Journal of Animal Biology, Winter 2026; 18(2):61-72

ISSN: 1735-9724

Research Article

Effect of Alpha-Hydroxycholecalciferol and Phytase Enzyme on Growth Performance, Bone Characteristics and Intestinal Morphology in Broiler Chickens

Arezoo Habibi, Nima Eila*, Mohammad Reza Pariani, Abolfazl Zarei

Department of Animal Science, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran

*Corresponding author: nima.eila@yahoo.com

Received: 19 July 2025 Accepted: 08 October 2025

DOI: 10.60833/ascij.2026.1212471

Abstract

The aim of the present experiment was to investigate the effect of alpha-hydroxycholecalciferol and phytase on growth performance, bone characteristics, and intestinal morphology in broiler chickens. To conduct the experiment, 400 one-day-old male chicks of the Cobb 500 strain were used in a completely randomized design with 4 treatments and 5 replications (20 chicks per replication). The experimental treatments included 1- control (no additive), 2- control + 14 mg/kg alpha-hydroxycholecalciferol, 3- control + 5 mg/kg phytase, 4- control + 14 mg/kg alpha-hydroxycholecalciferol + 5 mg/kg phytase. According to the results, the weight gains of chickens in all rearing periods in treatments that used alpha-hydroxycholecalciferol alone and also together with phytase increased significantly compared to the control ($p < 0.05$). The diameter of Haversian ducts in the phytase-containing treatment significantly increased compared to the control ($p < 0.05$). The length of ileum villus in treatments containing alpha-hydroxycholecalciferol and its mixture with phytase significantly increased compared to the control ($p < 0.01$). Overall, the results showed that the use of alpha-hydroxycholecalciferol together with phytase had a better effect on improving growth performance, bone strength, and intestinal tissue compared to their separate use in broiler diets.

Keywords: Alpha-hydroxycholecalciferol, Phytase, Growth, Broiler chicken.

زیست‌شناسی جانوری، سال هجدهم، شماره دوم، زمستان ۱٤۰٤، صفحات ۷۲-٦۱

شاپا: ۹۷۲٤-۱۷۳۵

مقاله پژوهشی

اثر آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و آنزیم فیتاز بر عملکرد رشد، خصوصیات استخوان و ریخت‌شناسی روده در جوجه‌های گوشتی

آرزو حبیبی، نیما ایلا*، محمدرضا پریانی، ابوالفضل زارعی

گروه علوم دامی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

*مسئول مکاتبات: nima.eila@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱٤۰٤/۰٤/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱٤۰٤/۰۷/۱٦

DOI: 10.60833/ascij.2026.1212471

چکیده

هدف از مطالعه‌ی حاضر اثر آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و آنزیم فیتاز بر عملکرد رشد، خصوصیات استخوان و ریخت‌شناسی روده در جوجه‌های گوشتی بود. برای انجام آزمایش از ٤۰۰ قطعه جوجه نر یکروزه سویه کاب ۵۰۰ در قالب طرح کاملا تصادفی با ٤ تیمار و ۵ تکرار (۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (بدون افزودنی) ۲- شاهد + ۱٤ میلی‌گرم/کیلوگرم آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول، ۳- شاهد + ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم فیتاز ٤- شاهد + ۱٤ میلی‌گرم/کیلوگرم آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول + ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم فیتاز، بودند. بر طبق نتایج افزایش وزن جوجه‌ها در تمام دوره‌های پرورش در تیمارهایی که از آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول به تنهایی و همچنین به همراه فیتاز استفاده کرده بودند نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشتند ($p < ۰/۰۵$). قطر مجاری هاورس در تیمار حاوی فیتاز افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت ($p < ۰/۰۵$). طول پرز ایلئوم در تیمارهایی که حاوی آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و نیز مخلوط آن با فیتاز بود، افزایش معنی‌داری با شاهد داشت ($p < ۰/۰۱$). نتایج نشان داد که استفاده از آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول به همراه فیتاز در مقایسه با کاربرد جداگانه آن‌ها در جیره جوجه‌های گوشتی، اثر بهتری بر بهبود عملکرد رشد، استحکام استخوان و بافت روده داشت.

کلمات کلیدی: آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول، فیتاز، رشد، جوجه گوشتی، ریخت‌شناسی روده.

مقدمه

در صنعت پرورش طیور بهبود بازده تغذیه از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. از آنجایی که وزن جوجه-های گوشتی در طول ٤۲ روز بیش از ۵۰ برابر وزن یک‌روزگی می‌شود، تغذیه مناسب جوجه‌ها در ظهور این بازده نقش اساسی دارد (۱). طیور برای زنده ماندن و رشد بهینه، علاوه بر نیاز به کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، چربی‌ها و مواد معدنی اصلی به مواد مغذی دیگری نیز احتیاج دارند که باید به میزان کم در جیره موجود باشند. این مواد شامل ویتامین‌ها، مواد معدنی کمیاب و عناصر دیگری است که به میزان معین به جیره افزوده می‌گردند (۲). امروزه با توجه به نیاز رشد سریع و بازده بالای جوجه‌های گوشتی، ویتامین‌ها و مواد معدنی یکی از مهم‌ترین احتیاجات غذایی می‌باشد که اگر به اندازه کافی در دسترس پرنده قرار نگیرد، پرنده در معرض یکسری از بیماری-های متابولیکی و اختلالات اسکلتی قرار می‌گیرد که

این می‌تواند موجب کاهش رشد شود. از جمله ویتامین‌ها و مواد معدنی که در رشد و سلامت طیور مهم می‌باشد ویتامین D و فسفر است (۳). مکمل کردن ویتامین D در جیره باعث رسیدن مواد معدنی به استخوان جهت رشد مطلوب آن در گله‌های گوشتی می‌گردد. تحقیقات قبل نشان داده است که تامین نیاز متابولیکی جوجه‌های گوشتی توسط کوله کلسیفرول موجود در جیره بخوبی انجام نمی‌شود. زیرا مشخص شده است که ظرفیت آنزیم‌های کلیوی و کبدی جهت فعال نمودن کوله کلسیفرول کافی نمی‌باشد (٤). از طرفی بیش از نیمی از فسفر موجود در محصولات گیاهی مورد استفاده در تغذیه طیور به صورت اسید فایتیک بوده که برای طیور قابل استفاده نمی‌باشد. همچنین فیتات علاوه بر فسفر، قابلیت دسترسی سایر عناصر مورد نیاز مانند کلسیم، روی، مس و نیز اسیدهای آمینه را در جیره محدود می‌سازد و در نهایت سبب کاهش عملکرد رشد می‌گردد (۵). یکی از متابولیت‌های فعال ویتامین D3، 1α-OHD3 می‌باشد که به عنوان جایگزین ویتامین D3 مورد توجه قرار گرفته است (٦). محققین دریافتند که آلفاهیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول مؤثرتر از سایر منابع تأمین کننده ویتامین D برای جذب کلسیم و حفظ سلامت استخوان می‌باشد (۷). همچنین مشخص شده است که افزودن مکمل آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول همراه با آنزیم فیتاز اگزوژنوسی که به طور معمول در جیره‌ها استفاده می‌شود سبب بهبود جذب فسفر خواهد شد (۸). زیرا آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول به صورت مستقل از آنزیم فیتاز با منشأ خارجی عمل می‌کند. فیتاز در قسمت‌های بالایی لوله گوارش با pH پایین برای کمک به هضم فیتات به فسفات و اینوزیتول عمل می‌نماید و آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول در قسمت پایینی لوله گوارش با pH بالا عمل کرده و به جذب کلسیم و فسفر کمک می‌کند (۸).

با توجه به این که در مطالعات گذشته عمدتا در مورد کاربرد آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و یا فیتاز به صورت جداگانه در جوجه‌های گوشتی تحقیقات صورت گرفته است و از مقایسه کاربرد جداگانه و باهم آن‌ها اطلاعات اندکی دیده شده است، آزمایش حاضر با هدف اثر آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و فیتاز به صورت جدا و با هم بر عملکرد رشد، خصوصیات استخوان و ریخت‌شناسی روده در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با ٤۰۰ قطعه جوجه نر یکروزه (سویه کاب ۵۰۰) در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ٤ تیمار و ۵ تکرار (۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار) به مدت ٤۲ روز انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (بدون آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و فیتاز)، ۲- شاهد + ١٤ میلی‌گرم/کیلوگرم آلفا هیدروکسی-کوله‌کلسیفرول، ۳- شاهد + ۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم فیتاز و ٤- شاهد + ١٤ میلی‌گرم/ کیلوگرم آلفا هیدروکسی-کوله‌کلسیفرول + ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم فیتاز، بودند. در ابتدا جوجه‌ها وزن‌کشی شدند و جوجه‌های با میانگین وزنی مشابه در هر تکرار توزیع شدند.

آب و خوراک در طول دوره پرورش به صورت آزادانه در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. جوجه‌ها جیره-های آزمایشی را برای دوره‌های آغازین (۱-۱۰ روزگی)، رشد (۱۱- روزگی۲۵) و پایانی (۲٦-٤۲ روزگی) بر اساس توصیه‌های راهنمای پرورش کاب ۵۰۰ دریافت کردند (جدول ۱).

مکمل ویتامینی مورد استفاده در جیره فاقد ویتامین D3 بود. آلفا هیدروکسی‌کوله کلسیفرول بکار رفته به شکل کریستال و ساخت شرکت Vitamin Derivatives® از

کشور آمریکا بود. همچنین آنزیم فیتاز بکار رفته از نوع آنزیم ٦-فیتاز با منشاء باکتریایی (*E. coli*) و با نام تجاری BONFEZYME، از محصول شرکت Bioluence® بود که هر یک گرم از آن دارای ۱۰۰۰۰ واحد فعال آنزیم فعال بود.

عملکرد رشد: در انتهای هر دوره از پرورش وزن-کشی انجام شد و خوراک مصرفی و افزایش وزن بر اساس هر دوره و تصحیح شده برای تلفات، برآورد شد. همچنین ضریب‌تبدیل خوراک از تقسیم خوراک مصرفی بر افزایش وزن بدست آمد.

خصوصیات استخوان: در انتهای دوره پرورش (روز ٤۲) از هر تکرار یک پرنده که به میانگین وزن تکرار نزدیک بود کشتار و درشت‌نی پا جدا شد. مقاومت در برابر نیروی برشی و نیروی لازم برای ایجاد شکست در استخوان درشتنی با استفاده از دستگاه SANTAM اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی استخوان درشت‌نی از میکرومتر دیجیتال و نیز برای مطالعات هیستومورفومتریکی استخوان توسط میکروسکوپ نوری (مدل MEDIC M-107 BN ساخت چین- شرکت Wincom Company Ltd)، دوربین دیجیتالی Dino-Lite lens و برنامه Dino-capture 2 software استفاده شد (۹).

برای ارزیابی میزان کلسیم و فسفر خاکستر استخوان از استخوان‌های درشت‌نی جدا شده و نیز بند دوم انگشت پا استفاده شد. استخوان‌های درشت‌نی و بند انگشت پس از استخراج چربی‌ها، در درون کوره الکتریکی به مدت ۵ ساعت در دمای ٦۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. در نهایت پس از استحصال خاکستر، مقدار کلسیم در نمونه خاکستر با استفاده از دستگاه جذب اتمی و فسفر به روش رنگ سنجی با معرف مولیبدات وانادات تعیین شد.

ریخت‌شناسی روده: پس از جداسازی روده کوچک از جوجه‌های کشتار شده در روز ٤۲، نمونه‌های بافتی به ابعاد یک سانتی متر از نقطه میانی ژوژنوم و ایلئوم تهیه شد و در فرمالین ۱۰ درصد برای مطالعه بافت تثبیت شد. سپس نمونه‌ها با اتانول آب‌گیری شدند و پس از جاسازی در موم، با استفاده از میکروتوم، برش‌های ۰/۵ میلی‌متری داده شدند.

برای بررسی اجزای بافت روده از میکروسکوپ نوری (Olympus corporation, BX Model U TV 0.5) متصل به کامپیوتر و نرم‌افزار (DP2_BSW) استفاده شد و اندازه اجزای بافت بر اساس میکرومتر گزارش شد. شاخصه‌های مورد ارزیابی شامل ارتفاع پرز، عرض پرز و عمق کریپت بودند.

آنالیز آماری: داده‌های حاصل از آزمایش حاضر با استفاده از مدل آماری $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$ و رویه GLM نرم افزار SAS.9.4 آنالیز شد که در آن Y_{ij}- مقدار عددی هر مشاهده، μ- میانگین جمعیت، Ti- اثر گروه‌های آزمایشی و ε_{ij}- اثر خطای آزماش می‌باشد. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون دانکن (Duncan) در سطح ۰/۰۵ استفاده شد.

جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی

Table 1- Composition of experimental diets

Ingredients (%)	Starter (1-10 days)	Grower (11-24 days)	Finisher (25-42 days)
Corn	49.11	53.51	58.11
Soybean meal	38.70	35.00	27.00
Wheat	5.00	5.52	9.05
Soybean oil	1.70	1.70	2.00
Corn gluten	1	0	0
Sodium bicarbonate	0.03	0.1	0.15
$CaCO_3$	1.80	1.73	1.60
Mono calcium phosphate	1.20	1.07	0.84
NaCl	0.33	0.27	0.25
Mineral premix[1]	0.25	0.25	0.25
Vitamin premix[2]	0.25	0.25	0.25
L-Lysine-HCl	0.23	0.23	0.19
DL-Methionine	0.3	0.28	0.26
L-Threonine	0.1	0.09	0.05
Total	100	100	100
Chemical analyses			
Metabolizable energy (kcal/kg)	2950	3000	3080
Crude protein(%)	22	20	17.5
Lysine (%)	1.24	1.15	0.95
Methionine (%)	0.6	0.55	0.51
Methionine + Cysteine (%)	0.87	0.8	0.73
Threonine (%)	0.8	0.74	0.6
Arginine (%)	1.34	1.3	1.05
Isoleucine	0.82	0.75	0.68
Valine	1	0.88	0.71
Ca (%)	0.96	0.9	0.8
Available Phosphorus (%)	0.36	0.33	0.28
Na (%)	0.16	0.16	0.16

۱. به ازای هر کیلوگرم خوراک: منگنز (به عنوان اکسید منگنز): ۳۹/٦۸ گرم، آهن: (به عنوان سولفات آهن): ۲۰ گرم، مس (به عنوان سولفات مس): ٤ گرم، روی (به عنوان اکسید روی): ۳۳/۸۸ گرم، سلنیوم (به عنوان سدیم سلنیت): ۰/۰۸ گرم، ید(یدات کلسیم): ۰/۳۹٦ گرم و بتاین: ۲۰۰ گرم. ۲. مواد زیر به ازای هر کیلوگرم خوراک (بدون ویتامین D)۳: ویتامین A: ۳٦۰۰۰۰۰ واحد بین الملل، ویتامین E: ۷۲۰۰ واحد بین-الملل، ویتامین K۳: ۰/۸ گرم، تیامین: ۰/۷ گرم، ریبوفلاوین: ۲/٦٤ گرم، نیاسین: ۱۱/۸۸ گرم، پانتوتنیک: ۳/۹۲ گرم، پیرودوکسین: ۱/۱۷٦ گرم، بیوتین: ۰/۰٤ گرم، فولیک اسید: ۰/٤ گرم، ویتامین B۱۲: ۰/۰۰٦ گرم و انتی اکسیدان: ٤۰۰ میلی‌گرم.

1. Per kilogram of feed: Manganese (as manganese oxide): 39.68 g, Iron (as iron sulfate): 20 g, Copper (as copper sulfate): 4 g, Zinc (as zinc oxide): 33.88 g, Selenium (as sodium selenite): 0.08 g, Iodine (as calcium iodate): 0.396 g, and Betaine: 200 g. 2. The following ingredients per kilogram of feed (excluding vitamin D3): Vitamin A: 3,600,000 IU, Vitamin E: 7,200 IU, Vitamin K3: 0.8 g, Thiamine: 0.7 g, Riboflavin: 2.64 g, Niacin: 11.88 g, Pantothenic acid: 3.92 g, Pyridoxine: 1.176 g, Biotin: 0.04 g, Folic acid: 0.4 g, Vitamin B12: 0.006 g, and Antioxidant: 400 mg.

نتایج

اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در جداول ۲، ۳ و ٤ ارائه شده است. در دوره آغازین افزایش وزن جوجه‌هایی که از آلفاهیدروکسی‌کوله کلسیفرول به تنهایی و همچنین به همراه فیتاز استفاده کرده بودند نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشتند ($p < ۰/۰۵$). ضریب‌تبدیل خوراک در جوجه‌هایی که از فیتاز استفاده کرده بودند افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت ($p < ۰/۰۵$). در دوره رشد افزایش وزن جوجه‌هایی که از آلفاهیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول به تنهایی و همچنین به همراه فیتاز استفاده کرده بودند نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشتند ($p < ۰/۰۵$). ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌هایی که از آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول و فیتاز به تنهایی استفاده کرده بودند بهبود معنی‌داری نسبت به شاهد داشت ($p < ۰/۰۵$). در دوره پایانی افزایش وزن جوجه‌ها در تیمارهایی که از آلفاهیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و فیتاز و نیز مخلوط آن‌ها استفاده کرده بودند، نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشتند ($p < ۰/۰۵$). نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر استحکام استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ ارایه شده است. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در آزمایش نیروی شکست افزودن مکمل‌های خوراکی هیچ گونه اثر معنی‌داری بر میانگین‌های حداثر نیرو، حداکثر جابجایی و انرژی جذب شده نداشته است (p ۰/۰۵ >). نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات فیزیکی و بافت‌شناسی استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی در جدول ٦ ارایه شده است. قطر دیواره استخوان در تیمارهای حاوی مکمل، اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت اما تیمار حاوی مخلوط آلفاهیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و فیتاز نسبت به تیمار حاوی آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول افزایش معنی‌داری داشت ($p < ۰/۰۵$). همچنین ضخامت تیغه‌های استخوان در تیمار حاوی مخلوط آلفاهیدروکسی کوله‌کلسیفرول و فیتاز نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($p < ۰/۰۵$). قطر مجاری هاورس در تیمار حاوی فیتاز افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت ($p < ۰/۰۵$). نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر مقدار کلسیم و فسفر خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی در جدول ۷ ارایه شده است. درصد کلسیم و فسفر خاکستر استخوان در هیچ یک از تیمارهای حاوی مکمل‌های خوراکی با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($p < ۰/۰۵$). نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر ریخت شناسی روده کوچک جوجه‌های گوشتی در ٤۲ روزگی در جداول ۸ و ۹ ارائه شده است. طول پرز ژوژنوم در تیمارهای حاوی مکمل، افزایش معنی‌داری با شاهد داشت ($p < ۰/۰۱$). عرض پرز و عمق کریپت ژوژنوم در تیماری که از مخلوط آلفاهیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و فیتاز استفاده کرده بودند، به ترتیب نسبت به شاهد افزایش و کاهش معنی‌داری داشتند ($p < ۰/۰۱$). طول پرز ایلئوم در تیمارهایی که حاوی آلفا هیدروکسی‌کوله کلسیفرول و نیز مخلوط آن با فیتاز بود، افزایش معنی‌داری با شاهد داشت ($p < ۰/۰۱$). عمق کریپت ایلئوم در تمام تیمارهای حاوی مکمل کاهش معنی‌داری با شاهد داشت ($p < ۰/۰۱$). طول پرز ژوژنوم در تیمارهای حاوی مکمل، افزایش معنی‌داری با شاهد داشت ($p < ۰/۰۱$).

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات عملکردی در دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی) (خطای استاندارد ± میانگین)

Table 2- Effect of experimental treatments on performance traits during the starter period (Days 1-10) (Mean ± SE)

Treatments	Weight gain (g)	Feed intake (g)	Feed conversion ratio
Control	238.4 ± 10.88b	248.5 ± 1.48a	1.04 ± 0.04b
1α-OH-D3	264.3 ± 14.27a	250.8 ± 7.13	0.95 ± 0.08b
Phytase	218.8 ± 7.97b	245.1 ± 4.46	1.12 ± 0.03a
1α-OH-D3 + Phytase	274.7 ± 6.18a	254.5 ± 2.91	0.92 ± 0.02b
SEM	2.69	1.07	0.01
p-value	0.0459	0.1872	0.0331

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات عملکردی مورد بررسی در دوره رشد (۱۱ تا ۲۵ روزگی)

Table 3- Effect of experimental treatments on performance traits during the growth period (Days 11-25)

Treatments	Weight gain (g)	Feed intake (g)	Feed conversion ratio
Control	572.8 ± 66.68^{b}	964.1 ± 83.83	$1.69^{a} \pm 0.13$
1α-OH-D3	659.8 ± 46.94^{a}	988.6 ± 32.29	$1.50^{b} \pm 0.11$
Phytase	591.1 ± 40.71^{b}	983.9 ± 54.22	$1.66^{b} \pm 0.09$
1α-OH-D3 + Phytase	708.8 ± 66.29^{a}	994.2 ± 58.98	$1.41^{a} \pm 0.19$
SEM	13.83	12.61	0.03
p-value	0.0169	0.8738	0.59431

جدول ٤- اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات عملکردی مورد بررسی در دوره پایانی (۲۵ تا ٤۲ روزگی)

Table 4- Effect of experimental treatments on performance traits during the finisher period (Days 26-42)

Treatments	Weight gain (g)	Feed intake (g)	Feed conversion ratio
Control	1788.8 ± 140.59^{c}	3504.6 ± 1.48	1.96 ± 0.08
1α-OH-D3	1892.4 ± 159.42^{b}	3684.9 ± 7.13	1.95 ± 0.18
Phytase	1863.8 ± 68.91^{b}	3622.6 ± 4.46	1.94 ± 0.10
1α-OH-D3 + Phytase	1971.5 ± 109.97^{a}	3710 ± 2.91	1.89 ± 0.06
SEM	26.66	28.06	0.03
p-value	0.0527	0.1427	0.6029

جدول ٥- اثر تیمارهای آزمایشی بر نیروی شکست استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی در ٤۲ روزگی

Table 5- Effect of experimental treatments on tibia bone breaking strength in broiler chickens at 42 days of age

Treatments	Maximum Force (N)	Maximum Displacement (mm)	Energy Absorbed (Joules)
Control	331.22 ± 105.69	2.38 ± 1.49	0.39 ± 0.22
1α-OH-D3	329.56 ± 71.71	2.34 ± 0.79	0.43 ± 0.18
Phytase	371.8 ± 98.18	2.57 ± 0.76	0.53 ± 0.21
1α-OH-D3 + Phytase	297.24 ± 62.94	1.80 ± 0.58	0.32 ± 0.15
SEM	18.75	0.21	0.04
p-value	0.6101	0.6404	0.4471

جدول ٦- اثر تیمارهای آزمایشی بر خصوصیات فیزیکی و بافت شناسی درشت‌نی جوجه‌های گوشتی در ٤۲ روزگی

Table 6- Effect of treatments on physical and histological characteristics of tibia in broiler chickens at 42 days of age

Treatments	Bone Diameter (mm)	Bone Wall Diameter (mm)	Growth Plate Thickness (mm)
Control	6747.0 ± 589.66	1268.8 ± 220.39^{ab}	1512.7 ± 448.2
1α-OH-D3	7032.3 ± 1395.89	1138.0 ± 186.11^{b}	1765.5 ± 472.03
Phytase	7475.5 ± 1639.57	1339.8 ± 248.47^{ab}	1801.30 ± 438.97
1α-OH-D3+ Phytase	7176.1 ± 1146.81	1457.90 ± 620.45^{a}	1591.99 ± 475.04
SEM	140.75	41.99	52.08

p-value	0.3279	0.0413	0.1524
Treatments	Number of Haversian Canals (in a circle with radius 1500 µm)	Diameter of Haversian Canals (mm)	Thickness of Spongy Bone Plates (µm)
Control	20.20 ± 3.48	328.44 ± 103.83^{b}	114.00 ± 50.85^{b}
1α-OH-D3	18.60 ± 5.26	400.46 ± 111.37^{ab}	128.82 ± 64.09^{ab}
Phytase	20.20 ± 4.39	436.95 ± 138.06^{a}	120.88 ± 93.35^{ab}
1α-OH-D3 + Phytase	20.75 ± 4.71	393.18 ± 99.93^{ab}	143.53 ± 88.39^{a}
SEM	0.5	13.28	8.45
p-value	0.4723	0.0308	0.6468

جدول ۷- اثر تیمارهای آزمایشی بر کلسیم و فسفر خاکستر استخوان جوجه‌های گوشتی در ٤۲ روزگی

Table 7- Effect of treatments on calcium and phosphorus content of bone ash in broiler chickens at 42 days of age

Treatments	Calcium percentage based on tibia ash	Phosphorus percentage based on tibia ash	Calcium percentage based on toe ash	Phosphorus percentage based on toe ash
Control	40.92 ± 0.88	17.11 ± 0.36	40.92 ± 0.88	16.74 ± 0.96
1α-OH-D3	41.27 ± 0.40	17.46 ± 0.25	41.27 ± 0.40	17.00 ± 0.26
Phytase	41.32 ± 0.68	17.34 ± 0.18	41.32 ± 0.68	16.36 ± 1.39
1α-OH-D3+Phytase	41.54 ± 0.51	17.55 ± 0.66	41.54 ± 0.51	17.10 ± 0.23
SEM	0.14	0.09	0.14	0.2
p-value	0.5233	0.3937	0.5233	0.5992

جدول ۸- اثر تیمارهای آزمایشی بر ریخت شناسی ژوژنوم جوجه‌های گوشتی در ٤۲ روزگی

Table 8- Effect of experimental treatments on jejunum morphology in broiler chickens at 42 days of age

Treatments	Villus height (µm)	Villus width (µm)	Crypt depth (µm)
Control	667.26 ± 148.28^{c}	139.53 ± 33.56^{b}	248.28 ± 59.01^{a}
1α-OH-D3	1212.85 ± 261.28^{ab}	173.3 ± 59.1^{b}	238.87 ± 36.37^{a}
Phytase	886.4 ± 109.12^{b}	134.87 ± 42.59^{b}	240.99 ± 35.72^{a}
1α-OH-D3 + Phytase	1362.96 ± 254.47^{a}	236.18 ± 90.44^{a}	170.47 ± 56.08^{b}
SEM	44.47	8.04	6.34
p-value	0.0001	0.0001	0.0001

جدول ۹- اثر تیمارهای آزمایشی بر ریخت شناسی ایلئوم جوجه‌های گوشتی در ٤۲ روزگی

Table 9- Effect of experimental treatments on ileum morphology in broiler chickens at 42 d ays of age

Treatments	Villus height (µm)	Villus width (µm)	Crypt depth (µm)
Control	356.24 ± 76.4^{b}	144.14 ± 36.82	356.83 ± 93.54^{a}
1α-OH-D3	449.95 ± 158.05^{a}	154.96 ± 66.46	481.49 ± 105.63^{b}
Phytase	353.96 ± 154.75^{b}	124.29 ± 49.75	431.88 ± 72.72^{b}
1α-OH-D3 + Phytase	468.78 ± 151.9^{a}	126.66 ± 54.15	423.19 ± 107.38^{b}
SEM	16.41	5.97	11.63
p-value	0.0135	0.2138	0.0014

بحث

Liem و همکارن (۱۰) گزارش نمودند که افزودن متابولیت آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول به خوراک جوجه‌های گوشتی موجب بهبود عملکرد آن‌ها شد. همچنین Han و همکاران (۱۱) در نتایج تحقیقات خود اثر متقابل آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و آنزیم فیتاز بر افزایش وزن جوجه‌های گوشتی را گزارش کردند. مطالعات قبل نشان داده است که راندمان جذب آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول نسبت به ویتامین کوله کلسیفرول بیشتر است و با سرعت بیشتری در کبد به کلسیتریول تبدیل می‌شود. از آنجایی که متابولیت ۱-هیدروکسیله ویتامین D، یک مرحله از هیدروکسیلاسیون را پشت سر گذاشته است، با جذب سریعتر باعث بهبود جذب کلسیم و فسفر شده که می‌توان انتظار داشت سبب بهبود عملکرد رشد می‌گردد (۱۲). همچنین متابولیت آلفاهیدروکسی‌کوله کلسیفرول جذب کلسیم را افزایش و موجب افزایش قابلیت انحلال فیتات و در نتیجه افزایش فعالیت فیتاز روده‌ای می‌گردد (۱۳). این می‌تواند احتمالا دلیل اثر افزاش بهبود بالاتر عملکرد رشد در زمان استفاده آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول به همراه فیتاز باشد. همانطور که در نتایج دیده شد از لحاظ عددی کمترین حداثر نیرو و کمترین حد جابجایی و همچنین بیشترین ضخامت تیغه‌ها برای استخوان درشت‌نی در تیمار مخلوط مکمل آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و فیتاز بود. از طرفی اگرچه در بین تیمارها برای درصد کلسیم و فسفر خاکستر استخوان درشت‌نی و بند انگشت پا اختلاف معنی‌داری دیده نشد اما بالاترین درصد مربوط به تیمار حاوی مخلوط مکمل آلفا هیدروکسی‌کوله کلسیفرول و فیتاز بود. نتایج آزمایشات قبل نشان داده است که کاربرد آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول در خوراک جوجه‌های گوشتی، حداکثر مقاومت در برابر نیروی برشی و نیروی برشی لازم برای ایجاد شکست در استخوان درشت نی را بطور خطی افزایش می‌دهد (۱٤). همچنین مشخص شده که نیروی برشی لازم برای ایجاد شکست در استخوان درشتنی با کاهش سطح کلسیم و فسفر بطور خطی کاهش یافته است (۱۵). افزودن آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول به خوراک جوجه‌های گوشتی موجب افزایش خطی درصد کلسیم و فسفر استخوان انگشت پا شد (۱٦). برخی محققین، عنوان نمودند که افزودن فیتاز به جیره باعث افزایش درصد خاکستر، کلسیم و شاخص‌هایی مانند طول و قطر استخوان درشتنی می‌شود. همچنین آن‌ها بیان نمودند با استفاده از آنزیم فیتاز و افزایش دسترسی فسفر مقاومت استخوان افزایش می‌یابد (۱۷). استحکام استخوان وابسته به عواملی از جمله مواد معدنی و ویژگی‌های ساختار شیمیایی آن می‌باشد. مطالعات مختلف نشان داده است که قابلیت انحلال فیتات توسط کلسیم موجود در روده کاهش می‌یابد (۱۸). از آنجایی که آلفاهیدروکسی‌کوله کلسیفرول جذب کلسیم را افزایش می‌دهد می‌تواند موجب افزایش قابلیت انحلال فیتات و در نتیجه افزایش فعالیت فیتاز گردد (۱۹). بنابراین کاربرد آلفا هیدروکسی‌کوله کلسیفرول به همراه فیتاز با تاثیرات مثبت بر جذب بهتر کلسیم و فسفر، موجب افزایش رسوب مواد معدنی در ناحیه میانی استخوان و در نتیجه موجب افزایش ضخامت درشت‌نی و بروز اثرات مفید در خصوصیات مکانیکی شده است. در نتایج آزمایش حاضر استفاده از آلفاهیدروکسی کوله‌کلسیفرول وآنزیم فیتاز موجب بهبود ریخت‌شناسی روده شد. Ly و همکاران (۲۰) در مورد نقش ویتامین D در سیستم ایمنی، از طریق تأثیر آن بر میکروفلورای روده اشاره داشتند. کلونی‌های باکتریایی، هم بیان و هم توزیع گیرنده ویتامین D در

سلول‌های اپی‌تلیال روده را تحت تأثیر قرار می‌دهند و این، نشان‌دهنده وجود تعامل پویا بین این باکتری‌ها و این گیرنده است. بنابراین شواهد نشان می‌دهد که مسیر ویتامین D تعدیل کننده بالقوه مهم، اثرات فلور روده بر اختلالات التهابی می‌باشد. همچنین مشخص شده است ویتامین D در هموستاز لایه موکوسی دستگاه گوارش نقش داشته و کمبود ویتامین D سبب تخریب لایه موکوسی می‌گردد (۲۱). به نظر می‌رسد که تأثیر ویتامین D بر بهبود ریخت شناسی روده در اثر عملکرد این ویتامین بر تغییر میکروفلورای روده و کاهش التهاب می‌باشد. در مطالعه Moita و همکاران (۲۲) افزودن مکمل فیتاز سبب افزایش طول و عرض پرز روده شد. فیتات با اتصال به پروتئین‌ها، عناصری و آنزیم‌هایی مانند تریپسین و آلفا-آمیلاز و مهار فعالیت آن‌ها می‌تواند سبب کاهش قابلیت هضم گردد (۲۳). فیتاز به دلیل خصوصیات بافرینگ و در دسترس قرار دادن کلسیم و فسفر برای تخمیر میکروبی بر روی میکروفلور روده تاثیر دارد. کلسیم و فسفر آزاد شده توسط فیتاز، سبب تکثیر باکتری‌های اسید لاکتیک، کاهش پاتوژن‌ها و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره و در نتیجه منجر به بهبود سلامت روده و قابلیت هضم مواد مغذی می‌شود (۲٤). بنابراین اثرات مثبت آنزیم فیتاز بر بهبود ریخت‌شناسی روده در آزمایش حاضر احتمالا از طریق تاثیر آن بر میکروفلور روده و نیر کاهش تعداد باکتری‌ها و توکسین‌های مترشحه در لومن باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی بر اساس نتایج مطالعه حاضر افزودن مخلوط آلفا هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول و فیتاز در جیره جوجه‌های گوشتی در مقایسه با کاربرد جداگانه آن‌ها، می‌تواند سبب عملکرد رشد بالاتر، مقاومت بیشتر استخوان و بهبود سلامت روده گردد.

منابع

1. Amiri N, Afsharmanesh M, Meimandipour A, Poorghasemi M, Hosseini SA, Salarmoini M, et al. Effects of free and nanoencapsulated garlic essential oil on growth performance and immune functions in broiler chickens. Anim Sci J. 2024;95(1):1-9.

2. Poorghasemi M, Chamani M, Mirhosseini SZ, Saravy A, Sadeghi AA, Seidavi A, et al. Effects of different lipid sources with or without a probiotic on gastrointestinal tract, immune system and blood parameters of chickens: An animal model. Lipids. 2024;59(5):113-122.

3. Chen GH, Zhang JL, Wang JG, Zhang N, Qu HX, Wang ZX, et al. Requirement of 25-hydroxycholecalciferol for broilers. Chinese J Anim Nutr. 2017;29:2335-2347.

4. Khuituan P, Teerapornpuntakit J, Wongdee K, Suntornsaratoon P, Konthapakdee N, Sangsaksri J, et al. Fibroblast Growth Factor-23 Abolishes 1,25-Dihydroxyvitamin D3-Enhanced Duodenal Calcium Transport in Male Mice. Am. J. Physiol. Endocrin Metabol. 2012;302:903-913.

5. Tahmasbi AM, Mirakzehi MT, Hosseini SJ, Agah MJ, Kazemi Fard M, The Effects of Phytase and Root Hydroalcoholic Extract of *Withania somnifera* on Productive Performance and Bone Mineralisation of Laying Hens in the Late Phase of Production. Br. Poult Sci. 2012; 53:204-214.

6. Biehl RR, Baker DH, Deluca HF. 1α-Hydroxylated cholecalciferol compounds act additively with microbial phytase to improve phosphorus, zinc, and manganese utilization in chicks fed soy-based diets. J Nutr. 1995;125:2407-2416.

7. Edwards HM, Shirley RB, Escoe WB, Pesti GM, Quantitative evaluation of 1α-hydroxycholecalciferol as a cholecalciferol substitute for broilers. Poult Sci. 2002;81: 664-669.

8. Edwards, HM, Studies on the Efficacy of Cholecalciferol Derivatives for Stimulating Phytate Utilization in Broilers. Poult Sci. 2002;81:1026-1031.

9. Kalantari-Hesari A, Morovvati H, Babaei M, Nourian A, Esfandiari K, Elmi T, et al. Modified methods to simplification histochemical, immunohistochemical, and hematoxylin-eosin staining. Iran Vet J. 2022;18(3):61-73.

10. Liem A, Pesti GM, Atencio A, Edwards Jr HM. Experimental approach to optimize phytate phosphorus utilization by broiler chickens by addition of supplements. Poult Sci. 2009;88:1655-1665.

11. Han JC, Yang XD, Zhang T, Li H, Li WL, Zhang ZY, et al. Effects of 1α-hydroxycholecalciferol on growth performance, parameters of tibia and plasma, meat quality, and type IIb sodium phosphate cotransporter gene expression of one- to twenty-one-day-old broilers. Poult Sci. 2009;88:323–329.

12. Han JC, Zhang JL, Zhang N, Yang X, Qu HX, Guo Y, et al. Age, phosphorus, and 25-hydroxycholecalciferol regulate mRNA expression of vitamin D receptor and sodium-phosphate cotransporter in the small intestine of broiler chickens. Poult Sci. 2018;97:1199-1208.

13. Mitchell RD, Edwards HM, Effects of Phytase and 1,25-Dihydroxy cholecalciferol on Phytate Utilization and the Quantitative Requirement for Calcium and Phosphorus in Young Broiler Chickens. Poult Sci. 1996;75:95-110.

14. Landy N, Toghyani M, Evaluation of one-alpha-hydroxycholecalciferol alone or in combination with cholecalciferol in Ca-P deficiency diets on development of tibial dyschondroplasia in broiler chickens. Anim Nutr. 2018;4:109-112.

15. Baradaran N, Shahir M, Asadi Kermani Z. Subsequent bone and metabolic responses of broilers to high-non-phytate phosphorus diets in the Starter Period. Br. Poult Sci. 2017;58:435-441.

16. Han JC, Wang XN, Wu LH, Lv XL, He L, Qu HX, et al. Dietary Calcium Levels Regulate Calcium Transporter Gene Expression Levels in the Small Intestine of Broiler Chickens. Br. Poult Sci. 2021;63(2):202-210.

17. Wu Y, Xu S, Wang X, Xu H, Liu P, Xing X, et al. Phosphorus equivalency of phytase with various evaluation indicators of meat duck. Poult Sci. 2021;100:1-16.

18. Applegate TJ, Angel R, Classen HL. Effect of dietary calcium, 25 hydroxycholecalciferol, or bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. Poult Sci. 2003; 82:1140 –1148.

19. Ghasemi P, Toghyani M, Landy N. Effects of Dietary 1alphahydroxycholecal-Ciferol in Calcium and Phosphorous-Deficient Diets on Growth Performance, Tibia Related Indices and Immune Responses in Broiler Chickens. Anim Nutr. 2019; 5:134-139.

20. Ly NP, Litonjua A, Gold DR, Celedón JC. Gut Microbiota, Probiotics, and Vitamin D: Interrelated Exposures Influencing Allergy, Asthma, and Obesity?. J Allergy Clin Immunol. 2011; 127(5):1087-94.

21. Raftery T, Martineau AR, Greiller CL, Ghosh S, McNamara D, Bennett K, et al. Effects of vitamin D supplementation on intestinal permeability, cathelicidin and disease markers in Crohn's Disease: Results from a randomised double-Blind placebo-controlled study. United Eur Gastroenterol J. 2015;3(3):294-302.

22. Moita VHC, Duarte ME, Kim SW,. Supplemental Effects of phytase on modulation of mucosa-associated microbiota in the jejunum and the impacts on nutrient digestibility, intestinal morphology, and bone parameters in broiler chickens. Animals. 2021;11(12): 3351-3361.

23. Lu H, Kühn I, Bedford MR, Whitfield H, Brearley C, Adeola O, et al. Effect of phytase on intestinal phytate breakdown,

plasma inositol concentrations, and glucose transporter type 4 abundance in muscle membranes of weanling pigs. J Anim Sci. 2019;97(9):3907-3919.

24. Mancabelli L, Ferrario C, Milani C, Mangifesta M, Turroni F, Duranti S, et al. Insights into the biodiversity of the gut microbiota of broiler chickens. Environ Microbiol. 2016;18(12):4727-4738.