارامترهای مکانیکی استخوان درشت نی نداشت ( $P > 0.05$ ). جایگزینی اکسید روی و منگتر با کپلکس های اسید آمینه این عناصر نیز تأثیری بر پارامترهای فیزیکی و هندسی درشت نی، محتوای خاکستر در استخوان Swiatkiewicz & Manang (۲۰۱۵) و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه خود نشان دادند که استفاده از مواد معدنی کلسیم، روی، مس و منگتر منجر به بیشترین مقدار استحکام استخوان شده است. نتایج در جدول ۴ آورده شده است.

با توجه به افزایش معنی دار خمث و ضخامت استخوان در تیمار دریافت کننده ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم می توان گفت مرغ های تیمار مذکور استحکام استخوانی بیشتری نسبت به دیگر تیمارها داشتند. L1 و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه بر روی ۵۷۶ قطعه مرغ مادر گوشتی سویه لینگتان<sup>۱</sup> در سن ۵۸ هفته ای گزارش کردند که مرغ های دریافت کننده ۲۴ تا ۴۸ میلی گرم در کیلو گرم روی، میزان استحکام و مقاومت به شکست در استخوان تیبا بیشتری نسبت به دیگر تیمارهای آزمایشی دارند. Cufadar و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند سطوح مختلف روی و اثر متقابل آنها هیچ تأثیری بر وزن استخوان درشت نی، فشار درشت نی و قدرت شکستگی

جدول ۶: اثرات مکمل معدنی و آلی روی بر استحکام استخوان درشت نی مرغ های تخمگذار مسن

تیمار	انرژی شکست (N/mm)	نیروی شکست (N)	کار انجام شده تا نقطه شکست (J)	الخمث شکست (mm)	ضخامت قشر (mm)
۱	۲۱۲/۲۵	۲۲۳/۳۰	۰/۱۴۶	۱/۷۵ <sup>a</sup>	۲/۱۰ <sup>a</sup>
۲	۱۴۳/۲۰	۱۸۹/۸۵	۰/۱۴۷	۱/۸۸ <sup>a</sup>	۲/۶۱ <sup>a</sup>
۳	۱۹۳/۸۰	۲۰۰/۸۰	۰/۱۲۴	۱/۷۷ <sup>a</sup>	۳/۱۰ <sup>a</sup>
۴	۱۴۸/۵۵	۱۷۹/۳۰	۰/۱۴۸	۱/۷۵ <sup>a</sup>	۱/۸۵ <sup>a</sup>
۵	۲۲۹/۱۰	۱۷۷/۵۰	۰/۱۰۹	۱/۴۱ <sup>a</sup>	۲/۲۹ <sup>a</sup>
۶	۱۳۱/۶۰	۱۹۷/۹۵	۰/۱۹۲	۴/۴۴ <sup>b</sup>	۵/۹۴ <sup>b</sup>
۷	۲۱۲/۳۰	۲۲۴/۸۰	۰/۱۳۸	۱/۷۲ <sup>a</sup>	۱/۸۲ <sup>a</sup>
SEM	۲۲/۸۰۶	۳۳/۵۵۶	۰/۰۲۲	۰/۲۶۶	۰/۲۰۹
	۰/۰۸۸	۰/۹۰۴	۰/۳۴۸	۰/۰۰۱	<0.0001

<sup>a,b</sup> میانگین های با حرف غیر مشابه در هر ستون، از نظر آماری تفاوت معنی داری دارند ( $P < 0.05$ ). تیمار ۱: شاهد (جیره پایه)، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار ۳: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار ۴: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم سولفات روی، تیمار ۵: جیره پایه + ۱۵ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی، تیمار ۶: جیره پایه + ۳۰ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی، تیمار ۷: جیره پایه + ۴۵ میلی گرم در کیلو گرم روی آلی. SEM: انحراف معیار میانگین.

## نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج، استفاده از مکمل روی در هر دو شکل آلی و معدنی می‌تواند مصرف خوراک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در مرغ‌های تخمگذار مسن بهبود بخشد. روی آلی ضریب تبدیل خوراک را بهبود می‌دهد و استفاده از ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی آلی در فاز آخر تخمگذاری می‌تواند باعث بهبود استحکام استخوانی در مرغ‌های تخمگذار مسن شود.

## پانویس‌ها

### 1. Lingnan

## منابع

- حسینی، س.ج.، کرمانشاهی، ح.، نصیری مقدم، ح.، نبی پور، ا.، و حسن‌آبادی، ا. (۱۳۹۴). تأثیر او ۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسيفiroول و عصاره هيدروالکلى پودرشده پنیرباد (Withania Coagulans) بر عملکرد و استحکام استخوان درشت‌نی جوجه‌های نر گوشتشی. پژوهش‌های تولیدات دامی، سال ششم شماره یازده، ص ۹-۱۸.
- پوررضا، ج. (۱۳۸۴). اصول علمی و عملی پرورش طیور. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد اصفهان.
- نظری، م.، سالاری، س.، و قربانی، م.ر. (۱۳۹۹). اثر مکمل روی و جایگزینی بتائین جبره با متیونین بر عملکرد و فرآنشه‌های خونی مرغان تخمگذار در شرایط استرس گرمایی. تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک. شماره ۱۲۶ ص ۷۰-۶۱.
- Abd El-Hack, M. E., Alagawany, M., Salah, A. S., Abdel-Latif, M. A., & Farghly, M. F. (2018). Effects of dietary supplementation of zinc oxide and zinc methionine on layer performance, egg quality, and blood serum indices. *Biological trace element research*, 184(2): 456-462.
- Abedini, M., Shariatmadari, F., Karimi Torshizi, M. A., & Ahmadi, H. (2018). Effects of zinc oxide nanoparticles on the egg quality, immune response, zinc retention, and blood parameters of laying hens in the late phase of production. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102(3): 736-745. <https://doi.org/10.1111/jpn.12871>
- 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.
- Croteau, M.N., Dybowska, A.D., Luoma, S.N., & Valsami-Jones, E. (2011). A novel approach reveals that zinc oxide nanoparticles are bioavailable and toxic after dietary exposures. *Nanotoxicology*, 5:79-90.
- Cufadar, Y., Göçmen, R., Kanbur, G., & Yıldırım, B. (2020). Effects of dietary different levels of nano, organic and inorganic zinc sources on performance, eggshell quality, bone Mechanical parameters and mineral contents of the tibia, liver, serum and excreta in laying hens. *Biological trace element research*, 193(1): 241-251.
- El-katcha, M. I., Mosaad, A., Soltan, Mahmoud, M., Arafa, karima, N., El-Sayed R. K. (2018). Impact of Dietary Replacement of Inorganic Zinc by Organic or Nano Sources on Productive Performance, Immune Response and Some Blood Biochemical Constituents of Laying Hen. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 59(1): 48-59.
- Gregory, N.G., & Wilkins, L.J. (1989). Broken bones in domestic fowl: handling and processing damage in end-of-lay battery hens. *Br Poult Sci*. 30: 555-62.
- Haase, H., Moccagiani, E., & Rink, L. (2006). Correlation between zinc status and immune function in the elderly. *Biogerontology*, 7(5): 421-428.

- Jialing, Q., Xintao, L., Lianxiang, M., Chuanchuan, H., Junna, H., Bing, L., Dongyou, Y., Gang, L., & Jiming, X. (2020). Low-dose of organic trace minerals reduced fecal mineral excretion without compromising performance of laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(4): 588-596.
- Li, L. L., Gong, Y. J., Zhan, H. Q., Zheng, Y. X., & Zou, X. T. (2019). Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. *Poultry science*, 98(2): 923-931.
- Manangi, M. K., Vazques-Anon, M., Richards, J. D., Carter, S., & Knight, C. D. (2015). The impact of feeding supplemental chelated trace minerals on shell quality, tibia breaking strength, and immune response in laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 24(3): 316-326.
- Marie, P., Labas, V., Brionne, A., Harichaux, G., Hennequet-Antier, C., Nys, Y., et al. (2015). Quantitative proteomics and bioinformatic analysis provide new insight into protein function during avian eggshell biomineralization. *J Proteomics*. 113: 178-93.
- Nitrayova, S., Windisch, W., Von Heimendahl, E., Müller, A., & Bartelt, J. (2012). Bioavailability of zinc from different sources in pigs. *Journal of animal science*, 90(suppl\_4): 185-187.
- Noor, R., Mittal, S., & Iqbal, J. (2002). Superoxide dismutase—applications and relevance to human diseases. *Medical Science Monitor*, 8(9): RA210-RA215.
- Nys, Y. (1999). Nutritional factors affecting eggshell quality. *czech journal of animal science*. 14: 135-143.
- Pizzolante, C.C., Saldanha, E.S.P.B., Lagana, C., Kakimoto, S.K., & Toghashi, C.K. (2009). Effect of calcium levels and limestone particle size on the egg quality of semi-heavy layers in their second production cycle. *Braz J Poult Sci*. 11: 79-86.
- Reid, G. M., & Tervit, H. (1999). Sudden infant death syndrome: oxidative stress. *Medical hypotheses*, 52(6): 577-580.
- Roland, DA. (1986). Egg shell quality III: calcium and phosphorus requirements of commercial Leghorns. *Worlds Poult Sci J*. 42:154-65.
- Saunders-Blades, J.L., & Korver, D.R. (2015). Effect of hen age and maternal vitamin D source on performance, hatchability, bone mineral density, and progeny *in vitro* early innate immune function. *Poult Sci*. 94: 1233-46.
- Saunders-Blades, J.L., MacIsaac, J.L., & Korver, D.R., & Anderson, D.M. (2009). The effect of calcium source and particle size on the production performance and bone quality of laying hens. *Poult Sci*. 88: 338-53.
- Swiatkiewicz, S., & Koreleski, J. (2008). The effect of zinc and manganese source in the diet for laying hens on eggshell and bones quality. *Veterinarni Medicina*, 53(10): 555-563.
- Viera, S.L. (2008). Chelated minerals for poultry. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 10:73-79.
- Whitehead, C. C., & Fleming, R. H. (2000). Osteoporosis in cage layers. *Poultry science*, 79(7): 1033-1041. Available at <http://ps.oxfordjournals.org/content/79/7/1033.abstract>.
- Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H., & Xia, Z. (2009). Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. *Journal of Applied Toxicology*, 29: 69-78.
- Yu, Q., Liu, H., Yang, K., Tang, X., Chen, S., Ajuwon, K. M., ... & Fang, R. (2020). Effect of the level and source of supplementary dietary zinc on egg production, quality, and zinc content and on serum antioxidant parameters and zinc concentration in laying hens. *Poultry Science*, 99(11): 6233-6238.
- Zhan, H.Q., Li, L.L., Gong, Y.J., Zheng, Y.X.,



& Zou, X.T. (2018). Effects of dietary Zn-methionine supplementation on the laying performance, egg quality, antioxidant capacity, and serum parameters of laying hens. *Poult. Sci.* 98: 923–931.