

## "Research Paper"

# Effect of Different Levels of Vermi-humus Supplementation on Performane, Egg Quality Characteristics, Serum Bbiochemical Parameters, and pPion of Small Intestine Microflora of Laying Quail

Hamidreza Khajavi<sup>1</sup> and Mohammad Amir Karimi Tarshizi<sup>2</sup>

1- PhD student, Poultry Science, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad,  
(corresponding author: khajavihamidreza@gmail.com)

2- Associate Professor, Department of Poultry Breeding and Management, Tarbiat Modares University, Tehran  
Received: 13 December, 2022 Accepted: 7 June, 2023

### Extended Abstract

**Introduction and Objective:** Vermi humus refers to the final product of organic material decomposition by earthworms, which contains compounds such as humic substances (humic acids, fulvic acid, and humin). The present study aimed to investigate the effect of vermi\_humus supplement on performance, quantitative and qualitative characteristics of eggs, serum biochemical parameters, and microbial population in the small intestine of laying quails.

**Material and methods:** The experiment was conducted for eight weeks using 160 laying quails in a completely randomized design with eight treatments, four replications, and five female quails per cage. The experimental groups consisted of different levels of vermi humus (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.5, and 2%) and virginiamycin antibiotic (7.0%). During the experiment, all eggs in each cage were collected daily, counted, weighed, and recorded. Feed consumption for each cage was calculated on a weekly basis throughout the entire experimental period. The feed conversion ratio was calculated by dividing the daily feed intake by the average daily egg mass of each quail. Some qualitative egg traits were measured, including shell thickness, shell percentage, shell strength, yolk percentage, albumen height, IQU unit, and yolk oxidation. At the end of the experiment, five birds from each treatment group were randomly selected and slaughtered after weighing using the neck bone displacement method, and one gram of ileum contents was taken for microbiological population analysis.

**Results:** According to the results, different levels of vermi humus did not have any effect on the performance of egg-laying quails. The effect of vermi humus supplement on the percentage of shell thickness, shell percentage, shell strength, and yolk percentage was not statistically significant. By increasing the level of vermi humus supplement, the height of the albumen and IQU unit decreased. Different levels of vermi humus supplements had no effect on the amount of calcium, total protein, cholesterol, glucose, and albumin in blood serum. The results indicated that the effect of different levels of vermi humus supplement on the microbial population of quail's small intestine was significant. With increasing levels of vermi-humus supplement, the degree of oxidation of fresh and stored quail egg yolks changed linearly and in the second degree.

**Conclusion** In general, the results showed that the consumption of vermi humus as a natural food substance improved the performance and egg weight, and enhanced the quality characteristics of Japanese quail eggs at levels of 0.5% and 1.5%. Furthermore, the consumption of vermi humus at a level of 0.5% led to an improvement in the antioxidant status of the yolk and a decrease in the population of undesirable microorganisms in the small intestine of quails.

**Keywords:** Blood biochemical parameters, Humic acid, Laying quail, Vermi humus, Virginiamycin

**"مقاله پژوهشی"****تأثیر سطوح مختلف مکمل ورمی هوموس بر عملکرد، کیفیت تخم، متابولیت‌های سرم خون و جمعیت میکروبی روده باریک بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار****حمیدرضا خواجوی<sup>۱</sup> و محمدمیر کریمی ترشیزی<sup>۲</sup>**

۱- دانشجوی دکتری، علوم طیور، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، (نویسنده مسوول: khajavihamidreza@gmail.com)

۲- دانشیار، گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۱۷

صفحه: ۱۳ تا ۲۴

**چکیده مبسوط**

**مقدمه و هدف:** ورمی هوموس یا فضولات کرم خاکی به محصول نهایی تجزیه مواد آلی توسط کرم اشاره دارد که حاوی ترکیباتی شامل مواد هیومیک (اسید هیومیک، اسید فولویک و هیومین) می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر مکمل ورمی هوموس بر عملکرد، خصوصیات کمی و کیفی تخم، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم و جمعیت میکروبی روده باریک در بلدرچین تخم‌گذار انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** آزمایش به مدت هشت هفته با استفاده از ۱۶۰ قطعه بلدرچین در قالب طرح کاملاً تصادفی با هشت تیمار، چهار تکرار و پنج قطعه بلدرچین ماده در هر قفس انجام شد. گروه‌های آزمایشی شامل سطوح مختلف ورمی هوموس (۰، ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵، ۲ درصد) و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین (۰/۷ درصد) بودند. در طول آزمایش، تمامی تخم‌های هر قفس روزانه جمع‌آوری، شمارش، وزن و ثبت شدند. مصرف خوراک در کل دوره آزمایش برای هر قفس به صورت هفتگی محاسبه شد. ضریب تبدیل خوراک مصرفی به تولید تخم از تقسیم خوراک مصرفی روزانه بر میانگین وزن توده تخم روزانه هر بلدرچین محاسبه شد. برخی صفات کیفی تخم شامل ضخامت پوسته، درصد پوسته، استحکام پوسته، درصد زرده، ارتفاع سفیده، واحد IQU و اکسیداسیون زرده تخم اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش، پنج قطعه پرنده از هر گروه آزمایشی به‌طور تصادفی انتخاب و پس از وزن‌کشی به‌روش جابجایی مهره گردن کشتار شدند و یک گرم از محتویات ایلئوم جهت انجام آزمایش جمعیت میکروبی برداشته شد.

**یافته‌ها:** براساس نتایج، سطوح مختلف ورمی هوموس بر عملکرد بلدرچین‌های تخم‌گذار اثر نداشت. اثر مکمل ورمی هوموس بر درصد ضخامت پوسته، درصد پوسته، استحکام پوسته و درصد زرده از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. با افزایش سطح مکمل ورمی هوموس، ارتفاع سفیده و واحد IQU کاهش یافت. سطوح متفاوت مکمل ورمی هوموس تأثیری بر میزان کلسیم، پروتئین تام، کلسترول، گلوکز و آلبومین سرم خون نداشت، نتایج نشان داد که اثر سطوح متفاوت مکمل ورمی هوموس بر جمعیت میکروبی روده باریک بلدرچین تخم‌گذار معنی‌دار شد. با افزایش سطح مکمل ورمی هوموس، میزان اکسیداسیون زرده‌ی تخم بلدرچین تازه و نگهداری شده به‌طور خطی و درجه دوم تغییر کرد.

**نتیجه‌گیری:** به‌طور کلی نتایج نشان داد که مصرف ورمی هوموس به‌عنوان یک ماده غذایی طبیعی، در سطوح ۰/۵ و ۱/۵ درصد بهبود عملکرد و افزایش وزن تخم و بهبود خصوصیات کیفی تخم بلدرچین ژاپنی را به‌همراه دارد. همچنین، مصرف ورمی هوموس در سطح ۰/۵ درصد باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی زرده تخم و کاهش جمعیت میکروبی غیرمطلوب در روده باریک بلدرچین شده است.

**واژه‌های کلیدی:** اسید هیومیک، بلدرچین تخم‌گذار، فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، ورمی هوموس، ویرجینیامایسین**مقدمه**

در صنعت پرورش طیور تخم‌گذار، کمیت و کیفیت تولید تخم‌مرغ اهمیت اقتصادی بالایی دارد که در این زمینه سن کاهش تولید تخم‌مرغ و کیفیت پوسته از عوامل اصلی موثر بر سودآوری در این صنعت هستند (Netherwood et al., 1999). جهت پیشگیری از مشکلات مربوط به سن و تولید مرغ‌های تخم‌گذار توصیه می‌شود از ترکیبات معدنی و مواد افزودنی در جیره‌ی مرغان تخم‌گذار استفاده شود (Ergin et al., 2009). در راستای دستیابی به این هدف، شناسایی و معرفی منابع جدید خوراک دام و طیور از ضروری‌ترین مسائل می‌باشد. بنابراین، استفاده از منابع غذایی موجود خصوصاً پس‌مانده‌ها و ضایعات زراعی و صنعتی می‌تواند از مهمترین برنامه‌ها باشد. از سویی دیگر با وجود اثرات مثبت آنتی‌بیوتیک‌ها بر تولید، به‌دلیل پیدایش سویه‌های باکتریایی مقاوم، استفاده از آنها در صنعت طیور با محدودیت‌هایی مواجه شده است. در سال ۲۰۰۶ استفاده از تمامی آنتی‌بیوتیک‌های یر درمانی در خوراک دام و طیور توسط اتحادیه اروپا ممنوع اعلام شد. افزایش آگاهی در میان مصرف‌کنندگان و تقاضا برای تولید محصولات عاری از آنتی‌بیوتیک، تولیدکنندگان و متخصصان را بر آن داشت تا به‌دنبال جایگزین‌های مناسبی

برای ترکیبات آنتی‌بیوتیکی باشند (Yalçın et al., 2006). به‌عنوان مثال ویرجینیامایسین به‌طور اختصاصی روی باکتری‌های گرم مثبت اثر دارد و همانند سایر آنتی‌بیوتیک‌ها باعث تغییر در فلور میکروبی روده می‌گردد. این عمل با جلوگیری از سنتز پروتئین در داخل میکروارگانیسم‌ها که با تکثیر آنها جداره روده ضخیم می‌گردد، انجام می‌شود، بدین ترتیب جداره روده به حالت عادی بازگشته، جذب مواد غذایی بهتر و بیشتر انجام می‌گردد و در نتیجه ضریب تبدیل غذایی کاهش می‌یابد. ویرجینیامایسین سبب نقصان تولید اسیدلاکتیک، اسیدهای چرب فرار، آمونیاک و آمین‌ها توسط میکروب شده و در نتیجه از اثرات سمی آنها می‌کاهد. با کند نمودن حرکات دستگاه گوارش موجب جذب بیشتر پروتئین، چربی و کربوهیدرات‌ها می‌گردد. باتوجه به پیدایش سویه‌های مقاوم در بسیاری از مطالعات انواع مختلفی از افزودنی‌های خوراکی را مورد بررسی قرار می‌دهند و در بین این افزودنی‌ها، مواد هیومیک به‌عنوان یکی از جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در جیره دام و طیور مورد استفاده قرار گرفته است اجزای فعال مواد هیومیک، هوموس، اولمیک اسید، فولویک اسید، هیومین و برخی میکروالمنت‌های خاص است. هیومیک اسید به‌طور گسترده به‌عنوان یک محرک رشد جایگزین

جوجه‌های گوشتی داشت (Taklimi et al., 2012). اگرچه رشد پرزها به‌طور کلی به مواد سمی، pH و میکروفلور روده بستگی دارد، اسید هیومیک پتانسیل کاهش pH و تعداد باکتری‌های بیماری‌زا در روده را دارد. بنابراین، اسید هیومیک می‌تواند تأثیر مطلوبی بر عملکرد طیور از طریق تغییر اکوسیستم دستگاه گوارش داشته باشد (Taklimi et al., 2012). بنابراین با توجه مطالب گفته شده، این مطالعه به‌منظور مقایسه‌ی اثر سطوح مختلف مکمل ورمی‌هوموس و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر عملکرد، خصوصیات کیفی تخم، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون و جمعیت میکروفلور روده‌ی باریک بلدرچین تخم‌گذار در دوره‌ی تولید انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌مدت ۸ هفته با استفاده از ۱۶۰ قطعه بلدرچین ژاپنی با میانگین وزن ۲۳۰ گرم در سن دو ماهگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار، ۴ تکرار و ۵ قطعه پرنده در هر قفس انجام شد. به‌منظور عادت دهی و تشخیص تخم‌گذاری بلدرچین‌های ماده موجود در هر قفس، پس از طی دوران تطبیق‌پذیری به‌مدت دو هفته از مکمل ورمی‌هوموس تغذیه شده و تعداد تخم بلدرچین‌های موجود در هر قفس ثبت شد. تمام شرایط پرورش از لحاظ دما، رطوبت و تهویه به‌طور استاندارد و تحت کنترل بود. پرندگان در تمام مدت دوره‌ی پرورش دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح (صفر درصد) (به‌عنوان تیمار شاهد، فاقد هر گونه افزودنی)، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵، ۲/۰ درصد ورمی‌هوموس و ۰/۰۷ (با توجه به توصیه شرکت تولید کننده) درصد آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین به‌عنوان محرک رشد) بود. نیازهای غذایی بلدرچین‌ها بر اساس سن آنها از جداول انجمن تحقیقات ملی (NRC, 1994) استخراج و جیره‌ی غذایی بر پایه‌ی ذرت و کنجاله سویا فرموله شد. ترکیب مواد تشکیل دهنده جیره و ورمی‌هوموس به‌ترتیب در جداول ۱ و ۲ آمده است.

### عملکرد تولید تخم بلدرچین درصد تخم‌گذاری

در این آزمایش تخم‌های تولید شده هر واحد آزمایشی به‌صورت روزانه و در یک ساعت مشخص (در حدود ساعت ۱۰-۱۲ قبل از ظهر) جمع‌آوری، شمارش، توزین و ثبت شدند. برای محاسبه‌ی درصد تولید تخم هر تکرار در هفته، تعداد کل تخم‌های تولید شده طی هر هفته بر تعداد بلدرچین‌های زنده موجود در آن هفته تقسیم شد و در عدد ۱۰۰ ضرب گردید و به این ترتیب درصد تولید تخم به‌صورت روز مرغ محاسبه شد (Francesch et al., 1995).

معادله ۱: تولید تخم به‌صورت روز مرغ (%) = (تعداد تخم تولید شده در یک روز ÷ تعداد مرغ‌های موجود در آن روز) × ۱۰۰

معادله ۲: مرغ روز = (مجموع تعداد روزهایی که بلدرچین‌های تلف شده، زنده بودند) + (تعداد بلدرچین‌های زنده در پایان هفته)

آنتی‌بیوتیک‌ها در بهبود سلامت و کارایی طیور استفاده شده است. علاوه بر این، اضافه کردن مواد هیومیک به جیره و آب آشامیدنی، سبب بهبود مصرف خوراک و، بازده خوراک و افزایش وزن جوجه‌های گوشتی و همچنین بهبود وزن تخم‌مرغ، توده تخم‌مرغ و تولید تخم‌مرغ در مرغ‌های تخم‌گذار شده است (Arif et al., 2019). ورمی‌هوموس یا فضولات کرم خاکی عبارت است از محصول نهایی تجزیه‌ی ماده‌ی آلی به وسیله‌ی کرم خاکی. این ماده در اثر عبور مداوم و آرام مواد آلی در حال پوسیدن (ضایعات کشاورزی و محصولات باغی) از دستگاه گوارش گونه‌هایی از کرم‌های خاکی (مانند *Eisenia fetida*) و دفع این مواد از بدن کرم، حاصل می‌شود (Khajavi et al., 2014). این مواد هنگام عبور از بدن کرم، به مخاط دستگاه گوارش (موکوس)، ویتامین‌ها و آنزیم‌ها آغشته می‌شوند. این ماده‌ی آلی علاوه بر این که حاوی مواد مغذی قابل جذب مانند نیترات، فسفات، کلسیم قابل تبادل، پتاسیم محلول و سایر مواد می‌باشد، حاوی مواد هیومیک (اسید هیومیک و اسید فولویک) می‌باشد، همچنین دارای سطح تماس مناسب و گسترده‌ای برای فعالیت‌های میکروبی و در نتیجه آماده‌سازی انواع مواد مغذی برای مصرف است. هرچند ترکیب بسیار پیچیده‌ی مواد هیومیکی به‌طور کامل شناسایی نشده است، اما در بررسی‌های ابتدایی سه بخش عمده در آن قابل شناسایی است: ۱) هیومیک اسید که در مواد قلیایی، محلول و در آب و اسید، نامحلول است. ۲) فولویک اسید که در آب، قلیا و اسید محلول می‌باشد. ۳) هیومین که در قلیا، اسید و آب نامحلول است (Pettit, 2004). برخی از مطالعات اثر استفاده از اسید هیومیک به‌عنوان یک محرک رشد را در طیور بررسی کردند و نتایج مثبتی به‌دست آوردند (Kamel et al., 2015; Sahin et al., 2016) که می‌تواند ایمنی پرندگان را تقویت کرده و انواع مختلف استرس را کاهش دهد (Islam et al., 2005). گزارش شده است که اسید هیومیک در جوجه‌های گوشتی قابلیت هضم روده‌ای انرژی و حفظ مواد مغذی را بهبود می‌بخشد (Gomez-Rosales and Angeles, 2015). علاوه بر این، اسید هیومیک می‌تواند به‌عنوان یک عامل ضد باکتری عمل کند و رشد قارچ را کاهش دهد و در نتیجه سطح توکسی‌ها را کاهش دهد (Islam et al., 2005). همچنین هیومیک اسید در سراسر جهان مورد توجه خاص قرار گرفته است و در صنعت کاربردهای وسیع و متنوعی دارد. به‌علاوه در تولید داروها و مکمل‌های دامی و نیز در تولید داروهای انسانی از این مواد بهره‌برداری می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که تغییر در ترکیب و ساختار مواد غذایی می‌تواند موجب افزایش تولید تخم‌مرغ در مرغ‌های دریافت کننده‌ی مکمل هیومات شود (J. Wang et al., 1991; Zhorina and Stepchenko, 2016). اسید هیومیک به‌عنوان یک افزودنی خوراکی در خوراک حیوانات گنجانده شده و یا به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک تغذیه‌ای در خوراک دام در نظر گرفته شده است (Islam et al., 2005). اسید هیومیک توانایی تغییر میکروفلور روده را با افزایش تعداد باکتری‌های مفید دارد (Schepetkin et al., 2003). اسید هیومیک تأثیر مهمی بر عمق کریپت در پرزهای رژنوم

## میانگین وزن تخم بلدرچین

برای تعیین میانگین وزن تخم هر گروه آزمایشی، تخم‌های هر گروه پس از جمع‌آوری با ترازو با دقت ۰/۱ گرم توزین شد. در پایان آزمایش وزن کل تخم تولیدی هر گروه آزمایشی

مشخص گردید. برای محاسبه‌ی میانگین وزن هر تخم در هر گروه آزمایشی از فرمول زیر استفاده شد.  
میانگین وزن تخم بلدرچین (گرم) = وزن کل تخم تولیدی در هر گروه آزمایشی (گرم) ÷ تعداد کل تخم تولیدی در هر گروه آزمایشی (گرم)

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی

Table 1. Components and chemical composition of experimental diet							
سطوح مورد استفاده از مکمل ورمی هوموس در جیره بلدرچین تخم‌گذار Levels used of Vermi-humus supplement in the diet of laying quail							
اجزای مواد خوراکی (درصد)	۰/۲۵ درصد	۰/۵۰ درصد	۱/۰۰ درصد	۱/۵۰ درصد	۲/۰۰ درصد	ویرجینیامایسین	Food components (%)
جیره پایه	۰/۲۵ درصد	۰/۵۰ درصد	۱/۰۰ درصد	۱/۵۰ درصد	۲/۰۰ درصد	ویرجینیامایسین	Basic ration
ذرت Corn	51.27	51.27	51.27	51.27	51.27	51.27	51.27
کنجاله سویا (۴۴ درصد) Soybean meal (44%)	30.49	30.49	30.49	30.49	30.49	30.49	30.49
گندم Wheat	6.10	6.10	6.10	6.10	6.10	6.10	6.10
روغن گیاهی Vegetable oil	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31	1.31
دی کلسیم فسفات DCP	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08	1.08
کربنات کلسیم Calcium carbonate	5.96	5.96	5.96	5.96	5.96	5.96	5.96
نمک طعام Salt	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31
مکمل ویتامینی* Vitamin premix	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی** Mineral premix	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
متیونین Methionine	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
ترئونین Threonine	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
ماسه Sand	2.00	1.50	1.00	0.75	0.50	0.25	0
ورمی هوموس Vermi-humus	0	0.50	1.00	1.50	2.00	2.00	0
ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی Chemical composition of food rations							
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری بر کیلوگرم) Metabolizable Energy (kcal/kg)	2750	2753	2755	2757	2760	2764	2750
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	18.96	18.99	19.00	19.03	19.01	19.12	18.96
کلسیم (درصد) Calcium (%)	2.37	2.37	2.37	2.37	2.37	2.37	2.37
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus (%)	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33
متیونین (درصد) Methionine (%)	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
متیونین + سیستین (درصد) Methionine + Cysteine (%)	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
لیزین (درصد) Lysine (%)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
ترئونین (درصد) Threonine (%)	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14

\* هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی ۳۶۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد ویتامین D3، ۷۲۰۰ واحد ویتامین E، ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین K3، ۷۱۰ میلی‌گرم ویتامین B1، ۲۶۴۰ میلی‌گرم ویتامین B2، ۳۹۲۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۱۱۸۸۰ میلی‌گرم ویتامین B5، ۱۱۷۶ میلی‌گرم ویتامین B6، ۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین B9، ۶ میلی‌گرم ویتامین B12، ۴۰ میلی‌گرم ویتامین بیوتین، ۲۰۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید بود.  
\*\* هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۳۹۶۸۰ میلی‌گرم منگنز، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۳۳۸۸۰ میلی‌گرم روی، ۴۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۳۹۶/۸ میلی‌گرم ید و ۸۰ میلی‌گرم سلنیوم بود

\*Each kilogram of vitamin premix contains 3600000 units of vitamin A, 800000 units of vitamin D3, 7200 units of vitamin E, 800 mg of vitamin K3, 710 mg of vitamin B1, 2640 mg of vitamin B2, 3920 mg of vitamin B3, 11880 mg of vitamin B5, 1176 mg of vitamin B6, 400 mg of vitamin B9, 6 mg of vitamin B12, 40 mg of vitamin biotin, and 200,000 mg of choline chloride.

\*\*Each kilogram of mineral premix contained 39680 mg of manganese, 20000 mg of iron, 33880 mg of zinc, 4000 mg of copper, 396.8 mg of iodine, and 80 mg of selenium.

جدول ۲- میزان ترکیبات شیمیایی مکمل ورمی‌هوموس

میزان	ترکیبات شیمیایی	مکمل ورمی‌هوموس
0.47	پتاسیم (درصد) Potassium (%)	704
0.56	پتاسیم هیدروکسید (درصد) Potassium hydroxide (%)	7.27
0.2	منیزیوم (درصد) Magnesium (%)	0.14
90	آهن (ppm) Iron (ppm)	58
250	منگنز (ppm) Manganese (ppm)	0.48
12.50	مس (ppm) Copper (ppm)	64.86
90	روی (ppm) Zinc (ppm)	43.32
1.87	هیومیک اسید (درصد) Humic acid (%)	8.97
<0.1	فولویک اسید (درصد) Fulvic acid (%)	0.7
	انرژی (کیلوکالری بر کیلوگرم) Energy (kcal/kg)	
	پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	
	چربی (درصد) Fat (%)	
	نیترژن آزاد (پی پی ام) Free nitrogen (ppm)	
	نمک (درصد) Salt (%)	
	خاکستر (درصد) ASH (%)	
	خاکستر نامحلول (درصد) Insoluble ash (%)	
	کلسیم (درصد) Calcium (%)	
	فسفر (درصد) Phosphorus (%)	

محل اتصال به سکوم جدا گردید و یک گرم مواد دفعی از محل ایلنوم برداشته و به ۵ سی سی محلول گلیسرین اضافه شد، سپس نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش میکروبی (آزمایشگاه علوم طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس) فریز شدند.

#### تعیین جمعیت میکروفلور روده‌ی باریک

برای تعیین جمعیت میکروفلور روده، یک گرم از محتویات بخش ایلنوم روده‌ی کوچک برداشته و با استفاده از بافر فسفات سالین (PBS) سری رقت به نسبت ۱ به ۱۰ تهیه گردید. سپس، شمارش باکتری‌های منتخب به روش قطره‌ای و محیط‌های کشت مناسب به شرح زیر انجام شد (Mathlouthi et al., 2002). باکتری‌های اسید لاکتیک در محیط کشت ام. آر. اس. آگار و باکتری‌های گرم منفی روده‌ای در محیط کشت مک کانکی آگار کشت گردیدند و از محیط کشت کی. اف استرپتوکوکوس آگار برای کشت استرپتوکوکوس‌ها استفاده شد. پرگنه‌های ظاهر شده پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس شمارش شدند.

#### فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون

برای تعیین پارامترهای بیوشیمیایی خون، پیش از کشتار از هر گروه آزمایشی ۴ پرنده به صورت تصادفی انتخاب و از ورید بال ۱ میلی لیتر خون گرفته شد و نمونه‌های سرم جهت بررسی پارامترهای بیوشیمیایی تهیه شد. غلظت‌های پروتئین تام، آلبومین، گلوکز، کلسترول و کلسیم موجود در نمونه‌های سرم خون با کیت‌های آزمایشگاهی و دستگاه اسپکتروفوتومتر (Jenway Genova MK3, UK) تعیین شد. اصول تمام اندازه‌گیری‌های فوق روش رنگ‌سنجی بود و با کیت‌های آزمایشگاهی شرکت پارس آزمون صورت گرفت (پارس آزمون، تهران، ایران).

#### اندازه‌گیری اکسیداسیون و کلسترول زرده

جهت تعیین کلسترول زرده ۱ گرم زرده‌ی تازه به ۹ میلی لیتر آب نمک ۲ درصد اضافه شد. نمونه‌ی حاصل به مدت دو ساعت روی دستگاه شیکر به شدت تکان داده شد. سپس یک میلی لیتر از نمونه‌ی زرده تخم‌مرغ رقیق شده با ۱۰ برابر آب مقطر، رقیق شد. یک میلی لیتر معرف آنزیمی و مقدار ۱۰ میکرولیتر نمونه با هم مخلوط شد. نمونه‌های حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از این مدت مقدار جذب

#### وزن توده‌ی تخم بلدرچین

برای محاسبه‌ی وزن توده‌ی تخم، درصد تولید در میانگین وزن تخم‌های تولیدی ضرب شد.

درصد تولید روزانه  $\times$  میانگین وزن تخم  
معادله ۴: بلدرچین (گرم) = وزن توده‌ی تخم بلدرچین (گرم در روز)

به منظور تعیین خوراک مصرفی، خوراک تخصیص داده شده در طول هفته و خوراک باقیمانده در پایان هفته توزین شده و میزان خوراک مصرفی از کسر نمودن خوراک باقیمانده از کل خوراک تخصیص داده شده در طول هفته محاسبه گردید. سپس با تقسیم نمودن آن بر تعداد روزهای هفته، میانگین مصرف روزانه خوراک برای هر بلدرچین تخم‌گذار محاسبه شد. ضریب تبدیل خوراک مصرفی به تولید تخم نشان دهنده‌ی میزان خوراک مصرفی جهت تولید یک کیلوگرم تخم می‌باشد که با استفاده از اعداد بدست آمده از محاسبه‌ی قبلی و از رابطه‌ی زیر بدست می‌آید.

معادله ۵: ضریب تبدیل غذایی = میانگین خوراک مصرفی روزانه هر بلدرچین (گرم)  $\div$  میانگین وزن توده تخم روزانه بلدرچین (گرم)

#### تعیین ویژگی‌های کمی و کیفی تخم بلدرچین

در این آزمایش تولید ۳ روز بلدرچین‌ها در سن ۲۴ هفتگی برای بررسی ویژگی‌های کمی و کیفی مورد ارزیابی قرار گرفت. ضخامت پوسته با دستگاه اندازه‌گیری ضخامت پوسته‌ی تخم‌مرغ (Ultrasonic Thickness Gauge, Japan)، ارتفاع سفیده و زرده توسط کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی متر، مقاومت پوسته با دستگاه دیجیتال اندازه‌گیری مقاومت پوسته‌ی تخم‌مرغ (Digital egg shell force gauge, Japan) تعیین گردید. برای محاسبه‌ی واحد IQU از فرمول مقابل استفاده شد (Genchev, 2012).

معادله ۶: 
$$IQU = 100 \times \log (h + 4.18 - 0.89897 \times EW^{0.6674})$$

در پایان آزمایش، پنج قطعه پرنده از هر تکرار آزمایشی به طور تصادفی انتخاب و پس از وزن کشی به روش جابجایی مهره گردن کشتار گردیدند. سپس دستگاه گوارش پرنده‌های کشتار شده خارج، قسمت ایلنوم به فاصله یک سانتی متر از

## نتایج و بحث عملکرد

نتایج مربوط به اثر مکمل‌سازی جیره با سطوح مختلف ورمی هوموس و ویرجینامایسین بر مقدار خوراک مصرفی، وزن تخم، تولید تخم، وزن توده‌ی تخم، ضریب تبدیل خوراک مصرفی بلدرچین‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. براساس نتایج، اثر هیچ‌کدام از تیمارها بر مقدار مصرف خوراک، وزن تخم‌مرغ تولید تخم‌مرغ وزن توده تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). با این حال، کمترین و بیش‌ترین مصرف خوراک به ترتیب در سطح ۱/۰ و ۱/۵ درصد ورمی هوموس و بیشترین وزن تخم‌های تولیدی مربوط به سطح ۰/۵۰ درصد ورمی هوموس بود ( $p > 0.05$ ). بالاترین و پائین‌ترین درصد تولید تخم به ترتیب در سطح ۱/۵ و ۰/۵ درصد مکمل ورمی هوموس دیده شد ( $p > 0.05$ ). وزن تخم‌مرغ تولیدی در سطح ۱/۵ درصد ورمی هوموس و وزن توده‌ی تخم تولیدی در سطح ۰/۲۵ درصد نسبت به سایر تیمارها بالاترین بود ( $p > 0.05$ ). در میان سطوح متفاوت مکمل ورمی هوموس بالاترین و پایین‌ترین ضریب تبدیل خوراک به ترتیب مربوط به جیره‌های حاوی ۱/۵ درصد و ۰/۷۵ درصد ورمی هوموس است ( $p > 0.05$ ).

گزارش شده است که مکمل‌سازی جیره با هیومات هیچ‌گونه تأثیری بر خوراک مصرفی مرغ‌های تخم‌گذار نداشت، اما موجب بهبود ضریب تبدیل غذایی، افزایش تولید تخم‌مرغ و کاهش مرگ و میر گردید (Yörük et al., 2004). سایر محققین نیز اثر مثبت افزودن سطوح مختلف هیومات به جیره‌ی مرغ‌های تخم‌گذار بر تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ و بازده خوراک (Kucukersan et al., 2004)، ضریب تبدیل خوراک (Hakan et al., 2012) و بهبود عملکرد جوجه گوستی (Kamel et al., 2015; Kocabağlı et al., 2002) را گزارش داده‌اند. بهبود در افزایش وزن و کاهش در ضریب تبدیل غذایی ناشی از مکمل‌سازی جیره با هیومات و هضم پروبیوتیک، احتمالاً مرتبط با فرآیندهای متابولیکی و هضم مواد مغذی می‌باشد (Yeo and Kim, 1997). مکانیسم اثر مکمل هیومات بر عملکرد طیور به‌طور کامل شناخته نشده است، اما به‌خوبی ثابت شده است که پروبیوتیک‌ها از طریق کاهش pH دستگاه گوارش، بهبود فلور میکروبی روده، فعالیت آنزیم‌های روده‌ای و هضم مواد مغذی موجب بهبود عملکرد می‌گردند (Celik et al., 2008). احمدی و کریمی ترشیزی (Ahmadi and Karimi Torshizi, 2016) گزارش کردند که در پایان دوره پرورش کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی به تیمار ۰/۶ درصد ورمی هوموس تعلق داشت که نسبت به تیمار آنتی‌بیوتیک معنی‌دار بود که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت ندارد. در برخی مطالعات نیز تولید تخم‌مرغ و پارامترهای کیفی پوسته‌ی تخم‌مرغ و میزان تلفات در مرغ‌ها تحت تأثیر افزودن مکمل هیومات در جیره‌ی غذایی قرار نگرفتند (Hayirli et al., 2005; Kucukersan et al., 2004; Yörük et al., 2004). تفاوت در نتایج، می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع پرند مورد آزمایش، تفاوت در سطوح مکمل ورمی هوموس مورد استفاده و مرحله‌ی فیزیولوژیکی آزمایش انجام شده باشد.

نوری عصاره زرده در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت و غلظت کلسترول در هر گرم زرده اندازه‌گیری شد.

برای بررسی اکسیداسیون تخم بلدرچین‌ها، تخم‌های جمع‌آوری شده در هفته آخر آزمایش به دو دسته تقسیم شدند. تخم‌های تازه به‌عنوان دسته اول (تازه) در نظر گرفته شدند. دسته دوم به مدت یک هفته در دمای یخچال نگهداری شد. سپس پراکسیداسیون چربی‌های زرده مورد ارزیابی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون چربی‌های زرده از آزمایش اسید تیوباریتوریک استفاده گردید. این آزمایش بر مقدار جذب نوری کمپلکس صورتی رنگ حاصل از واکنش یک مولکول مالون‌دی‌آلدئید با دو مولکول از TBA استوار است. مالون‌دی‌آلدئید محصول اصلی تجزیه‌ی هیدروپراکسیدهای چربی است. در این آزمایش MDA به‌عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون، توسط روش TBA که به‌وسیله‌ی بوستوگلو و همکاران (Botsoglou et al., 1994) شرح داده شده و با ایجاد تغییراتی مطابق با آنچه گالوبارت و همکاران (Galobart et al., 2001) انجام دادند اندازه‌گیری شد. یک گرم از نمونه‌ی زرده‌ی تخم‌مرغ در داخل لوله آزمایش ۲۵ میلی‌لیتری درپوش‌دار توزین شد. ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۸ درصد هیدروکسی تولوئن بوتیل (BHT) در هگزان اضافه شده، بلافاصله قبل از همگن کردن ۴ میلی‌لیتر از محلول آبی ۵ درصد تری کلرو استیک اسید (TCA) اضافه شد، مخلوط حاصله به مدت ۶۰ ثانیه با دور بالا ورتکس و سپس به مدت ۳ دقیقه در ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد، لایه‌ی فوقانی هگزان را دور ریخته و لایه‌ی آبی زیرین توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد. حجم مخلوط توسط TCA به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد، مقدار ۳ میلی‌لیتر TBA ۰/۸ درصد به مخلوط اضافه شد، مخلوط فوق به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۷۰ درجه سلسیوس نگهداری و سپس در حمام آب یخ به مدت ۷ دقیقه خنک شد. جذب نوری (Optical Density) مخلوط واکنش توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۱/۵ نانومتر خوانده شد و جذب نوری حاصل از دستگاه مورد مقایسه بین تیمارها قرار گرفت.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها و مدل آماری طرح

داده‌های به‌دست آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS، نسخه ۹/۱ (۲۰۰۳) در سطح احتمال ۰/۰۵ مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. مقایسه‌ی میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan Multiple Range Test) انجام گرفت و به‌منظور بررسی تابعیت‌های خطی و درجه دوم بین سطوح مختلف استفاده از ورمی هوموس و متغیرهای مورد بررسی از عبارت Contrast مربوط به رویه GLM استفاده شد (Institute, 2004).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  = مقدار هر مشاهده از تکرار  $i$ ام و تیمار  $j$ ام

$\mu$  = میانگین مشاهدات

$T_i$  = اثر تیمار  $i$ ام

$\varepsilon_{ij}$  = اشتباه آزمایشی

تخم‌گذار افزایش دهد و در عین حال باعث کاهش سطح کلسترول زرده تخم نیز می‌شود (Rath et al., 2006). مطالعات دیگر نیز نشان داده است که استفاده از اسید هیومیک در جیره غذایی بلدرچین تخم‌گذار می‌تواند باعث کاهش میزان اکسیداسیون و استرس اکسیداتیو در سلول‌های بدن آنها شود که این مسئله می‌تواند منجر به افزایش عمر مفید و بهبود سلامت کلی آنها شود (Yalçın et al., 2006).

مطالعه‌ای با عنوان تأثیر مکمل کردن اسید هیومیک در جیره غذایی بر عملکرد و ویژگی‌های تخم، پارامترهای خونی، کلسترول زرده تخم و پاسخ ایمنی هومورال در بلدرچین‌های تخم‌گذار مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داد که استفاده از اسید هیومیک می‌تواند بهبود عملکرد تخم‌گذاری، ویژگی‌های تخم و پاسخ ایمنی هومورال را در بلدرچین‌های

جدول ۳- تأثیر سطوح متفاوت ورمی‌هوموس بر عملکرد بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار  
Table 3. The effect of different levels of Vermi-humus on the performance of laying Japanese quail

ضریب تبدیل غذایی	وزن توده تخم (گرم/ روز مرغ)	تولید تخم (درصد)	وزن تخم (گرم)	مصرف خوراک (گرم)	سطح ورمی‌هوموس (درصد)
Feed conversion ratio	Egg mass weight (grams/hen day)	Egg production (%)	Egg weight (grams)	Feed consumption (grams)	Levels of Vermi-humus (%)
2.93	10.94	87.2	12.5	31.9	0
2.76	11.57	88.2	11.13	31.6	0.25
2.95	11.20	83.9	13.04	31.8	0.50
2.75	11.39	91.1	12.51	31.2	0.75
2.83	10.91	87.1	12.52	30.5	1.00
2.96	11.52	92.7	12.42	34.0	1.5
2.79	11.41	90.1	12.65	31.7	2.00
2.88	11.44	89.9	12.73	32.9	Virginiamycin
0.43	0.27	0.1	0.59	0.35	P-value
0.03	0.09	0.66	0.09	0.31	SEM
مقایسه مستقل					
Contrast					
0.50	0.8	0.60	0.51	0.21	Linear
0.8	0.13	0.68	0.18	0.56	Quadratic

SEM: Standard error of the mean

از اوج دوره‌ی تولید تخم، جلوگیری کند (Schepetkin et al., 2003). مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از اسید هیومیک در جیره غذایی بلدرچین تخم‌گذار، می‌تواند بهبود فاکتورهای کیفی تخم آنها را ایجاد کند. گزارش شده است که افزایش سطح اسید هیومیک در جیره غذایی بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار، می‌تواند باعث افزایش وزن تخم، ضخامت پوسته تخم و مقاومت آن در برابر شکستگی شود. همچنین، میزان کلسترول و LDL در تخم‌ها با مصرف اسید هیومیک کاهش می‌یابد، که می‌تواند برای بهبود سلامتی افراد مصرف‌کننده تخم بلدرچین نیز مفید باشد (Maysa and Sheikh, 2008). مطالعه‌ی دیگری در رابطه با اثرات اسید هیومیک بر فاکتورهای کیفی تخم بلدرچین ژاپنی مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه، ۲۴۰ قطعه تخم بلدرچین ژاپنی با وزن و حجم مشابه انتخاب شدند و به‌صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه اول که به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد، تنها غذای پایه را دریافت کردند، در حالی که گروه‌های دیگر به‌ترتیب ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد اسید هیومیک به جیره‌شان اضافه شد.

گزارش شده است که استفاده از اسید هیومیک باعث افزایش وزن تخم، ضخامت پوسته تخم و درصد پوسته تخم می‌شود. همچنین، استفاده از این ماده باعث کاهش میزان کلسترول تخم و افزایش مقدار کلسیم شده است. گزارش شده است که استفاده از اسید هیومیک می‌تواند سبب بهبود کیفیت تخم بلدرچین ژاپنی شود (Macit et al., 2021).

### کیفیت تخم

اثر مکمل‌سازی جیره با سطوح مختلف ورمی‌هوموس و ویرجینامایسین بر ضخامت پوسته، استحکام پوسته، ارتفاع سفیده، درصد زرده، درصد سفیده و درصد پوسته تخم بلدرچین در جدول ۳ نشان داده شده است. طبق نتایج به‌دست آمده اثر سطوح مختلف مکمل ورمی‌هوموس تنها بر ارتفاع سفیده و واحد IQU معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). اما در میان سایر فاکتورهای مورد بررسی تفاوتی از لحاظ آماری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). تیمار ویرجینامایسین دارای کم‌ترین ضخامت و استحکام پوسته در میان تیمارهای اعمالی بود، هرچند تفاوت‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند. ارتفاع سفیده و واحد IQU در گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود ( $P > 0.05$ ). بیشترین و کمترین درصد زرده به‌ترتیب مربوط به سطح ۰/۷۵ درصد و ۰/۲۵ درصد ورمی‌هوموس بود. همچنین بالاترین درصد سفیده در میان گروه‌های مختلف آزمایشی در سطح ۱/۵ درصد و کم‌ترین درصد سفیده در سطح ۰/۵۰ درصد ورمی‌هوموس مشاهده شد. در این آزمایش بیش‌ترین درصد پوسته در سطح ۰/۷۵ و کم‌ترین آن مربوط به آنتی‌بیوتیک ویرجینامایسین بود. پارامترهای کیفی تخم‌مرغ با گنجاندن مکمل هیومات در جیره‌ی غذایی مرغان تخم‌گذار تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد (Hayirli et al., 2005; Yörük et al., 2004). اما با توجه به توانایی هیومات در اتصال با مواد در محیط‌های خاص و انتشار این مواد تحت شرایط مختلف محیطی، ممکن است از کاهش کیفیت پوسته‌ی تخم‌مرغ پس

جدول ۴- تأثیر سطوح متفاوت ورمی هوموس بر کیفیت تخم بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار

Table 4. The effect of different levels of vermi-humus on egg quality of laying Japanese quail

واحد IQU	وزن نسبی آلبومن (گرم)	وزن نسبی پوسته (گرم)	وزن نسبی زرده (گرم)	ارتفاع سفیده (میلی متر)	استحکام پوسته (کیلوگرم)	ضخامت پوسته (میلی متر)	سطح ورمی هوموس (درصد)
IQU unit	Relative weight of albumen (grams)	Relative weight of the shell (grams)	Relative weight of yolk (gram)	Albumen height (mm)	Shell strength (kg)	Shell thickness (mm)	Levels of Vermi-humus (%)
62.92 <sup>a</sup>	63.18	8.71	30.22	5.24 <sup>a</sup>	1.029	0.2205	0
62.99 <sup>a</sup>	62.61	8.72	30.10	4.97 <sup>ab</sup>	1.00	0.2187	0.25
59.90 <sup>ab</sup>	63.27	8.38	30.80	4.57 <sup>ab</sup>	0.977	0.2198	0.50
57.58 <sup>ab</sup>	67.18	8.95	31.40	4.31 <sup>b</sup>	1.031	0.2211	0.75
57.50 <sup>ab</sup>	63.45	8.66	30.60	4.26 <sup>b</sup>	1.033	0.2188	1.00
۶۰/۷۸ <sup>ab</sup>	62.29	8.97	30.22	4.68 <sup>ab</sup>	1.257	0.2194	1.5
57.51 <sup>ab</sup>	60.99	8.89	31.30	4.25 <sup>b</sup>	1.151	0.2184	2.00
55.08 <sup>b</sup>	60.62	8.54	31.00	4.13 <sup>b</sup>	0.968	0.2179	Virginiamycin
0.05	0.62	0.40	0.37	0.01	0.15	0.93	P-value
0.71	0.67	0.06	0.28	0.09	0.01	0.001	SEM
مقایسه مستقل							
Contrast							
0.0005	0.89	0.52	0.38	0.001	0.87	0.72	Linear
0.33	0.60	0.74	0.62	0.42	0.43	0.67	Quadratic

SEM: Standard error of the mean

بیشترین و کمترین مقدار کلسترول سرم خون به ترتیب در تیمار ۰/۲۵ و ۲ درصد ورمی هوموس مشاهده شد. اسید هیومیک یک ترکیب آلی است که در برخی از جیره‌های حاوی گیاهان خوراکی استفاده می‌شود و می‌تواند تأثیرات متعددی بر روی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون حیوانات داشته باشد. در مورد بلدرچین تخم‌گذار، تحقیقات نشان داده‌اند که استفاده از اسید هیومیک در جیره می‌تواند به کاهش سطح کلسترول، تری‌گلیسرید و سطح اسید اوریک در سرم خون بلدرچین تخم‌گذار منجر شود (Yalçın et al., 2006).

به‌علاوه، برخی تحقیقات نشان داده‌اند که اسید هیومیک می‌تواند سطح هورمون رشد (GH) و هورمون لوتئینیزه را در بلدرچین تخم‌گذار افزایش دهد که می‌تواند بهبود رشد و تولید مثل در این پرندگان را تسریع کند.

در کل، استفاده از اسید هیومیک در جیره بلدرچین تخم‌گذار می‌تواند تأثیرات مثبتی بر روی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون داشته باشد که می‌تواند به بهبود سلامت و عملکرد این پرندگان کمک کند (Pettit, 2004).

### فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون

اثر مکمل‌سازی جیره با سطوح مختلف ورمی هوموس و ویرجینامایسین بر پروتئین تام، آلبومین، کلسیم، کلسترول و گلوکز در جدول ۵ نشان داده شده است. میزان پروتئین و آلبومین سرم بلدرچین‌های تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف ورمی هوموس و ویرجینامایسین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. با این حال بالاترین میزان پروتئین در گروه مصرف‌کننده جیره‌ی حاوی ویرجینامایسین و پایین‌ترین میزان در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین بیشترین و کمترین میزان آلبومین سرم به ترتیب در تیمار ۰/۲۵ درصد و ۰/۵۰ درصد ورمی هوموس مشاهده شد. تأثیر تیمارهای آزمایشی بر کلسیم سرم نیز معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). بیشترین و کمترین میزان کلسیم سرم به ترتیب مربوط به پرندگان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۰/۵ و ۱/۰ درصد ورمی هوموس مشاهده شد. افزایش میزان کلسیم سرم در پرندگان تغذیه شده با جیره‌ی حاوی اسید هیومیک گزارش شده است (Avci et al., 2007). اثر ورمی هوموس جیره بر میزان کلسترول سرم از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ).

جدول ۵- اثر سطوح متفاوت مکمل ورمی هوموس بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار

Table 5. Effects of different levels of vermi-humus on the blood biochemical parameters of laying Japanese quail

گلوکز (میلی‌گرم / دسی لیتر)	کلسترول (میلی‌گرم / دسی لیتر)	کلسیم (میلی‌گرم / دسی لیتر)	آلبومین (گرم / دسی لیتر)	پروتئین تام (گرم / دسی لیتر)	سطح ورمی هوموس (درصد)
Glucose (mg/dL)	Cholesterol (mg/dL)	Calcium (mg/dL)	Albumin (g/dL)	Total protein (g/dL)	Levels of Vermi-humus (%)
177.28	263.74	13.94	4.24	5.00	0
168.02	265.60	13.19	4.52	5.29	0.25
165.52	247.56	14.78	3.89	5.17	0.50
163.35	248.72	14.64	4.06	5.45	0.75
163.50	254.02	13.14	4.00	5.08	1.00
164.16	243.08	13.73	4.01	5.16	1.5
163.87	239.01	14.31	4.07	5.44	2.00
169.18	246.29	13.43	4.04	5.00	Virginiamycin
0.80	0.06	0.11	0.81	0.67	P-value
2.03	3.51	0.19	0.09	0.06	SEM
مقایسه مستقل					
Contrast					
0.12	0.67	0.92	0.33	0.61	Linear
0.43	0.02	0.09	0.91	0.23	Quadratic

a-b-c: non-synonymous letters in each column indicate a significant difference at the 95% confidence level

مختلف متفاوت بود و برخی کاهش (Dierick, 1989) و برخی افزایش (Hayirli et al., 2005) گلوکز خون را گزارش داده‌اند. مشابه با نتایج این آزمایش، برخی دیگر از محققین نیز

اثر سطوح مختلف مکمل ورمی هوموس بر میزان گلوکز سرم خون پرندگان معنی‌دار نبود. نتایج حاصل از اثر مکمل‌سازی جیره با ورمی هوموس بر گلوکز خون در آزمایشات

گردید ( $p < 0.01$ ). بیشترین و کمترین تعداد باکتری‌های استرپتوکوکوس به ترتیب مربوط به سطح ۱/۰ درصد و ۰/۲۵ درصد ورمی‌هوموس بود. تعداد کل باکتری‌های هوازی در سطح ۱/۰ درصد ورمی‌هوموس بیشترین و در سطح ۰/۲۵ درصد ورمی‌هوموس کمترین تعداد را داشتند. بیشترین تعداد کلی‌فرم‌ها در سطح ۱/۵ درصد و کمترین تعداد آنها نیز در سطح ۰/۲۵ درصد مشاهده شد. براساس گزارش شده است که اسید هیومیک موجب کاهش رشد باکتری‌های مضر می‌شود (Islam et al., 2005). مکمل هیومات ممکن است با تغییر فلور دستگاه گوارش (Yalçın et al., 2006) سبب جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا (Ehrmann et al., 2002) و افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن (Boka et al., 2014) گردد. اما برخی محققین افزایش جمعیت اشرشیاکلی در دستگاه گوارش پرندگان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۰/۵ و ۱ درصد هیومات را گزارش داده‌اند (Schepetkin et al., 2003). اسید هیومیک دارای ویژگی‌هایی است که می‌تواند به بهبود هضم و جذب غذا کمک کند. به‌عنوان مثال، اسید هیومیک باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌شود که باعث هضم بهتر مواد غذایی می‌شوند. همچنین، اسید هیومیک می‌تواند باعث جذب بیشتر عناصر مغذی مانند روی، مس، آهن و کلسیم شود (Aristimunha et al., 2020).

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که اسید هیومیک می‌تواند اثرات متنوعی بر روی باکتری‌های دستگاه گوارش بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار داشته باشد. گزارش شده است که مصرف اسید هیومیک می‌تواند باعث افزایش تعداد باکتری‌های مفید مانند *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* در دستگاه گوارش بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار شود و در عین حال می‌تواند باعث کاهش تعداد باکتری‌ها مانند *Salmonella* و *E. coli* نیز شود (Aristimunha et al., 2020).

مطالعات نشان داده‌اند که اسید هیومیک می‌تواند تأثیرات مثبتی بر روی باکتری‌های اسید لاکتیک (Lactic Acid Bacteria) در دستگاه گوارش بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار داشته باشد (Yalçın et al., 2006). در یک مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۹، تأثیر اسید هیومیک بر باکتری‌های اسید لاکتیک دستگاه گوارش بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار بررسی شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف اسید هیومیک می‌تواند باعث افزایش تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک مفید در دستگاه گوارش بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار شود (Arif et al., 2019). با این حال، تأثیرات اسید هیومیک بر باکتری‌ها و دستگاه گوارش به‌شدت وابسته به شرایط و محیط زیست مختلف است. بنابراین، برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر درباره تأثیرات ورمی‌هوموس حاوی اسید هیومیک بر باکتری‌های دستگاه گوارش، نیازمند تحقیقات بیشتر می‌باشد.

گزارش دادند که مکمل هیومات و ال کارنیتین تأثیری بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون (پروتئین تام، تری‌گلیسرید، کلسترول و ...) مرغ‌های تخم‌گذار ندارد (Yalçın et al., 2006). برخلاف نتایج این تحقیق، مکمل‌سازی جیره جوجه گوشتی با اسید هیومیک موجب کاهش غلظت سرمی گلوکز، آلبومین، کلسیم، فسفر، کراتینین کیناز، و نیترژن اورهای خون (Hakan et al., 2012) و افزایش سطح پروتئین تام و کاهش تری‌گلیسرید سرم و غلظت VLDL (Hayirli et al., 2005) گردید.

کاهش سطح گلوکز، آلبومین، کلسیم، فسفر و کراتینین کیناز و نیترژن اورهای خون در بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار ممکن است به دلایل مختلفی باشد از جمله: بیماری‌های قلبی-عروقی؛ بیماری‌هایی مانند آترواسکلروز، افزایش فشار خون و بیماری‌هایی که باعث ایجاد پلاک‌های چربی در شرایین می‌شوند، می‌توانند منجر به کاهش سطح گلوکز، آلبومین و کلسیم در خون شوند. از سویی دیگر، افزایش مصرف پروتئین‌ها، کاهش مصرف چربی‌ها و کربوهیدرات‌های ساده می‌تواند منجر به افزایش سطح پروتئین تام و کاهش تری‌گلیسرید سرم و غلظت VLDL در بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار شود. با توجه به اینکه بلدرچین‌های تخم‌گذار حاضر در این آزمایش در قفس نگهداری می‌شدند یکی از دلایلی که می‌تواند بر غلظت متابولیت‌های سرم خون تأثیرگذار باشد تراکم پرندوها در قفس می‌باشد که با تغییر در متابولیسم مواد مغذی و افزایش فعالیت سیستم ایمنی همراه است. کاهش گلوکز سرم خون می‌تواند به تفاوت‌های حیوانی، جیره و سطوح مورد استفاده مکمل ورمی‌هوموس ارتباط داشته باشد، همچنین با توجه به اینکه اسید هیومیک دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد از این طریق سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کبد را تقویت و از بالا رفتن گلوکز خون جلوگیری کرده است. اسید هیومیک موجود در ورمی‌هوموس از تشکیل رادیکال‌های آزاد پراکسیداسیون جلوگیری کرده و با کاهش استرس اکسیداتیو و تأثیر بر انسولین موجب کاهش گلوکز خون گردیده است. از سویی دیگر کاهش گلوکز سرم خون می‌تواند در موارد گرسنگی شدید و طولانی یا بد غذایی مانند هیپوویتامینوز A، جیره غنی از پروتئین، جیره‌های حاوی اوره، و بیماری‌های کبد رخ می‌دهد. بنابراین تنوع نتایج می‌تواند مربوط به تفاوت در سن، جنس، سطح تغذیه، بیماری، ترکیب مواد مغذی، شرایط محیطی، سطوح مکمل ورمی‌هوموس در جیره‌ی غذایی و مدت زمان مصرف مکمل باشد.

#### جمعیت میکروفلور روده‌ی باریک

براساس نتایج موجود در جدول ۶ اثر ورمی‌هوموس بر جمعیت میکروفلور روده‌ی بلدرچین از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). کم‌ترین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در سطح ۰/۲۵ درصد ورمی‌هوموس و بیشترین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در سطح ۰/۷۵ درصد ورمی‌هوموس مشاهده

جدول ۶- اثر سطوح متفاوت مکمل ورمی هوموس بر جمعیت میکروفلور روده (Log CFUg -1) بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار  
Table 6. Effect of different levels of vermi-humus supplementation on intestinal microflora population (Log CFUg -1) of laying Japanese quail

استرپتوکوک‌ها Streptococcus bacteria	باکتری‌های اسید لاکتیک Lactic acid bacteria	کل باکتری‌های هوایی Total aerobic bacteria	کلی‌فرم‌ها Coliforms	سطح ورمی هوموس (درصد) Levels of Vermi-humus (%)
7.53 <sup>ab</sup>	5.34 <sup>d</sup>	7.53 <sup>cb</sup>	6.41 <sup>a</sup>	0
6.52 <sup>b</sup>	5.28 <sup>d</sup>	6.25 <sup>e</sup>	4.60 <sup>f</sup>	0.25
6.56 <sup>b</sup>	6.32 <sup>c</sup>	7.29 <sup>cd</sup>	4.81 <sup>c</sup>	0.50
7.88 <sup>a</sup>	7.92 <sup>a</sup>	7.29 <sup>cd</sup>	5.17 <sup>bc</sup>	0.75
8.33 <sup>a</sup>	7.28 <sup>b</sup>	7.99 <sup>a</sup>	6.15 <sup>ab</sup>	1.00
7.65 <sup>ab</sup>	5.75 <sup>d</sup>	7.62 <sup>b</sup>	7.41 <sup>a</sup>	1.5
8.28 <sup>a</sup>	7.24 <sup>a</sup>	7.06 <sup>d</sup>	7.03 <sup>a</sup>	2.00
7.93 <sup>ab</sup>	6.79 <sup>bc</sup>	6.28 <sup>e</sup>	6.58 <sup>a</sup>	Virginiamycin
0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	P-value
0.13	0.17	0.11	0.19	SEM
مقایسه مستقل Contrast				
0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	Linear
0.0001	0.32	0.0001	0.13	Quadratic

<sup>a-b-c</sup>: non-synonymous letters in each column indicate a significant difference at the 95% confidence level

همچنین بررسی تأثیر مکمل‌های غذایی مانند اسید هیومیک بر آنها مورد استفاده قرار گیرد.

در مطالعه‌ای که در مورد بلدرچین ژاپنی صورت گرفت، بلدرچین‌هایی که با مقادیر مختلف اسید هیومیک تغذیه شده بودند، با گروه کنترل مقایسه شدند. نتایج نشان داد که مصرف اسید هیومیک، میزان MDA را در تخم‌های بلدرچین‌ها کاهش داده است. این نتایج نشان می‌دهد که اسید هیومیک به‌عنوان یک مکمل غذایی می‌تواند به کاهش استرس اکسیداتیو در بلدرچین‌ها کمک کند (Shermer et al., 1998).

علاوه بر این، مصرف اسید هیومیک نیز می‌تواند بهبود کیفیت تخم‌های بلدرچین ژاپنی را افزایش دهد. این بهبود کیفیت تخم‌ها شامل عواملی مانند افزایش وزن تخم، افزایش ضخامت پوسته تخم و کاهش میزان پوسته شکنی بوده است (Hrnčár et al., 2020).

میزان کلسترول زرده در سطح ۱/۵ درصد مکمل ورمی هوموس نسبت به گروه کنترل کمتر بود هرچند تفاوت‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند ( $p < 0.05$ ) به‌طور مشابه یاکین و همکاران (Yağın et al., 2006) نیز گزارش کردند که اسید هیومیک موجب کاهش میزان کلسترول زرده‌ی تخم‌مرغ گردید. احتمالاً اسید هیومیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، تشکیل رادیکال‌های آزاد را محدود می‌نماید. سازوکار عمل ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی در کاهش لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها، از طریق مهار بیوسنتز کلسترول و افزایش تبدیل کلسترول به اسیدهای صفراوی، همچنین افزایش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز است. به این ترتیب غلظت کلسترول که از اجزای تشکیل‌دهنده لیپوپروتئین‌ها است کاهش می‌یابد و به‌دنبال آن سنتز لیپوپروتئین‌ها نیز کاهش می‌یابد (Q. Wang et al., 2008).

### اندازه‌گیری میزان اکسیداسیون و کلسترول زرده

اثر مکمل‌سازی جیره با سطوح مختلف ورمی هوموس و ویرجینامایسین بر میزان اکسیداسیون زرده تازه یا زرده نگهداری شده و کلسترول زرده در جدول ۷ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که MDA در زرده تخم بلدرچین تازه و نگهداری شده تحت تأثیر سطوح متفاوت ورمی هوموس قرار گرفت ( $p < 0.05$ ). به‌نحوی که بیشترین میزان اکسیداسیون زرده‌ی نگهداری شده مربوط به سطح ۱ درصد ورمی هوموس و کمترین میزان اکسیداسیون مربوط به سطح ۰/۵ درصد ورمی هوموس بود. با توجه به مطالعات انجام شده، مصرف اسید هیومیک به‌عنوان یک مکمل غذایی برای پرندگان، سبب بهبود رشد و افزایش سلامت پرندگانه می‌شود. در یک مطالعه انجام شده بر روی بلدرچین ژاپنی، تأثیر اسید هیومیک بر کیفیت تخم‌های آنها مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو، در تخم‌های آنها اندازه‌گیری شد. گزارش شده است که مصرف اسید هیومیک، میزان MDA را در تخم‌های بلدرچین‌ها کاهش داده و باعث بهبود کیفیت تخم‌های آنها شده است (Kalafova et al., 2018).

بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که مصرف اسید هیومیک به‌عنوان یک مکمل غذایی می‌تواند بهبود کیفیت تخم‌های بلدرچین ژاپنی را افزایش دهد و احتمالاً می‌تواند به کاهش استرس اکسیداتیو در آنها کمک کند. اما برای تأیید این نتایج، به مطالعات بیشتری نیاز است. MDA یکی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو است که در مواجهه با فرآیندهایی مانند استرس گرمایی، نور، آلودگی محیط و ... افزایش می‌یابد. بنابراین، اندازه‌گیری میزان MDA در تخم‌ها، می‌تواند به‌عنوان یک شاخص برای ارزیابی استرس اکسیداتیو در بلدرچین‌ها و

جدول ۷- اثر سطوح متفاوت مکمل ورمی‌هوموس بر اکسیداسیون و کلسترول زرده تخم بلدرچین ژاپنی تخم‌گذار  
Table 7. The effect of different levels of Vermi-humus supplement on oxidation and cholesterol of egg-yolk of laying Japanese quail

سطح ورمی‌هوموس (درصد)	اکسیداسیون زرده تازه (میکروگرم بر گرم)	اکسیداسیون زرده نگهداری شده (میکروگرم بر گرم)	کلسترول زرده (میلی‌گرم در گرم زرده)
Levels of Vermi-humus (%)	Fresh yolk oxidation (µg/g)	Oxidation of stored yolk (µg/g)	Yolk Cholesterol (mg/gram of yolk)
0	0.18 <sup>bc</sup>	0.23 <sup>bc</sup>	10.32 <sup>ab</sup>
0.25	0.22 <sup>a</sup>	0.23 <sup>bc</sup>	10.31 <sup>ab</sup>
0.50	0.15 <sup>c</sup>	0.16 <sup>c</sup>	10.79 <sup>a</sup>
0.75	0.22 <sup>a</sup>	0.24 <sup>ab</sup>	9.95 <sup>b</sup>
1.00	0.24 <sup>a</sup>	0.26 <sup>a</sup>	9.97 <sup>b</sup>
1.5	0.18 <sup>bc</sup>	0.24 <sup>ab</sup>	9.81 <sup>b</sup>
2.00	0.19 <sup>b</sup>	0.22 <sup>c</sup>	10.13 <sup>b</sup>
Virginiamycin	0.18 <sup>bc</sup>	0.21 <sup>c</sup>	9.96 <sup>b</sup>
P-value	0.006	0.003	0.07
SEM	0.0001	0.0001	0.03
مقایسه مستقل			
Contrast			
Linear	0.002	0.001	0.09
Quadratic	0.03	0.0001	0.08

<sup>a-b-c</sup>: non-synonymous letters in each column indicate a significant difference at the 95% confidence level

### نتیجه‌گیری کلی

آنتی‌اکسیدانی زرده تخم و کاهش جمعیت میکروبی غیرمطلوب در روده باریک شد. در مجموع، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مکمل ورمی‌هوموس به‌عنوان یک ماده غذایی طبیعی می‌تواند برای بهبود عملکرد تولید، کیفیت تخم و سلامت روده بلدرچین‌های تخم‌گذار مفید باشد و همچنین به‌صورت مؤثری جمعیت میکروبی مضر روده باریک بلدرچین را کاهش داده و از این طریق سبب بهبود عملکرد و افزایش بازدهی تولید شود.

به‌طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مصرف ورمی‌هوموس به‌عنوان مکمل در سطوح ۰/۷۵ و ۱/۵ درصد، باعث بهبود عملکرد و افزایش وزن تخم و بهبود خصوصیات کیفی تخم بلدرچین ژاپنی گردید. همچنین، مصرف ورمی‌هوموس در سطح ۰/۵ درصد باعث بهبود وضعیت

### منابع

- Ahmadi, M., & Karimi Torshizi, M. A. (2016). Effects of dietary vermi-humus in comparison to virginiamycin on performance and small intestinal morphometric parameters in Japanese Quails. *Research on Animal Production*, 7(13), 86-77. (In Persian).
- Arif, M., Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Saeed, M., Arain, M. A., & Elnesr, S. S. (2019). Humic acid as a feed additive in poultry diets: A review. *Iranian journal of veterinary research*, 20(3), 167.
- Aristimunha, P. C., Mallheiros, R. D., Ferket, P. R., Cardinal, K. M., Moreira Filho, A. L. D. B., Santos, E. T., ... & Ribeiro, A. M. L. (2020). Effect of dietary organic acids and humic substance supplementation on performance, immune response and gut morphology of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 29(1), 85-94.
- Avci, M., Denek, N., & Kaplan, O. (2007). Effects of humic acid at different levels on growth performance, carcass yields and some biochemical parameters of quails. *Journal of Animal and Veterinary Advances*.
- Boka, J., Mahdavi, A. H., Samie, A. H., & Jahanian, R. (2014). Effect of different levels of black cumin (*Nigella sativa* L.) on performance, intestinal *E. coli* colonization and jejunal morphology in laying hens. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 98(2), 373-383.
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J., & Trakatellis, A. G. (1994). Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(9), 1931-1937.
- Celik, K., Uzatici, A., & AKIN, A. (2008). Effects of dietary humic acid and *Saccharomyces cerevisiae* on performance and biochemical parameters of broiler chickens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3(5).
- Dierick, N. A. (1989). Biotechnology aids to improve feed and feed digestion: enzymes and fermentation. *Archives of Animal Nutrition*, 39(3), 241-261.
- Ehrmann, M. A., Kurzak, P., Bauer, J., & Vogel, R. F. (2002). Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. *Journal of applied microbiology*, 92(5), 966-975.
- Ergin, O., Isa, C., Nuh, O., & Guray, E. (2009). Effects of dietary humic substances on egg production and egg shell quality of hens after peak laying period. *African Journal of Biotechnology*, 8(6).
- Francesch, M., Perez-Verdrell, A. M., Esteve-Garcia, E., & Brufau, J. (1995). Enzyme supplementation of a barley and sunflower-based diet on laying hen performance. *Journal of Applied Poultry Research*, 4(1), 32-40.
- Galobart, J., Barroeta, A. C., Baucells, M. D., & Guardiola, F. (2001). Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with  $\omega 3$  and  $\omega 6$  polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. *Poultry Science*, 80(3), 327-337.
- Genchev, A. (2012). Quality and composition of Japanese quail eggs (*Coturnix japonica*). *Trakia Journal of Sciences*, 10(2), 91-101.
- Gomez-Rosales, S., & Angeles, M. D. L. (2015). Addition of a worm leachate as source of humic substances in the drinking water of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(2), 215.
- Hakan, K. B., Gultekin, Y., & Ozge, S. (2012). Effects of boric acid and humate supplementation on performance and egg quality parameters of laying hens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 14, 283-289.
- Hayirli, A., Esenbuğa, N., Macit, M., Yörük, M. A., Yıldız, A., & Karaca, H. (2005). Nutrition practice to alleviate the adverse effects of stress on laying performance, metabolic profile and egg quality in peak producing hens: II. The probiotic supplementation. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 18(12), 1752-1760.

- Hrnčár, C., Hanusová, E., Hanus, A., Capcarová, M., Kalafová, A., Arpášová, H., ... & Bujko, J. (2020). The Effect of Probiotic and Humic Acids on Internal and External Egg Quality of Japanese Quails. *Scientific Papers: Animal Science & Biotechnologies/Lucrari Stiintifice: Zootehnie si Biotehnologii*, 53(2).
- SAS Institute. (2004). SAS/ETS 9.1 User's Guide. SAS Institute.
- Islam, K. M. S., Schuhmacher, A., & Gropp, J. M. (2005). Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of nutrition*, 4(3), 126-134.
- Kalafova, A., Hrnčar, C., Zbynovska, K., Bucko, O., Hanusova, E., Kapustova, Z., ... & Capcarova, M. (2018). The effects of dietary probiotics and humic acid on meat quality of Japanese quail including sex-related differences and economical background. *Biologia*, 73, 765-771.
- Kamel, M. M., Elhady, M., El Iraqi, K. G., & Wahba, F. (2015). Biological immune stimulants effects on immune response, behavioral and productive performance of broilers. *Egyptian Poultry Science Journal*, 35.(3)
- Khajavi, H. R., Torshizi, M. A., & Ahmadi, H. (2014). Effect of feeding different levels of dietary vermi-humus on growth performance and meat quality in broiler chickens. *Animal Production*, 16(2), 113-122. (In Persian).
- Kocabağlı, N., Alp, M., Acar, N., & Kahraman, R. (2002). The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. *Poultry Science*, 81(2), 227-230.
- Kucukersan, S. E. H. E. R., Kucukersan, K., Goncuoglu, E., & Sahin, T. (2004). The effects of dietary humate supplementation on laying hen egg production and egg quality. *Indian veterinary journal*, 81(6).
- Macit, M., Karaoglu, M., Celebi, S., Esenbuga, N., Yoruk, M. A., & Kaya, A. (2021). Effects of supplementation of dietary humate, probiotic, and their combination on performance, egg quality, and yolk fatty acid composition of laying hens. *Tropical Animal Health and Production*, 53, 1-8.
- Mathlouthi, N., Lallès, J. P., Lepercq, P., Juste, C., & Larbier, M. (2002). Xylanase and  $\beta$ -glucanase supplementation improve conjugated bile acid fraction in intestinal contents and increase villus size of small intestine wall in broiler chickens fed a rye-based diet. *Journal of Animal Science*, 80(11), 2773-2779.
- Maysa, H., & Sheikh, A. (2008). The effect of dietary humic acid supplementation on some productive and physiological traits of laying hens. *Egypt poultry science*, 28(4), 1043-1058.
- Netherwood, T., Gilbert, H. J., Parker, D. S., & O'donnell, A. G. (1999). Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(11), 5134-5138.
- National Research Council. (1994). Nutrient requirements of poultry: 1994. National Academies Press.
- Pettit, R. E. (2004). Organic matter, humus, humate, humic acid, fulvic acid and humin: their importance in soil fertility and plant health. *CTI Research*, 10, 1-7.
- Rath, N. C., Huff, W. E., & Huff, G. R. (2006). Effects of humic acid on broiler chickens. *Poultry Science*, 85(3), 410-414.
- Sahin, A., İskender, H., Terim, K. K., Altinkaynak, K., Hayirli, A., Gonultas, A., & Kaynar, O. (2016). The effect of humic acid substances on the thyroid function and structure in lead poisoning. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 18, 649-654.
- Schepetkin, I. A., Khlebnikov, A. I., Ah, S. Y., Woo, S. B., Jeong, C. S., Klubachuk, O. N., & Kwon, B. S. (2003). Characterization and biological activities of humic substances from mumie. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(18), 5245-5254.
- Shermer, C. L., Maciorowski, K. G., Bailey, C. A., Byers, F. M., & Ricke, S. C. (1998). Caecal metabolites and microbial populations in chickens consuming diets containing a mined humate compound. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(4), 479-486.
- Taklimi, S. M. S. M., Ghahri, H., & Isakan, M. A. (2012). Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. *Agric. Sci*, 3, 663-668.
- Wang, J. P., He, K. R., Ding, X. M., Luo, Y. H., Bai, S. P., Zeng, Q. F., ... & Zhang, K. Y. (2016). Effect of dietary vanadium and vitamin C on egg quality and antioxidant status in laying hens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100(3), 440-447.
- Wang, Q., Chen, Y. J., Yoo, J. S., Kim, H. J., Cho, J. H., & Kim, I. H. (2008). Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *Livestock Science*, 117(2-3), 270-274.
- Yalçın, S., Ergün, A., Özsoy, B., Yalçın, S., & Erol, H. (2006). The effects of dietary supplementation of L-carnitine and humic substances on performance, egg traits and blood parameters in laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*.
- Yeo, J., & Kim, K. I. (1997). Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poultry Science*, 76(2), 381-385.
- Yörük, M. A., Gül, M., Hayirli, A., & Macit, M. (2004). The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. *Poultry Science*, 83(1), 84-88.
- Zhorina, L. V., & Stepchenko, L. M. (1991, January). The content of free amino acids in the tissues of broiler chicks administered sodium humate in the ration. In *Nauchnye Doklady Vysshei Shkoly. Biologicheskije Nauki* (No. 10, pp. 147-150).