اثر مکمل ۱- آلفا هیدروکسی کوله کلسیفرول بر قابلیت هضم ایلئومی کلسیم و فسفر جیره و عملکرد رشد جوجه بوقلمون

مریم خاکسار بلداجی[۱]، فاطمه شیرمحمد[۲]*، مرتضی مهری[۲]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه علوم دامی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: shirmohammad.f@gmail.com

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۷/۲۵، پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۹/۲۵

چکیده

به منظور بررسی اثر ۱- آلفا هیدروکسی کوله کلسیفرول (ویتامین D_3) بر قابلیت هضم ایلئومی کلسیم و فسفر و عملکرد رشد، آزمایشی با استفاده از ۲۲۵ قطعه جوجه بوقلمون گوشتی نر یک روزه سویه برنز با میانگین وزن یک‌روزگی ۶۵ گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۵ تکرار طی ۸ هفته انجام شد. جیره‌ها برای دو دوره ۴-۱ و ۸-۵ هفتگی تنظیم شدند. تیمارهای آزمایشی در دوره اول شامل ۱) شاهد، حاوی ۴۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم جیره، ۲) ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول، و ۳) ۱۷۵۰ واحد بین‌المللی ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول + ۲۲۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم جیره و در دوره دوم شامل ۱) شاهد حاوی ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم جیره، ۲) ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول در کیلوگرم جیره، و ۳) ۱۵۰۰ واحد بین‌المللی ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول + ۱۷۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم جیره بودند. در پایان تفاوت معنی‌داری در وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک دیده نشد ولی سطح کلسیم و فسفر سرم و استخوان، و نیز قابلیت هضم ایلئومی کلسیم و فسفر در جوجه‌های دریافت‌کننده ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت ($P<۰/۰۵$). همچنین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم در این جوجه‌ها کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P<۰/۰۵$). با توجه به اثر ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول بر افزایش جذب کلسیم و فسفر و ذخیره آن در استخوان، می‌توان از این ترکیب به تنهایی و یا در ترکیب با D_3 جهت بهبود کیفیت استخوان بوقلمون استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بوقلمون، ۱-آلفا هیدروکسی کوله کلسیفرول، قابلیت هضم، استخوان

مقدمه

شکل فعال ویتامین D_3 (۲۵،۱، دی‌هیدروکسی کوله کلسیفرول) ویژگی‌های هورمونی نشان می‌دهد و در جذب کلسیم از روده نقش دارد (۱). این ویتامین همچنین نقش مهمی در واکنش‌های ایمنی‌زا دارد، به‌طوری که شکل فعال آن می‌تواند به هر دو روش اتوکراین و پاراکراین بر سلول‌های ایمنی تأثیرگذار باشد (۲). Shanmugasundaram و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند استفاده از ۱۱۰ میکروگرم از ۲۵-هیدروکسی کوله‌کلسیفرول در هر کیلوگرم جیره بوقلمون باعث تولید اکسید نیتریک در ماکروفاژها و کاهش عفونت کوکسیدیایی و شیوع آن شد (۳).

کوله کلسیفرول در واکنش به پرتو فرا بنفش در پوست جانوران از ۷-دهیدروکلسترول (پیش ساز D_3) تولید می‌شود و یا به طور افزودنی در جیره تامین می‌گردد. در شرایط پرورش صنعتی، تبدیل پیش‌ساز D_3 به کوله‌کلسیفرول کفاف رشد سریع پرندگان پرورشی را نمی‌دهد و ضروی است که این ویتامین به جیره افزوده شود (۴).

بدون توجه به منبع، ویتامین D به سرعت در کبد هیدروکسیله شده و تولید ۲۵-هیدروکسی کوله‌کلسیفرول می‌کند ($25\text{-OH-}D_3$) و در کلیه به شکل متابولیت‌های فعال بیولوژیکی ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی‌کوله‌کلسیفرول ($1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D_3$) و

همچنین ۲۴ و ۲۵ دی هیدروکسی‌کوله کلسیفرول (24, 25-$(OH)_2$-D_3) تبدیل می‌شود. این دو متابولیت وارد جریان خون شده و 1, 25-$(OH)_2$-D_3 در سلول‌های روده متراکم شده و سنتز پروتئین متصل به کلسیم (CaBP) و دیگر پروتئین‌ها را تحریک می‌کند که موجب جذب کلسیم و فسفر می‌شود. 24, 25-$(OH)_2$-D_3 در استخوان‌ها ذخیره شده و موجب نمو طبیعی استخوان می‌گردد (۵).

در صنعت طیور جهت تامین نیازهای تغذیه‌ای رشد سریع، استفاده از منابع ویتامینی با کارائی بیشتر ضروری به نظر می‌رسد و این امر سبب به کارگیری اشکال مصنوعی مواد مغذی در جیره می‌شود که قابلیت دسترسی بهتری نیز دارند (۶). Edwards و همکاران (۲۰۰۲) قابلیت استفاده بیولوژیکی 1α-OH-D_3 را ۸ برابر D_3 گزارش کردند (۷). همچنین Han و همکاران (۲۰۰۹) و Edwards و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که افزودن 1α-OH-D_3 به خوراک جوجه‌های گوشتی موجب بهبود عملکرد رشد آنها می‌شود (۷، ۸). چندین مطالعه دیگر هم اثرات مثبت بکارگیری 1α-OH-D_3 را همراه با D_3 و یا به عنوان جایگزین ویتامین D_3 نشان داده‌اند که از آن جمله می‌توان به بهبود عملکرد رشد در پرندگان و تغییر در کیفیت فراسنجه‌های گوشت مانند تغییر رنگ گوشت سینه و ران (۹)، کاهش وقوع دیسکوندروپلازی درشت نی (۱۰)، افزایش قابلیت دسترسی املاح و استفاده از فسفر فیتاته (۱۱) اشاره کرد.

به طور معمول نشانه‌های کمبود ویتامین D در مرغ و بوقلمون یکسان است، اما نیاز ویتامین D، کلسیم و فسفر در بوقلمون بیشتر است (۱۲). در هر حال، مطالعات محدودی در بوقلمون‌ها نسبت به جوجه‌های گوشتی و مرغان تخمگذار در مورد متابولیت‌های فعال D_3 انجام گرفته است، هر چند که Heim و همکاران (۱۹۹۰) اثر استفاده از ۲۵-هیدروکسی D_3 و ۲۵،۱دی‌هیدروکسی D_3 را بر ضعف پا بررسی کرده (۱۳) و Sanders و همکاران (۱۹۹۱) استفاده از ۲۵،۱دی‌هیدروکسی D_3 را به عنوان یک مکمل خوراکی برای جلوگیری از مشکلات پا در بوقلمون‌ها توصیه کردند (۱۴). ولی اثر استفاده از متابولیت فعال 1α-OH-D_3 بر رشد بوقلمون‌ها چندان مورد بررسی قرار نگرفته است. این متابولیت پتانسیل زیستی بیشتری نسبت به D_3 دارد و به سرعت در کبد هیدروکسیله شده و به شکل فعال -(1,25-$(OH)_2$-D_3) تبدیل می‌شود. زیرا به جای دو کربن تنها یک کربن آن هیدروکسیله می‌شود بنابراین نیازی به عبور از کلیه جهت هیدروکسیله شدن ندارد. ولی D_3 باید دو مرحله هیدروکسیلاسیون را سپری کند (۱). از این‌رو، هدف این آزمایش بررسی اثر استفاده از ۱-آلفا کوله‌کلسیفرول بر عملکرد رشد و قابلیت هضم ایلئومی کلسیم و فسفر جیره در بوقلمون بود.

مواد و روشها

این آزمایش در مزرعه‌ای واقع در شهرستان شهریار، ۲۰ کیلومتری جنوب غربی تهران انجام گرفت. بدین منظور، از تعداد ۲۲۵ قطعه بوقلمون نر گوشتی یک روزه سویه برنز با میانگین وزنی ۶۵ گرم استفاده شد. جوجه بوقلمون‌ها به طور تصادفی به ۳ تیمار در ۵ تکرار و ۱۵ قطعه پرنده در هر تکرار اختصاص یافتند. واکسیناسیون طبق برنامه بهداشتی سازمان دامپزشکی صورت گرفت. احتیاجات غذائی بوقلمون‌ها بر اساس اطلاعات مندرج در NRC (۱۹۹۴) برای دو دوره ۴-۱ هفتگی و ۸-۵ هفتگی تامین شد (جدول ۱) (۱۵). تیمارهای آزمایشی از ۱ تا ۴ هفتگی شامل ۱) شاهد، حاوی ۴۵۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین D_3، ۲) حاوی ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی ۱-آلفا هیدروکسی کوله کلسیفرول (1α-OH-D_3) (Vitamin Derivatives, Inc; Georgia, USA) (بدون D_3) و ۳) حاوی ۱۷۵۰ واحد بین‌المللی 1α-OH-D_3 + ۲۲۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم جیره و از ۵ تا ۸ هفتگی شامل ۱) شاهد حاوی ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم ویتامین D_3، ۲) حاوی ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی 1α-OH-D_3 (بدون D_3) و ۳) حاوی

۱۵۰۰ واحد بین‌المللی 1α-OH-D_3 + ۱۷۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم جیره بودند.

دسترسی به آب و دان آزادانه بود. دمای سالن در آغاز $^{\circ}C$۳۲ در نظر گرفته شد و هر هفته دو درجه از میزان آن کاسته شد تا به دمای $^{\circ}C$۲۰ رسید. میزان رطوبت نسبی سالن ۶۰٪ بود. برنامه نوری بصورت ۱۶ ساعت روشنائی و ۸ ساعت تاریکی در طول پرورش تنظیم شد. در هفته پایانی آزمایش، جهت تعیین قابلیت هضم ایلئومی کلسیم و فسفر، ۰/۲ درصد اکسیدکرم (Cr_2O_3) به عنوان معرف به جیره افزوده شد (۱۶). میزان دان مصرفی و میانگین وزن و ضریب تبدیل خوراک هر ۲ هفته یکبار و با در نظر گرفتن تلفات محاسبه شد.

در روزهای ۲۸ و ۵۶ آزمایش دو پرنده از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب و از سیاهرگ بال خونگیری شد. پس از جدا سازی، سرم‌های خونی جهت اندازه‌گیری سطح کلسیم، فسفر و آنزیم آلکالین فسفاتاز (با استفاده از کیت‌های آریا طب) به آزمایشگاه ارسال شد. در پایان آزمایش، از هر تکرار دو قطعه پرنده به طور تصادفی انتخاب و با جابجائی مهره گردن کشتار شدند. برای تعیین قابلیت هضم ایلئومی کلسیم و فسفر، محتویات انتهای ایلئوم جمع‌آوری شد (۱۷). مقدار کلسیم و فسفر استخوان درشت نی پای راست پرندگان کشتار شده، پس از خشک و خاکستر کردن آن با استفاده از اسپکترومتر جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۱۸).

داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی، با بکارگیری رویه GLM در نرم‌افزار SAS 9.2 آنالیز شد (۱۹). نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، به ترتیب با آزمون شاپیرو-ویلک و لِوین بررسی شد. تبدیل arc-sine روی داده‌های درصدی انجام گرفت. میانگین‌ها به کمک آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار محافظت شده‌ی فیشر (Fisher's LSD) در سطح احتمال ۰/۰۵ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج جدول ۲ اثر تیمارهای آزمایشی را بر میانگین وزن بدن بوقلمون‌ها در هفته‌های دوم، چهارم، ششم و هشتم نشان می‌دهد. براساس اعداد این جدول، طی آزمایش، در هیچ‌یک از مراحل رشد، استفاده از 1α-OH-D_3 اثر معنی‌داری بر وزن بدن نداشت که همسو با نتایج Heim و همکاران (۱۹۹۰) بود (۱۳). آنها گزارش کردند که متابولیت‌های فعال 25-OH-D_3 و 1,25-$(OH)_2$-D_3 در جیره و یا بصورت تزریقی تغییر معنی‌داری در وزن بدن بوقلمون‌ها ایجاد نکردند.

Bar و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که µg/kg ۱۲/۵ ویتامین D_3 برای حداکثر رشد بدن جوجه گوشتی کافیست و تغذیه جیره‌هایی با مقادیر اضافی D_3 (۲۵۰ و یا ۱۲۵۰µg/kg) حتی سبب کاهش وزن شد (۲۰). در آزمایش حاضر به نظر می‌رسد که سطح D_3 جیره شاهد برای تولید متابولیت‌های فعال آن و حداکثر رشد کافی بوده است.

جدول ۱- مواد تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

اقلام جیره (٪)	هفته ۴-۱	هفته ۸-۵
ذرت	۳۶/۵۹	۲۸/۶۱
گندم	۱۵/۴۰	۲۵/۰۳
کنجاله سویا (۴۸٪)	۴۰/۰	۳۷/۰۰
روغن سویا	۰/۰۲	۱/۵۸
پودر ماهی	۲/۹	۳/۰۰
کربنات کلسیم	۱/۰۲	۰/۹۷
دی کلسیم فسفات	۲/۲۶	۲/۱۳
نمک	۰/۳۰	۰/۳۱
جوش شیرین	۰/۱۰	۰/۱۰
دی‌ال متیونین	۰/۱۸	۰/۱۷
ال لایسین هیدروکلراید	۰/۵۰	۰/۵۰
ال ترئونین	۰/۲۰	۰/۲۰
مکمل معدنی و ویتامینی*	۰/۵۰	۰/۵۰
ضد کوکسیدیوز	۰/۰۳	۰/۰۳
ترکیب شیمیایی جیره		
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)	۲۸۰۰	۲۹۰۰
پروتئین خام (٪)	۲۶/۷۰	۲۵/۵۰
لایسین (٪)	۱/۸۰	۱/۷۰
اسیدهای آمینه گوگرددار (٪)	۱/۰۲	۰/۹۷
کلسیم (٪)	۱/۲۰	۱/۰۶
فسفر قابل دسترس (٪)	۰/۶۰	۰/۵۰
سدیم (٪)	۰/۱۷	۰/۱۶

* مکمکل ویتامینی- معدنی فاقد ویتامین D۳ مورد استفاده قرار گرفت که حاوی ۹۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی رتینول، ۰/۴ گرم منادیون، ۰/۱۵ گرم سیانوکوبالامین، ۳ گرم پانتوتنیک اسید، ۰/۱۸ گرم تیامین، ۰/۳ گرم پیریدوکسین، ۱۶ گرم منگنز (به شکل اکسید منگنز ۶۲٪)، ۲ گرم سلنیوم (به شکل سلنیت سدیم ۱٪)، ۲۵ گرم آهن (به شکل سولفات فروس ۲۰٪)، ۴ گرم مس (به شکل سولفات مس ۲۵٪)، و ۰/۱۶ گرم ید (به شکل یدات کلسیم ۶۲٪) بود.

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد جوجه بوقلمون‌ها

تیمارهای آزمایشی*	هفته ۲-۰	هفته ۴-۲	هفته ۶-۴	هفته ۸-۶
		مصرف خوراک (گرم)		
شاهد	۴۰۳±۱۹	۱۵۸۶±۱۱۱	۳۴۰۲±۲۷۹	۷۳۱۵±۴۷۲
۱-آلفا	۴۰۹±۱۷	۱۵۱۸±۸۲	۳۶۰۰±۱۸۷	۷۴۰۷±۵۵۵
۱-آلفا+ ویتامین دی	۴۰۶±۱۶	۱۴۹۱±۱۵۳	۳۶۸۱±۱۴۸	۷۵۴۲±۳۱۶
مقدار P	۰/۸۵۲	۰/۶۷۶	۰/۴۴۵	۰/۷۳۸
		وزن بدن (گرم)		
شاهد	۳۱۰±۲۳	۱۰۱۰±۹۱	۲۱۰۰±۱۶۳	۳۸۱۰±۲۴۵
۱-آلفا	۳۳۰±۲۰	۱۰۴۰±۱۱۷	۲۲۵۰±۱۲۹	۳۹۴۰±۲۲۲
۱-آلفا+ ویتامین دی	۳۲۵±۱۴	۱۰۵۰±۷۲	۲۳۹۰±۱۴۱	۴۱۹۰±۱۹۷
مقدار P	۰/۲۸۸	۰/۷۸۴	۰/۱۴۰	۰/۰۵۳
		ضریب تبدیل خوراک		
شاهد	۱/۳۰±۰/۱۴	۱/۵۷±۰/۷۰	۱/۶۲±۰/۰۵	۱/۹۲±۰/۰۴
۱-آلفا	۱/۲۴±۰/۱۱	۱/۴۶±۰/۱۰	۱/۶۰±۰/۰۱	۱/۸۸±۰/۰۴
۱-آلفا+ ویتامین دی	۱/۲۵±۰/۱۰	۱/۴۲±۰/۱۴	۱/۵۴±۰/۱۳	۱/۸۰±۰/۰۲
مقدار P	۰/۶۰۳	۰/۵۰۲	۰/۶۲۴	۰/۴۴۹

*جیره شاهد حاوی ۴۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم خوراک؛ جیره ۱-آلفا حاوی ۰/۱۴ گرم ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول در کیلوگرم خوراک؛ جیره ۱-آلفا+ ویتامین دی، حاوی ۰/۰۷ گرم ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول بعلاوه ۲۲۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم خوراک.

جایگزینی ۵۰ و ۱۰۰ درصد ویتامین D3 با ۱-آلفا کوله کلسیفرول اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک در هفته‌های دوم، چهارم، ششم و هشتم آزمایش نداشت (جدول ۲). برخلاف این نتایج، Suarez و همکاران (۱۹۸۳) مشاهده کردند که پس از ۶ هفته از مصرف 1α-OH-D_3 به میزان ۶/۸ µg/kg، مصرف خوراک در مرغان تخمگذار کاهش یافت (۲۱). Han و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که افزودن ۵ میکروگرم-1α OH-D_3به هر کیلوگرم جیره، سبب کاهش عملکرد رشد و مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی شد (۸). بدین ترتیب در این آزمایش استفاده از 1α-OH-D_3 تاثیری بر عملکرد رشد بوقلمون‌ها نداشت. مغایر با نتایج مطالعه حاضر، Edwards و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که افزودن 1α-OH-D_3 به جیره جوجه گوشتی، عملکرد رشد را بهبود داد (۷).

نتایج نشان می‌دهد که ۵۰ و یا ۱۰۰ درصد جایگزینی 1α-OH-D_3 به جای ویتامین D_3 سبب افزایش سطح کلسیم و فسفر خون در هفته‌های چهارم و هشتم آزمایش شد (جدول ۳؛ $P<0.05$). Edelstein و همکاران (۱۹۸۷) و Haussler و همکاران (۱۹۷۳) نشان دادند که استفاده از 1α-OH-D_3 در جیره با بهبود جذب کلسیم، سبب افزایش سطح کلسیم پلاسما در جوجه‌ها شد (۲۲، ۲۳). همچنین Han و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که افزایش سطح 1α-OH-D_3 در جیره جوجه گوشتی، سبب افزایش خطی در غلظت کلسیم پلاسما می‌شود (۲۴). Warren و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که استفاده از 1α-OH-D3 به میزان 5µg/kg در جیره جوجه گوشتی جذب کلسیم را در دوره آغازین افزایش داده و سبب افزایش سطح یون کلسیم در خون شد (۱). کلسیم خون به

دلایـل متفاوتی از جمله نیاز به کنترل توزیع آن در بافت‌ها و حفظ pH خون، به شـــدت تنظیم می‌شـــود (۲۵). افزایش غلظت کلسیم خون نشان می‌دهد که نیاز کلسـیمی این جوجه‌ها تامین شده و کلسیم به احتمال زیاد دفع و یا در اسـتخوان ذخیره می‌شـود که به دلیل تنظیم شـدید سـطح کلسیم خون است، با اینحال 1α-OH-D_3 بـا عـدم عبور از کلیه که محل تنظیم مهمی اسـت، ممکن اسـت سـبب جذب بیشـتر کلسیم شده و ایجاد سـطوح سـمی کلسـیم کند (۲۶). گرچه سـطح مسـمومیت‌زای کلسـیم یونی خون در جوجه گوشـتی گزارش نشـده اسـت، ولی کاهش رشـد دیده شده است (۲۷).

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر سطح کلسیم و فسفر خون جوجه بوقلمون‌ها (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

تیمارهای آزمایشی*	هفته چهارم فسفر	هفته هشتم کلسیم	هفته چهارم فسفر	هفته هشتم کلسیم
شاهد	۳۴/۸^{b}±۰/۳۶	۵/۲۱^{b}±۰/۳۸	۷/۸۰^{b}±۰/۳۳	۶/۷۵^{b}±۰/۴۷
۱-آلفا	۶/۹۱^{a}±۰/۶۹	۷/۶۲^{a}±۰/۶۶	۹/۴۰^{a}±۰/۳۴	۹/۰۵^{a}±۰/۴۹
۱-آلفا+ ویتامین دی	۷/۱۴^{a}±۰/۶۲	۷/۹۰^{a}±۰/۶۴	۹/۳۵^{a}±۰/۴۸	۹/۱۰^{a}±۰/۴۸
مقدار P	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

*جیره شـاهد حاوی ۴۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم خوراک؛ جیره ۱-آلفا حاوی ۰/۱۴ گرم ۱-آلفا هیدروکسـی کوله‌کلسیفرول در کیلوگرم خوراک؛ جیره ۱-آلفا+ ویتامین دی، حاوی ۰/۰۷ گرم ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول بعلاوه ۲۲۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم خوراک.

$^{a-b}$ در هر ستون حروف متفاوت نشانه وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

Warren و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که مصرف 1α-OH-D_3 در دوره رشد جوجه‌های گوشتی، همچنانکه سـطح کلسـیم پلاسما را افزایش داد، موجب کاهش غلظت 25-OH-D_3 در پلاسـما شـد (۱). آنها پیشـنهاد کردند که در دوره رشـد در صورت استفاده از 1α-OH-D_3 بایسـتی سـطح کلسـیم جیره را کاهش داد. زیرا کلســیم مـازاد پتانســیل ســمی بودن یا آنتاگونیستی دارد. ولی در دوره آغازین استفاده از 1α-OH-D_3 مفید بود.

نتایج جدول ۴ نشـان می‌دهد که سـطح کلسـیم و فسـفر اسـتخوان درشت‌نی در هفته هشتم آزمایش، در پرندگان تغذیه شـده با 1α-OH-D_3 در مقایسـه با پرندگان گروه شـاهد به طور معنی‌داری بالاتر اسـت ($P<0.05$). کلسـیم ارتباط مهمی با فسـفر دارد زیرا همراه با هم بخش عمده سـاختمان استخوان را تشکیل می‌دهند (۲۸).

همراســتا بـا نتـایج این آزمایش، Edelstein و همکاران (۱۹۷۸) نشان دادند که استفاده از 1α-OH-D_3 از طریق بهبود جذب کلسیم، موجب افزایش سطح کلسـیم پلاسـما در جوجه‌ها شده و بدین طریق کلسیم بیشـتری در اختیار اسـتخوان قرار گرفته و سبب بهبود آهکی شـدن استخوان و افزایش استحکام درشت‌نی شد (۲۲). در حالی‌که Warren و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند جوجه‌های گوشـتی که جیره حاوی 1α-OH-D_3 به همراه D_3 مصرف کردند در مقایسه با جوجه‌هایی که تنها D_3 مصـرف کرده بودند، سـطح کلسـیم یونی پلاسـمای پائین‌تری داشـتند (۱)؛ این پژوهشگران بیان کردند که 1α-OH-D_3 راندمان اسـتفاده از کلسـیم را افزایش داده و کلســیم بیشــتری را برای متابولیســم ورســوب در اســتخوان این پرنـدگان (در مقایســه با پرندگانی که تنها D_3 مصــرف کرده و غلظت کلســیم یونی خون‌شان بالاتر بود)، فراهم می‌کند.

هـمـچـنـین Roberson و همکـاران (۱۹۹۹) و Sheikhlar و همکاران (۲۰۰۹) اثر استفاده از متابولیت فعـال دیگری از D_3 یعنی 1,25-$(OH)_2$-D_3 را در افزایش درصد خاکستر استخوان درشت‌نی به ترتیب در

جوجه‌های گوشتی (۲۹) و بلدرچین ژاپنی (۳۰) گزارش گردند. Rennie و Whitehead (۱۹۹۶) نشان دادند کـه افـزودن D_3 بـه جـیره جوجـه‌هـای گوشـــتی، ناهنجاری‌های اسکلتی را کاهش نداد ولی با استفاده از مـتـابـولیـت فعـال $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D_3$ از شـــدت دیسکندروپلازی درشت‌نی و مشکلات پا، به میزان قابل توجهی کاســته شــد (۱۰). Sander و Edwards (۱۹۹۱) استفاده از $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D_3$ را به عنوان یک مکمـل جیره‌ای برای جلوگیری از مشـــکلات پـا در بوقلمون توصـــیـه کردنـد (۱۴). بـه هر حـال $1, 25\text{-}(OH)_2\text{-}D_3$ مهم‌ترین شـــکل ویتامین D در تحریک جذب کلســیم از روده اســت ولی ســنتز $1\alpha\text{-OH-}D_3$ ارزانتر از شکل فعال $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D_3$ است (۲۶).

جدول ۴- اثر تیمارهای آزمایشی بر سطح کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی، قابلیت هضم ایلئومی کلسیم و فسفر و فعالیت آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم جوجه بوقلمون‌ها

تیمارهای آزمایشی*	کلسـیم اسـتخوان (g/kg)	فســفر اســتخوان (g/kg)	قابلیت هضـم کلسیم (٪)	قابلیت هضم فسفر (٪)	ALP (IU/L)
شاهد	۳۳۶^{b}±۲۶	۱۶۰^{b}±۱۱	۲۹^{b}±۱/۶	۳۴^{ab} ±۲/۵	۶۳^{a}±۳
۱-آلفا	۳۹۹^{a}±۲۱	۱۹۷^{a}±۱۲	۴۱^{a}±۲/۲	۴۷^{a}±۲/۶	۵۲^{b}±۱/۸
۱-آلفا+ ویتامین دی	۴۰۴^{a}±۲۰	۱۹۸^{a}±۱۰	۴۰^{a}±۱/۹	۴۶^{a}±۲/۱۶	۵۳^{b}±۱/۹
مقدار P	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

*جیره شـاهد حاوی ۴۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم خوراک؛ جیره ۱-آلفا حاوی ۰/۱۴ گرم ۱-آلفا هیدروکسـی کوله‌کلسیفرول در کیلوگرم خوراک؛ جیره ۱-آلفا+ ویتامین دی، حاوی ۰/۰۷ گرم ۱-آلفا هیدروکسی کوله‌کلسیفرول بعلاوه ۲۲۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3 در کیلوگرم خوراک.

$^{a-b}$ در هر ستون حروف متفاوت نشانه وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که ۵۰ یا ۱۰۰ درصد جایگزینی D_3 با $1\alpha\text{-OH-}D_3$ سبب افزایش معنی‌دار قابلیت هضـم ایلئومی کلسیم و فسفر شد ($P<0.05$). Diaz و Edita (۲۰۱۸) گزارش کردنـد که مکمل $1\alpha\text{-OH-}D_3$ قابلیت هضـم کلسـیم، فسفر و منگنز را در جیره‌هایی که کمبود کلسیم داشتند، بهبود بخشید ولی در آزمایش حاضـر، کمبود کلسـیمی در جیره‌های آزمایشـی نبود (۳۲). Yi و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند چنانچه جوجه‌های گوشـــتی تا ۱۸ روزگی در معرض کمبود کلسـیم باشـند، این عنصـر را با راندمان بالاتری از روده جذب می‌کنند (۳۱). به هر حال $1\alpha\text{-OH-}D_3$ در لوله گوارش در pH بالا عمل کرده و به جذب کلســیم و فســفر از روده کمک می‌کند. $1\alpha\text{-OH-}D_3$ بعد از جذب به سـرعت به شـکل فعال $1, 25\text{-}(OH)_2\text{-}D_3$ تبدیل می‌شـود و جذب کلسـیم و فســفر را افزایش می‌دهد. در نتیجه مقدار کلســیم صابونی شده با اسیدچرب در لوله گوارش کاهش یافته، و حتی جذب چربی نیز بهبود می‌یابد (۳۲). همچنین گزارش شده که عملکرد رشد پرندگان، رابطه درجه دو با مقدار کلســیم داشــته و با تغذیه $1\alpha\text{-OH-}D_3$ (نسـبت به D_3) قابلیت هضـم کلسـیم افزایش می‌یابد (۳۲). ولی در مطالعه حاضـر افزایش قابلیت هضـم کلســیم و فســفر منجر به افزایش رشــد نشــد. Applegate و هـمـکـاران (۲۰۰۳) و Tamim و همکاران (۲۰۰۴) نشـان دادند که کلسـیم موجود در روده قـابلیـت انحلال فیتـات را کـاهش می‌دهد در حالی‌که متابولیت $1\alpha\text{-OH-}D_3$ موجب افزایش جذب کلسـیم و قابلیت انحلال فیتات شده و در نهایت سبب افزایش فعالیت فیتاز روده‌ای می‌شود (۳۳، ۳۴).

نتایج جدول ۴ نشـان می‌دهد که استفاده از 1α-OH-D_3 در جیره بوقلمون ســبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلکالین فسـفاتاز خون در هفته هشــتم آزمـایش شــد ($P<0.05$). آلکـالین فســفاتاز یک متالوآنزیم حاوی روی است که نقش کلیدی در معدنی شــدن اســتخوان ایفـا می‌کند (۳۵) و یک معرف اختصـاصـی برای اسـتئوبلاسـتهائی است که در آهکی شدن استخوان نقش دارند (۳۶). کمبود ویتامین D در طیور ســبب کاهش کلســیم خون و افزایش آلکالین فسفاتاز خون می‌شود (۳۷). به نظر می‌رسد که فعالیت آنزیم‌های هیدروکســیلاز کبد و کلیه برای فعال کردن D_3 و ســنتز متابولیت‌های فعال D_3 در جوجه‌های گوشــتی کافی نیست (۳۸). به علاوه کاهش فسفر غیر آلی ســبب افزایش ســنتز ALP می‌شــود. مقدار این آنزیم با افزایش ســطح فســفر خون کاهش و تنظیم می‌شــود و در واکنش به کاهش ســطح فســفر، ســنتز ALP افزایش می‌یابد (۳۹).

Heim و همکـاران (۱۹۹۰) گزارش کردنـد که اســتفاده از 25-OH-D_3 و 1,25-$(OH)_2$-D_3 در خوراک و یا به صورت تزریقی تغییری در سطح کلسیم، فسـفر و ALP ســرم خون و همچنین میزان پروتئین متصـل به کلســیم ایجاد نکرد (۱۳). Atia و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که استفاده از فیتاز فعالیت ALP را در بافت استخوان بوقلمون کاهش داد (۴۰).

در آزمایش حاضــر جیره‌های حاوی 1α-OH-D_3 ســبب افزایش ســطح کلســیم و فســفر خون و کاهش ســطح ALP شدند. به نظر می‌رسد که چنانچه جذب کلســیم و فســفر پائین باشــد، فعالیت ALP افزایش می‌یابد تا به جذب هرچه بیشــتر کلسیم و فسفر کمک کند.

با توجه به نتایج بدســت آمده، جایگزینی ۵۰ و ۱۰۰ درصـد D_3 با ۱-آلفا هیدروکسی کوله کلسیفرول در جیره بوقلمون اثری بر وزن بدن، مصـرف خوراک و ضـریب تبدیل غذایی تا هفته هشــتم پرورش نداشــت؛ ولی قابلیت هضــم ایلئومی کلســیم و فســفر و ســطح کلســیم و فســفر خون و اســتخوان را افزایش داد و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز خون نیز کاهش یافت. به نظر می‌رســد بتوان از 1α-OH-D_3 جهـت بهبود کیفیت استخوان و جلوگیری از مشکلات پا در بوقلمون اســتفاده کرد، ولی به پژوهش‌های بیشــتری در این زمینه نیاز است.

سپاسگزاری

نویســندگان مقاله از حمایت شــرکت پیشــگامان تغذیه دام و طیور جهت در اختیار قرار دادن ۱-آلفا کوله کلسیفرول برای انجام این پژوهش، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

Refrences

1-Warren MF, Vu TC, Toomer OT, Fernandez JD, Livingston KA. Efficacy of 1-α-hydroxycholecalciferol supplementation in young broiler feed suggests reducing calcium levels at grower phase. *Frontiers in Veterinary Science.* 2020; 10(7): 245.

2-Van Etten E, Stoffels K, Gysemans C, Mathieu C and Overbergh L. Regulation of vitamin D homeostasis: implications for the immune system. *Nutrition Reviews.* 2008; 66: S125–S134.

3-Shanmugasundaram R, Morris A and Selvaraj RK. Effect of 25-hydroxycholecalciferol supplementation on turkey performance and immune cell parameters in a coccidial infection model. *Poultry Science.* 2019; 98(3): 1127-1133.

4-Bar A, Edelstein S, Eisner U, Ben-Gal I and Hurwitz S. Cholecalciferol requirements of young turkeys under normal conditions and during recovery from rickets. *The Journal of Nutrition.* 1982; 112(9): 1779–1786.

5-Norman AW. 1979. Vitamin D: The calcium homeostatic steroid hormone, pp. 374-401, Academic Press, New York.

6-Waldenstedt L. Nutritional factors of importance for optimal leg health in broilers: a

14-Sanders AM and Edwards Jr HM. The effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol on performance and bone development in the turkey poult. *Poultry Science*. 1991; 70(4): 853-866.

15-National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. National Academy of Science, Washington, D. C.

16-de Vries S, Kwakkel RP, Pustjens AM, Kabel MA, Hendriks WH and Gerrits WJ. Separation of digesta fractions complicates estimation of ileal digestibility using marker methods with Cr_2O_3 and cobalt-ethylenediamine tetraacetic acid in broiler chickens. *Poultry Science.* 2014; 93(8): 2010-7.

17-Rodríguez ML, Ortiz LT, Alzueta C, Rebolé A and Treviño J. Nutritive value of high-oleic acid sunflower seed for broiler chickens. *Poultry Science.* 2005; 84(3): 395-402

18-AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.

19-SAS Institute. 2001. SAS User's Guide: Statistics, Version. 9.01 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

20-Bar A, Shinder D, Yosefi S, Vax E, Plavnik I. Metabolism and requirements for calcium and phosphorus in the fast-growing chicken as affected by age. *British Journal of Nutrition.* 2003; 89: 51-60.

21-Soares JH Jr, Kaetzel DM, Allen JT and Swerdel MR. Toxicity of a vitamin D steroid to laying hens. *Poultry Science.* 1983; 62-(1):24-9.

22-Edelstein S, Noff D, Freeman D, Sheves M and Mazur Y. Synthesis of 1-α-hydroxy [7-3H] cholecalciferol and its metabolism in the chick. *Biochemical Journal.* 1978; 176: 111–117.

23-Haussler MR, Zerwekh JE, Hesse RH, Rizzardo E and Pechet MM. 1973. Biological activity of lα hydroxycholecalciferol, a review. *Animal Feed Science and Technology*. 2006; 126: 291–307.

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

8-Han JC, Yang XD, Zhang T, Li H, Li WL, Zhang ZY and Yao JH. 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. *Poultry Science.* 2009; 88: 323–329.

9-Han JC, Wang YL, Qu HX, Liang F, Zhang JL, Shi CX, Zhang XL, Li L, Xie Q, Wang CL, Yan YY, Dong Xs and Cheng YH. One alpha hydroxycholecalciferol improves growth performance, tibia quality, and meat color of broilers fed calcium- and phosphorus-deficient diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2012; 25: 267–271.

10-Rennie JS and Whitehead CC. Effectiveness of dietary 25- and 1α hydroxycholecalciferol in combating tibial dyschondroplasia in broiler chickens. *British Poultry Science.* 1996; 37:413–421.

11-Snow JL, Baker DH and Parsons CM. Phytase, citric acid, and 1α hydroxycholecalciferol improve phytate phosphorus utilizeation in chicks fed a corn soybean meal diet. *Poultry Science*. 2004; 83:1187–1192.

12-Bar A, Dubrov D, Zisner U and Hurwitz S. Calcium-binding protein and kidney 25-hydroxy-cholecalciferol-1 hydroxylase activity in turkey poults. *Journal of Nutrition.* 1978; 108(9): 1501-1507.

13-Heim G, Weiser H Rambeck WA. Einflüsse verschiedener Vitamin-D-Metaboliten auf das Beinschwäche-Syndrom bei Mastputen. Z *Ernährungswiss.* 1990; 29: 178-183.

synthetic analog of the hormonal form of vitamin D3. Pp. 2248–2252. Proceeding of National Academic Science. USA.

24-Han J, Wang J, Chen G, Zhang J, Zhang N and Qu H. 1αHydroxycholecalciferol improves the growth performance and up-regulates the mRNA expression of vitamin D receptor in the small intestine and kidney of broiler chickens. *Poultry Science.* 2018; 97: 1263-1270.

25-Moore EW. Ionized calcium in normal serum, ultrafiltrates, and whole blood determined by ion-exchange electrodes. *Journal of Clinical Investigation*. 1970; 49: 318-334.

26-Biehl RR, Baker DH and Deluca HF. 1 alpha-Hydroxylated cholecalciferol compounds act additively with microbial phytase to improve phosphorus, zinc and manganese utilization in chicks fed soy-based diets. *Journal of Nutrition.* 1995; 125: 2407-16.

27-Hurwitz S, Plavnik I, Shapiro A, Wax E, Talpaz H and Bar A. Calcium metabolism and requirements of chickens are affected by growth. *Journal of Nutrition.* 1995; 125: 2679–2686.

28-Holick MF. Vitamin D and bone health. *Journal of Nutrition.* 1996; 126: 1159-1164.

29-Roberson KD. 25-Hydroxycholecalciferol fails to prevent tibial dyschondroplasia in broiler chicks raised in battery brooders. *The Journal of Applied Poultry Research*. 1999; 8: 54-61.

30-Sheikhlar A and Navid S. Effect of dietary 1, 25-dihydroxycholecalciferol concentration on growth performance and bone characteristics of Japanese quail fed diet deficient in calcium and phosphorus. *Pakistan Journal of Nutrition.* 2009; 8(10): 1517-1520.

31-Yi Z, Kornegay ET, Ravindran V and Denbowand DM. Improving phytate phosphorus availability in corn soybean meal for broilers using microbial phytase and calculation of phosphorus equivalency values for phytase. *Poultry Science.* 1996; 75(2): 240-249.

32-Diaz SM and Edita V. 2018. Effects of 1-α-hydroxycholecalciferol and other vitamin D analogs on live performance, bone development, meat yield and quality, and mineral digestibility on broilers. MSc thesis. Poultry Science Department. North Carolina State University.

33-Applegate TJ, Angel R and Classen HL. Effect of dietary calcium, 25hydroxycholecalciferol, or bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. *Poultry Science.* 2003; 82: 1140-8.

34-Tamim NM, Angel R and Christman M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. *Poultry Science.* 2004; 83(8):1358-67.

35-Viveros A, Brenes A, Arija I and Centeno C. Effect of microbial phytase supplementing on mineral utilization and serum enzyme activates in broiler chicks fed different levels of phosphorous. *Poultry Science*. 2002; 81: 1172-1183.

36-Osyczka AM and Leboy PS. Bone morphogenetic protein regulation of early osteoblast genes in human marrow stromal cells is mediated by extracellular signal-regulated kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *Endocrinology*. 2005; 146: 3428–3437.

37-Cheville NF and Horst LR. Pathology of Experimental Vitamin D Deficiency in Chickens and Effects of Treatment with Vitamin D Metabolites. *Veterinary Pathology.* 1981; 18: 638-651.

38-Chaksari I, Zaghari M and Khalaji S. Effects of 1α-OH-D3 on broiler chickens, performance. *Iranian Journal of animal Science.* 2013; 44(1): 23-33. [in Persian]

39-Nakagi VS, Amaral CMC, Stech MR, Lima ACF, Harnich FAR, Laurentiz AC and

40-Atia FA, Waibel PEI, Hermes I, Carlson CW and Walser MM. Effect of dietary phosphorus, calcium, and phytase on perfo-rmance of growing turkeys. *Poultry Science*. 2000; 79: 231–239.

Pizauro Júnior JM. Acid and alkaline phosphatase activity in broiler chicks fed with different levels of phytase and non-phytate phosphorus. *Journal of Applied Animal Research*. 2013; 41: 229–233.

Effect of 1α-OH-Cholecalciferol Supplementation on Ileal Digestibility of Dietary Calcium and Phosphorus and Growth Performance of Turkey Poults

Maryam Khaksar Boldaji[1], Fatemeh shirmohammad[2*], Morteza Mehri[2]
1-M.Sc. Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2-Assistant professor, Department of Animal Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
* Corresponding Author: shirmohammad.f@gmail.com
Received: 17/10/2023, Accepted: 16/12/2023

Abstract
The current study was aimed to investigate the effect of 1α-OH-D_3 on ileal digestibility of dietary calcium and phosphorus and turkey performance. A total of 225 one-day- old male bronze strain turkey with a mean body weight of 65 g were allocated to 3 treatments with 5 replications (each, 15 birds) for 8 weeks, under a completed randomized design. Diets were adjusted separately for two periods 1-4 and 5-8 weeks of age. The experimental treatments, for the first period were consisted: 1) control, containing D3 (4500 IU/kg) 2) 1α-OH-D_3 (0.14 gr/kg without D_3) 3) 1α-OH-D_3 (0.07 gr/kg) + D_3 (2250 IU/kg) and for the second period of experiment were consisted: 1) control, containing D_3 (3500 IU/kg) 2) 1α-OH-D_3 (0.12 gr/kg) 3) 1α-OH-D_3 (0.06 gr/kg) + D_3 (1750 IU/kg) in the diet. The results showed that no significant differences exist among treatments in turkeys' body weight, feed intake and feed conversion ratio. However, the use of 1α-OH-D_3 in treatments 2 and 3 increased the ileal digestibility of calcium and phosphorus and the levels of calcium and phosphorus in plasma and bone, also decreased the activity of alkaline phosphatase in plasma, in compared to the control group ($P<0.05$). Our findings imply that inclusion 1α-OH-D_3 to the diet did not affect on growth performance in turkeys. However, it caused to increase absorption and accumulation of calcium and phosphorus in bone. In conclusion, 1α-OH-D_3 can be used to improve the quality of the turkey bone, alone or in combination with D_3.

Keywords: turkey, D_3, 1α-OH-cholecalciferol, Digestibility, Bone