



## تاثیر ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول و عصاره هیدروالکلی پودر شده پنیر باد (*Withania Coagulans*) بر عملکرد و استحکام استخوان درشت نی جوجه‌های نر گوشتی

سید جواد حسینی<sup>۱</sup>، حسن کرمانشاهی<sup>۲</sup>، حسن نصیری مقدم<sup>۳</sup>، ابوالقاسم نبی‌پور<sup>۲</sup> و احمد حسن آبادی<sup>۲</sup>

۱- دکتری، دانشگاه فردوسی مشهد، (نویسنده مسؤل: h.seyedjavad@yahoo.com)

۲ و ۳- استاد و دانشیار، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۲

### چکیده

به منظور بررسی تاثیر ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی و عصاره هیدروالکلی پودر شده پنیر باد بر عملکرد و استحکام استخوان درشت نی، آزمایشی با ۶۰۰ قطعه جوجهی نر گوشتی راس ۳۰۸ انجام گرفت. جوجه‌ها از یک روزگی با ۱۲ تیمار غذایی در یک طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۳×۲ تغذیه شدند. تیمارهای آزمایشی شامل دو نوع جیره کنترل، سه سطح عصاره پودر شده پنیر باد (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره) و دو سطح کلسیتریول (صفر و ۰/۵ میکروگرم در کیلوگرم جیره) بودند. تاثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد معنی‌دار نبود. در ۴۲ روزگی کاهش ۳۰ درصدی کلسیم در جیره‌های کنترل منفی منجر به کاهش ضخامت درشت نی شد ( $P < 0/05$ ). مکمل‌سازی ۰/۵ میکروگرم کلسیتریول موجب افزایش معنی‌دار انرژی شکست در ۴۲ روزگی شد ( $P < 0/01$ ). افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره پودر شده پنیر باد موجب افزایش نیروی شکافت ( $P < 0/05$ ) و انرژی شکست ( $P < 0/01$ ) استخوان درشت نی در ۴۲ روزگی گردید. نتایج این آزمایش با تایید اثرات مثبت کلسیتریول بر استحکام استخوان، نشان داد که افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره پودر شده پنیر باد می‌تواند بدون تاثیر منفی بر عملکرد رشد، باعث افزایش استحکام استخوان شود.

واژه‌های کلیدی: ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول، پنیر باد، استحکام استخوان، جوجه گوشتی

### مقدمه

بوته‌ای و دارای خواص درمانی متعددی است (۱) که این خواص را مرتبط با گروه خاصی از لاکتون‌های استروئیدی به نام ویتانولیدها<sup>۱</sup> می‌دانند (۵). تحقیقات بیوشیمیایی انجام شده روی میوه این گیاه منجر به شناسایی ویتانولیدهای متعددی در این گیاه دارویی شده است (۳، ۱۴، ۱۸). در بررسی اثرات شبه استروژنی ویتانولیدها، طهماسبی و همکاران (۲۵) با مطالعه روی یکی دیگر از گیاهان حاوی ویتانولید در این خانواده گزارش کردند که مکمل‌سازی ۱۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ریشه گیاه دارویی بوزیدان (*Withania Somnifera*) در جیره غذایی مرغ‌های تخم‌گذار در مرحله پایانی تولید، موجب افزایش ابقای کلسیم و فسفر در استخوان درشت نی می‌گردد. آنها مکانیسم این تغییرات را مرتبط با ویتانولیدهای شبه استروژنی دانستند که احتمالاً با تحریک آنزیم کلیوی ۲۵- هیدروکسی ویتامین D<sub>3</sub>-۱- آلفا هیدرواکسیلاز موجب افزایش تولید کلسیتریول می‌شود. به دلیل اثرات تایید شده کلسیتریول در معدنی شدن استخوان و نقش احتمالی ویتانولیدها در سوخت و ساز کلسیم و فسفر، در این مطالعه اثر کلسیتریول و عصاره هیدروالکلی پودر شده میوه پنیر باد بر سوخت و ساز کلسیم و فسفر و همچنین

سوخت و ساز ویتامین D<sub>3</sub> (Cholecalciferol) با منشاء خوراکی و یا درون‌زادی در پرندگان، شامل مجموعه‌ای از فرآیندها است که در آن ابتدا با هیدرواکسیلاسیون مولکول‌های ویتامین D<sub>3</sub> در موقعیت کربن ۲۵ در کبد، ۲۵-هیدروکسی کوله کلسیفرول (اصلی‌ترین شکل فعال ویتامین D<sub>3</sub> در پلاسما) تولید و سپس در کلیه با دومین هیدرواکسیلاسیون در موقعیت کربن شماره یک منجر به تولید فعالترین متابولیت ویتامین D<sub>3</sub>، ۱، ۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول (کلسیتریول)، می‌شود (۴، ۱۲). بهبود معدنی شدن استخوان در جوجه‌های گوشتی با مکمل‌سازی کلسیتریول یا سایر متابولیت‌های فعال ویتامین D<sub>3</sub> در جیره‌هایی با کلسیم ناکافی و یا فسفر بالا گزارش شده است (۶، ۱۰). همچنین بهبود در استحکام استخوان جوجه‌های گوشتی با افزودن کلسیتریول به جیره‌هایی با ویتامین D<sub>3</sub> ناکافی توسط نوف و همکاران (۱۶) مشاهده شده است. اثرات تنظیمی هورمون‌های استرادیولی در فعالیت آنزیم کلیوی ۲۵- هیدروکسی ویتامین D<sub>3</sub> ۱- آلفا هیدرواکسیلاز، آنزیم مسئول در تبدیل ۲۵- هیدروکسی ویتامین D<sub>3</sub> به کلسیتریول، پیش از این مشخص شده است (۹، ۱۹، ۲۴). پنیر باد (*Withania coagulans*) گیاهی همیشه سبز از خانواده سولاناسه،

خصوصیات مکانیکی استخوان، مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها عصاره‌گیری

میوه پنیر باد از یک فروشگاه محلی در شهرستان سراوان خریداری و توسط کارشناسان دانشکده گیاه‌شناسی دانشگاه فردوسی مورد شناسایی و تایید قرار گرفت. میوه‌ها پس از خشک شدن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و آسیاب با درشتی ۱ میلی‌متر، در اتانول ۵۰٪ قرار گرفتند. بعد از گذشت ۳ روز، مواد محلول در اتانول و آب در دو مرحله و با استفاده از پارچه صافی و سپس با کاغذ صافی و پمپ خلاء جدا و در دستگاه روتاری (Laborota 4000, Heidolph German)، تغلیظ و سپس در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. عصاره خشک به صورت پودر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا شروع آزمایشات بعدی نگهداری شد.

**پرنده‌گان و تیمارهای آزمایشی**

ششصد پرنده نر یک روزه از سویه راس ۳۰۸ به‌طور تصادفی به ۱۲ تیمار آزمایشی که هر یک دارای ۵ تکرار (هر تکرار ۱۰ پرنده) بود، اختصاص یافت. آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۳×۲ شامل دو نوع جیره پایه، جیره کنترل مثبت و کنترل منفی، سه سطح از عصاره پودر شده میوه پنیر باد (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره) و دو سطح کلسیتریول (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA) (صفر و ۰/۵ میکروگرم بر کیلوگرم جیره)، اجرا شد. کلسیتریول در کپسول‌های تجاری با وزن معین و به شکل مایع با به‌کارگیری روغن ذرت به‌عنوان حامل مورد استفاده قرار گرفت. هر دو جیره کنترل بر پایه ذرت و سویا و تمامی اجزای جیره بجز کلسیم بر اساس احتیاج توصیه شده سویه راس ۳۰۸ محاسبه شد. جیره کنترل منفی با کاهش ۳۰ درصد کلسیم جیره (با برداشت سنگ آهک و افزودن ماسه) تهیه شد (جدول ۱). آب و غذا در طول ۶ هفته آزمایش به‌طور آزاد در اختیار تمامی پرنده‌گان قرار گرفت.

جدول ۱- ترکیب جیره‌های پایه (% کنترل منفی)

	دوره آغازین (۱-۱۰ روزگی)		دوره رشد (۱۱-۲۳ روزگی)		دوره پایانی (۲۴-۴۲ روزگی)	
	کنترل مثبت	کنترل منفی	کنترل مثبت	کنترل منفی	کنترل مثبت	کنترل منفی
ذرت	۵۲	۵۲	۵۲/۲۰	۵۲/۲۰	۵۳	۵۳
کنجاله سویا	۳۵	۳۵	۳۷	۳۷	۳۶/۹۰	۳۶/۹۰
گلوتن ذرت	۵	۵	-	-	-	-
روغن آفتابگردان	۳/۲۷	۳/۲۷	۵/۸	۵/۸	۶/۵۶	۶/۵۶
سنگ آهک	۰/۵۳	۰/۵۳	۰/۴۰	۰/۴۰	۱/۰۳	۱/۰۳
دی کلسیم فسفات	۱/۷۵	۱/۷۵	۱/۵۵	۱/۵۵	۱/۴۰	۱/۴۰
نمک طعام	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۴۱	۰/۴۱
دی ال-متیونین	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۲۰	۰/۲۰
ال-لیزین	۰/۴	۰/۴	۰/۱۳	۰/۱۳	-	-
ال-ترئونین	۰/۱	۰/۱	-	-	-	-
مکمل ویتامینی ۱	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی ۲	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ماسه	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۶۷	۰/۶۷	-	۰/۶۶
انرژی و مواد مغذی محاسبه شده انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم)	۳۰۱۱/۴۷	۳۰۱۱/۴۷	۳۱۳۰/۹۷	۳۱۳۰/۹۷	۳۱۷۸/۷۷	۳۱۷۸/۷۷
پروتئین خام (%)	۲۳/۵۲	۲۳/۵۲	۲۱/۱۵	۲۱/۱۵	۲۰/۹۱	۲۰/۹۱
لیزین (%)	۱/۴۴	۱/۴۴	۱/۲۴	۱/۲۴	۱/۱۳	۱/۱۳
متیونین (%)	۰/۷	۰/۷	۰/۶۱	۰/۶۱	۰/۵۲	۰/۵۲
کل اسیدهای آمینه گوگرد دار (%)	۱/۰۷	۱/۰۷	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۸۶	۰/۸۶
سدیم (%)	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۲	۰/۲	۰/۱۸	۰/۱۸
کلسیم (%)	۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۶۳	۰/۶۳	۰/۸۵	۰/۸۵
فسفر غیر فیتاته (%)	۰/۵	۰/۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۲	۰/۴۲
فسفر کل (%)	۰/۷	۰/۷	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۶۵	۰/۶۵
غلظت مواد مغذی آنالیز شده کلسیم (%)	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۸۸	۰/۸۸
فسفر کل (%)	۰/۷۴	۰/۷۴	۰/۷۱	۰/۷۱	۰/۶۷	۰/۶۷

۱: پیش مخلوط ویتامینی در هر کیلوگرم جیره ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D، ۱۱ میلی‌گرم ویتامین A، ۲ میلی‌گرم ویتامین K<sub>۱</sub>، ۵/۷ میلی‌گرم ویتامین B<sub>۱</sub>، ۲ میلی‌گرم ویتامین B<sub>۲</sub>، ۰/۰۲۴ میلی‌گرم ویتامین B<sub>۱۲</sub>، ۲۸ میلی‌گرم نیکوتینیک اسید، ۰/۵ میلی‌گرم اسید فولیک، ۱۲ میلی‌گرم پانتوتینیک اسید، ۲۵۰ میلی‌گرم کولین کلراید تامین می‌کرد.  
۲: پیش مخلوط معدنی در هر کیلوگرم جیره ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۵ میلی‌گرم روی، ۵ میلی‌گرم مس، ۰/۲۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۰/۵ میلی‌گرم ید و ۰/۵ میلی‌گرم کبالت تامین می‌کرد.

میانگین‌ها با استفاده از آزمون مقایسه‌ی دانکن و با احتمال  $P < 0.05$  تعیین شد.

### نتایج و بحث

#### عملکرد

تأثیر سطوح مختلف کلسیم، عصاره پودر شده پنیر باد و کلسیتریول بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در جدول ۲ نشان داده شده است. عملکرد رشد تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. برهمکنش معنی‌دار بین سطوح کلسیم و پنیر باد بر مصرف خوراک، اضافه وزن و ضریب تبدیل غذایی جیره مشاهده شد. همچنین مصرف خوراک به طور معنی‌دار تحت تأثیر برهمکنش دو عامله‌ی بین سطوح کلسیم با عصاره پنیر باد و کلسیتریول، و عصاره پنیر باد و کلسیتریول قرار گرفت. افزودن ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره پنیر باد در جیره کنترل مثبت منجر به کاهش مصرف خوراک گردید در حالی‌که این کاهش در مصرف خوراک با اضافه شدن ۰/۵ میکروگرم کلسیتریول مشاهده نشد. در سطوح ثابت ۰/۵ میکروگرم کلسیتریول و فاقد عصاره پنیر باد، مصرف خوراک در پرندگان تغذیه شده با جیره کنترل منفی نسبت به گروه تغذیه شده با جیره کنترل مثبت کاهش یافت. بیشترین مصرف خوراک در پرندگان تغذیه شده با جیره‌های کنترل مثبت و دارای ۰/۵ میکروگرم کلسیتریول اما فاقد عصاره پنیر باد مشاهده شد. اضافه وزن در پرندگان تغذیه شده با جیره‌های کنترل منفی و فاقد عصاره پنیر باد در مقایسه با گروه تغذیه شده با جیره‌های کنترل مثبت و فاقد عصاره پنیر باد به طور معنی‌داری کاهش یافت (۲۵۱۱/۱۸ در مقابل ۲۲۱۵/۴۶). در سطح ثابت عصاره پنیر باد (۲۰۰ میلی‌گرم) پرندگان تغذیه شده با جیره کنترل منفی ضریب تبدیل غذایی بهتری نسبت به گروه کنترل مثبت نشان دادند (۱/۶۱ در مقابل ۱/۷۳). برهمکنش سه عامله موجب افزایش مصرف خوراک در پرندگان تغذیه شده با ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره پنیر باد و ۰/۵ میکروگرم کلسیتریول در گروه کنترل مثبت شد.

#### عملکرد، استحکام و خصوصیات فیزیکی استخوان

برای ارزیابی عملکرد رشد، مصرف خوراک و اضافه وزن پرنده‌ها در روز ۴۲ آزمایش اندازه‌گیری شد. در روزهای ۲۱ و ۴۲ آزمایش از هر پن یک پرنده که به میانگین وزن پن نزدیک بود کشتار و درشت نی پای چپ برای اندازه‌گیری خصوصیات مکانیکی استخوان و همچنین تعیین مقادیر کمی خاکستر، کلسیم و فسفر جدا شد. ضخامت و طول استخوان درشت نی با استفاده از میکرومتر دیجیتالی (Series 500, Mitutoyo, Tokyo, Japan) با دقت  $\pm 1$  میکرومتر اندازه‌گیری شد. جداسازی بافت‌ها و اجزای اضافی متصل به درشت نی در دو مرحله انجام شد. ابتدا گوشت، نازک نی و بافت‌های اضافی جدا و سپس غضروف‌های دو سر استخوان با اتوکلاو درشت نی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد. در این مرحله درشت نی ابتدا در دمای ۱۰۴ درجه به مدت ۱۲ ساعت خشک و سپس در دو بازه زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعته با اتانول و دی‌اتیل اتر به ترتیب آبگیری و چربی‌گیری شد. خصوصیات مکانیکی استخوان با دستگاه Instron (Model H5KS, Tinius Olsen Company) اندازه‌گیری و نتایج با نرم‌افزار اختصاصی مربوط به این دستگاه (Q Mat) محاسبه شد.

#### تجزیه و تحلیل شیمیایی

مقدار کلسیم در نمونه‌های استخوان و جیره با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Varian SpectraAA 50B Atomic Absorption Spectrometer: Varian Ltd, USA) (AOAC, ۲۰۰۵ شماره ۹۲۷/۰۲) به روش ویلیامز و همکاران (۲۶) و مقدار فسفر کل در نمونه‌های ذکر شده با رنگ سنجی به روش مولیبدووانادات تعیین شد.

#### تجزیه و تحلیل آماری

این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش فاکتوریل  $2 \times 3 \times 2$  شامل ۱۲ تیمار اجرا شد. تمامی داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از دستورالعمل GLM و نرم‌افزار SAS (۲۲) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. اختلاف معنی‌دار بین

جدول ۲- تأثیر پنیر باد و کلسیتریول بر مصرف خوراک، ضریب تبدیل و افزایش وزن صفر تا ۴۲ روزگی جوجه‌های نر گوشتی

ضریب تبدیل (گرم بر گرم)	اضافه وزن (گرم)	مصرف خوراک (گرم)	تیمار		کنترل
			کلسیتریول (میکروگرم)	پنیر باد (میلی‌گرم)	
۱/۷۵ <sup>d</sup>	۲۲۲۵/۲ <sup>c</sup>	۳۹۰۵/۱۵ <sup>abcd</sup>	صفر	صفر	-
۱/۷۱ <sup>ab</sup>	۲۲۱۵/۴۶ <sup>c</sup>	۳۷۸۷/۱۷ <sup>cd</sup>	۰/۵	صفر	-
۱/۷۰ <sup>ab</sup>	۲۳۵۷/۶۴ <sup>abc</sup>	۴۰۱۹/۵۵ <sup>abc</sup>	صفر	۱۰۰	-
۱/۶۶ <sup>ab</sup>	۲۲۹۱/۶۹ <sup>bc</sup>	۳۸۱۲/۱۴ <sup>bcd</sup>	۰/۵	۱۰۰	-
۱/۶۷ <sup>ab</sup>	۲۲۸۴/۹۴ <sup>bc</sup>	۳۸۲۸/۳۰ <sup>bcd</sup>	صفر	۲۰۰	-
۱/۶۱ <sup>b</sup>	۲۴۲۸/۶۰ <sup>ab</sup>	۳۹۲۳/۲۸ <sup>abcd</sup>	۰/۵	۱۰۰	-
۱/۶۶ <sup>ab</sup>	۲۴۰۷/۳۹ <sup>abc</sup>	۴۰۱۲/۸۰ <sup>abc</sup>	صفر	صفر	+
۱/۶۶ <sup>ab</sup>	۲۵۱۱/۱۸ <sup>a</sup>	۴۱۶۸/۲۸ <sup>a</sup>	۰/۵	صفر	+
۱/۷۰ <sup>ab</sup>	۲۲۴۰/۹۶ <sup>bc</sup>	۳۸۲۰/۷۷ <sup>bcd</sup>	صفر	۱۰۰	+
۱/۷۲ <sup>ab</sup>	۲۲۶۸/۹۴ <sup>bc</sup>	۳۸۹۴/۳۰ <sup>bcd</sup>	۰/۵	۱۰۰	+
۱/۶۵ <sup>ab</sup>	۲۲۳۷/۵۲ <sup>bc</sup>	۳۶۹۹/۹۶ <sup>d</sup>	صفر	۲۰۰	+
۱/۷۳ <sup>a</sup>	۲۳۴۸/۲۶ <sup>abc</sup>	۴۰۷۲/۶۶ <sup>ab</sup>	۰/۵	۲۰۰	+
۰/۰۳۳	۶۰/۷۱۳	۸۲/۳۶۰			خطای استاندارد
۱/۶۸	۲۳۰۰/۵۹	۳۸۷۹/۲۷		-	کنترل
۱/۶۹	۲۳۳۵/۷۱	۳۹۴۴/۷۹		+	
۱/۷۰	۲۳۳۹/۸۱	۳۹۶۸/۳۵		صفر	پنیر باد
۱/۶۹	۲۲۸۹/۸۱	۳۸۸۶/۶۸		۱۰	
۱/۶۷	۲۳۲۴/۸۳	۳۸۸۱/۰۵		۲۰	
۱/۶۹	۲۲۹۲/۲۸	۳۸۸۱/۰۹		صفر	کلسیتریول
۱/۶۸	۲۳۴۴/۰۲	۳۹۴۲/۹۷		۰/۵	
	P-value				
۰/۸۸۳	۰/۳۲۱	۰/۱۷۴			کنترل
۰/۳۶۹	۰/۴۹۴	۰/۲۵۴			پنیر باد
۰/۶۲۵	۰/۱۴۶	۰/۱۹۹			کلسیتریول
۰/۰۴۱	۰/۰۰۱	۰/۰۳۱			کنترل × پنیر باد
۰/۰۴۴	۰/۴۱۰	۰/۰۰۵			کنترل × کلسیتریول
۰/۷۳۸	۰/۲۴۳	۰/۰۳۶			پنیر باد × کلسیتریول
۰/۵۱۶	۰/۶۵۳	۰/۹۹۹			کنترل × پنیر باد × کلسیتریول

a-d: میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

همچنین قطر درشت نی تحت تأثیر بر همکنش سه عامله سطوح کلسیم، عصاره پودر شده پنیر باد و کلسیتریول قرار گرفت. بیشترین قطر درشت نی در پرندگان مشاهده شد که با جیره دارای ۰/۵ میکروگرم کلسیتریول و فاقد عصاره پودر شده پنیر باد تغذیه شده بودند. درحالی‌که در سطوح مشابه عصاره پودر شده پنیر باد و کلسیتریول (به ترتیب صفر میلی‌گرم و ۰/۵ میکروگرم بر کیلوگرم جیره)، پرندگان تغذیه شده با جیره کنترل مثبت قطورترین و پرندگان تغذیه شده با کنترل منفی نازکترین درشت نی را دارا بودند (۸/۶۵ در مقابل ۷/۵۴ میلی‌متر). اثرات اصلی تیمارهای آزمایشی بر طول و وزن درشت نی و همچنین درصد ابقای خاکستر، کلسیم و فسفر معنی‌دار نبود.

**خواص فیزیکی و درصد آهکی شدن درشت نی**  
خواص فیزیکی (geometric) و درصد آهکی شدن استخوان درشت نی در ۲۱ روزگی در جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۳). در این آزمایش عدم مشاهده هر گونه تغییر در درصد آهکی شدن استخوان با کاهش ۳۰ درصدی کلسیم جیره نشان‌دهنده کافی نبودن این کمبود کلسیم برای ایجاد اثرات منفی در معدنی شدن استخوان می‌باشد. به عبارتی پرندگان قادرند با افزایش نرخ جذب و راندمان برداشت کلسیم که موجب کاهش دفع آن می‌شود، به محدودیت‌های ملایم کلسیم سازش یابند (۲۸). در ۴۲ روزگی پرندگان تغذیه شده با جیره کنترل مثبت، در مقایسه با گروه تغذیه شده با جیره کنترل منفی، درشت نی قطورتری داشتند (P<۰/۰۵) (جدول ۴).



جدول ۴- اثر پنیر باد و کلسیتریول بر خصوصیات فیزیکی و درصد معدنی شدن استخوان درشت نی جوجه‌های نر گوشتی در سن ۴۲ روزگی

مواد معدنی درشت نی (درصد)			معیارهای فیزیکی			تیمار		کنترل
فسفر	کلسیم	خاکستر	ضخامت (میلی‌متر)	طول (میلی‌متر)	وزن (گرم)	کلسیتریول (میکروگرم)	پنیر باد (میلی‌گرم)	
۲۴/۳۴	۳۸/۸۳	۴۸/۹۵	۷/۸۶ <sup>ab</sup>	۹۵/۴۶	۵/۵۶	صفر	صفر	-
۲۴/۲۹	۳۸/۴۹	۴۹/۹۴	۷/۵۴ <sup>b</sup>	۹۸/۰۴	۵/۴۳	۰/۵	صفر	-
۲۴/۰۴	۳۷/۹۸	۴۷/۷۶	۷/۷۴ <sup>ab</sup>	۹۸/۰۷	۵/۹۱	صفر	۱۰۰	-
۲۴/۱۹	۳۸/۶۳	۴۸/۵۲	۷/۶۵ <sup>ab</sup>	۹۶/۷۳	۵/۵۰	۰/۵	۱۰۰	-
۲۴/۳۱	۳۷/۹۰	۴۹/۲۹	۷/۶۷ <sup>ab</sup>	۹۰/۹۵	۵/۴۵	صفر	۲۰۰	-
۲۴/۵۱	۳۸/۰۵	۴۹/۳۱	۷/۷۶ <sup>ab</sup>	۹۳/۹۶	۵/۱۲	۰/۵	۱۰۰	-
۲۴/۵۷	۳۸/۰۰	۴۸/۷۰	۸/۰۱ <sup>ab</sup>	۹۷/۱۲	۵/۶۴	صفر	صفر	+
۲۴/۱۱	۳۸/۳۰	۴۷/۴۳	۸/۶۵ <sup>d</sup>	۹۸/۲۵	۶/۲۸	۰/۵	صفر	+
۲۴/۳۷	۳۸/۸۰	۴۷/۵۶	۸/۴۱ <sup>ab</sup>	۹۵/۲۲	۵/۶۸	صفر	۱۰۰	+
۲۴/۰۲	۳۸/۰۵	۴۸/۵۳	۷/۴۹ <sup>ab</sup>	۹۳/۳۰	۵/۴۵	۰/۵	۱۰۰	+
۲۴/۴۱	۳۸/۰۸	۴۹/۴۰	۸/۱۳ <sup>ab</sup>	۹۷/۳۲	۵/۷۲	صفر	۲۰۰	+
۲۴/۱۶	۳۸/۹۳	۴۸/۴۵	۸/۲۵ <sup>ab</sup>	۹۷/۸۹	۶/۰۹	۰/۵	۲۰۰	+
۰/۲۰۶	۰/۵۳۳	۰/۷۴۵	۰/۳۰۰	۰/۳۶۲	۰/۳۰۶	خطای استاندارد		
								اثرات اصلی
۲۴/۳۶	۳۸/۳۲	۴۹/۰۲	۷/۷۰ <sup>b</sup>	۹۵/۵۳	۵/۴۹	-		کنترل
۲۴/۲۷	۳۸/۳۹	۴۸/۳۳	۸/۱۵ <sup>d</sup>	۹۶/۵۲	۵/۸۱	+		
۲۴/۱۶	۳۸/۳۸	۴۸/۰۳	۸/۰۱	۹۷/۲۲	۵/۷۳	صفر		پنیر باد
۲۴/۱۶	۳۸/۳۸	۴۸/۰۳	۷/۸۲	۹۵/۸۳	۵/۶۴	۱۰۰		
۲۴/۳۲	۳۸/۲۷	۴۹/۱۱	۷/۹۵	۹۵/۰۳	۵/۵۹	۲۰۰		
۲۴/۳۲	۳۸/۲۹	۴۸/۶۳	۷/۹۷	۹۵/۶۹	۵/۶۶	صفر		کلسیتریول
۲۴/۲۱	۳۸/۴۲	۴۸/۷۲	۷/۸۹	۹۶/۳۶	۵/۶۴	۰/۵		
								<i>P-value</i>
۰/۷۴۶	۰/۵۵۱	۰/۱۳۶	۰/۰۴۴	۰/۵۱۹	۰/۰۹۶			کنترل
۰/۸۴۸	۰/۷۵۴	۰/۱۳۸	۰/۹۳۴	۰/۱۸۹	۰/۵۶۶			پنیر باد
۰/۵۸۰	۰/۸۳۸	۰/۸۳۴	۰/۷۵۴	۰/۶۷۴	۰/۹۶۵			کلسیتریول
۰/۹۹۶	۰/۴۱۹	۰/۴۰۷	۰/۷۸۹	۰/۰۸۸	۰/۳۱۱			کنترل × پنیر باد
۰/۰۵۱	۰/۷۸۲	۰/۲۲۲	۰/۵۶۷	۰/۴۱۲	۰/۳۱۵			کنترل × کلسیتریول
۰/۳۶۸	۰/۷۶۹	۰/۴۰۷	۰/۳۹۵	۰/۷۷۲	۰/۷۹۲			پنیر باد × کلسیتریول
۰/۵۴۸	۰/۳۲۴	۰/۴۹۱	۰/۰۲۴	۰/۵۳۸	۰/۳۴۹			کنترل × پنیر باد × کلسیتریول

a-b: میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0.05$ )

طور معنی‌دار نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش یافت ( $P < 0.01$ ) که این مشاهدات با نتایج اُکتر و سوترن (۱۷) همخوانی دارد. آنها کاهش در مقاومت به شکستن استخوان درشت نی در پرندگان تغذیه شده با جیره دچار کمبود کلسیم (دارای ۸ گرم کلسیم در کیلوگرم جیره) را مشاهده کردند. به نظر می‌رسد دلیل کاهش مقاومت به شکستن استخوان در پرندگان تغذیه شده با کنترل منفی، کاهش در قطر استخوان درشت نی (۲۳) این پرندگان باشد. مکمل‌سازی ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره پودر شده پنیر باد موجب افزایش معنی‌دار نیروی شکافت شد ( $P < 0.05$ ).

خصوصیات بیومکانیکی استخوان درشت نی در روز ۲۱، خمش شکست (fracture deflection) که معرف مقدار خمش در زمان شکستن نسبت به حالت معمول یا افقی می‌باشد تحت تأثیر جیره‌های کنترل قرار گرفت ( $P < 0.01$  جدول ۵). جیره کنترل منفی موجب کاهش معنی‌دار خمش شکست در پرندگان تغذیه شده با این جیره شد. در ۴۲ روزگی هم جیره‌های کنترل و هم سطوح عصاره پودر شده پنیر باد اثرات معنی‌داری را بر نیروی شکافت (shear force) نیروی مورد نیاز برای برش یا شکاف) درشت نی داشتند. نیروی شکافت در پرندگان تغذیه شده با کنترل منفی به

جدول ۵- تاثیر پنیر باد و کلسیتریول بر استحکام استخوان درشت نی جوجه‌های نر گوشتی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی

۴۲ روزگی				۲۱ روزگی				تیمار		کنترل
ضخامت قشر (میلی متر)	انرژی شکست (نیوتن - میلی متر)	خمش شکست (میلی متر)	نیروی شکافت (نیوتن)	ضخامت قشر (میلی متر)	انرژی شکست (نیوتن - میلی متر)	خمش شکست (میلی متر)	نیروی شکافت (نیوتن)	کلسیتریول (میکروگرم)	پنیر باد (میلی گرم)	
۱۶۲۵/۴۴ <sup>ab</sup>	۵۹/۴۸	۰/۶۳	۱۸۸/۰۶ <sup>bc</sup>	۱۲۶۰/۳۱ <sup>ab</sup>	۳۱/۴۶	۰/۵۵	۸۹/۵۸	صفر	صفر	-
۱۴۲۵/۷۸ <sup>b</sup>	۱۲۳/۰۲	۰/۷۳	۲۳۲/۲۵ <sup>abc</sup>	۱۲۶۹/۵۲ <sup>ab</sup>	۳۰/۲۶	۰/۵۱	۹۳/۶۲	۰/۵	صفر	-
۱۷۰۳/۴۱ <sup>ab</sup>	۷۱/۵۵	۰/۷۰	۲۰۸/۷۰ <sup>abc</sup>	۱۵۷۰/۸۲ <sup>a</sup>	۳۱/۲۲	۰/۵۷	۱۱۳/۳۶	صفر	۱۰۰	-
۱۶۵۷/۲۶ <sup>ab</sup>	۸۴/۳۰	۰/۷۰	۱۹۹/۹۸ <sup>bc</sup>	۱۴۰۱/۴۱ <sup>ab</sup>	۲۸/۷۴	۰/۵۴	۱۰۷/۶۰	۰/۵	۱۰۰	-
۱۵۱۵/۵۲ <sup>ab</sup>	۴۷/۵۲	۰/۵۶	۱۷۳/۱۷ <sup>bc</sup>	۱۳۲۳/۵۸ <sup>ab</sup>	۲۶/۱۰	۰/۵۲	۹۲/۰۰	صفر	۲۰۰	-
۱۶۳۲/۰۶ <sup>ab</sup>	۶۴/۷۳	۰/۶۰	۱۸۰/۸۷ <sup>bc</sup>	۱۱۹۰/۶۷ <sup>d</sup>	۲۳/۴۰	۰/۴۹	۹۸/۵۲	۰/۵	۱۰۰	-
۱۶۳۴/۳۶ <sup>ad</sup>	۶۲/۵۰	۰/۶۹	۲۰۰/۳۰ <sup>bc</sup>	۱۳۲۹/۹۵ <sup>ad</sup>	۲۹/۷۶	۰/۵۹	۹۹/۳۲	صفر	صفر	+
۱۵۶۰/۰۷ <sup>ad</sup>	۶۷/۹۷	۰/۶۱	۱۸۴/۷۶ <sup>bc</sup>	۱۴۳۳/۶۹ <sup>ab</sup>	۳۸/۲۰	۰/۸۰	۱۱۲/۱۸	۰/۵	صفر	+
۱۶۴۸/۶۹ <sup>ab</sup>	۱۰۴/۴۶	۰/۷۲	۲۴۶/۰۵ <sup>ab</sup>	۱۳۶۹/۴۳ <sup>ab</sup>	۲۱/۱۵	۰/۵۳	۱۱۰/۷۷	صفر	۱۰۰	+
۱۷۸۲/۰۳ <sup>a</sup>	۱۲۷/۵۲	۰/۸۴	۲۷۱/۷۸ <sup>a</sup>	۱۵۷۷/۶۵ <sup>a</sup>	۲۷/۰۷	۰/۵۸	۱۰۷/۶۴	۰/۵	۱۰۰	+
۱۴۳۱/۳۸ <sup>d</sup>	۶۵/۹۰	۰/۶۸	۲۰۰/۱۵ <sup>bc</sup>	۱۲۶۸/۷۵ <sup>ab</sup>	۴۱/۰۴	۰/۶۹	۱۲۱/۵۶	صفر	۲۰۰	+
۱۷۵۲/۷۰ <sup>a</sup>	۷۵/۴۷	۰/۶۶	۲۲۴/۷۵ <sup>abc</sup>	۱۳۸۰/۳۰ <sup>ab</sup>	۳۲/۱۲	۰/۶۱	۱۱۰/۶۶	۰/۵	۲۰۰	+
۸۴/۵۰۸	۱۵/۲۴۲	۰/۰۴۹	۲۰/۰۳۹	۱۰۶/۰۳۳	۵/۳۱۸	۰/۰۴۹	۸۹/۵۸			خطای استاندارد
۱۵۹۱/۰۴	۷۴/۸۸ <sup>d</sup>	۰/۶۵	۱۹۳/۹۸ <sup>d</sup>	۱۳۳۶/۰۴	۲۸/۳۲	۰/۵۳ <sup>d</sup>	۹۹/۱۳ <sup>d</sup>	-		کنترل
۱۶۳۴/۸۷	۸۲/۳۶ <sup>a</sup>	۰/۷۰	۲۲۱/۸۲ <sup>a</sup>	۱۴۰۱/۱۴	۳۲/۰۸	۰/۶۳ <sup>a</sup>	۱۱۰/۳۴ <sup>a</sup>	+		
۱۵۶۱/۴۱	۷۷/۱۴ <sup>b</sup>	۰/۶۵	۱۹۵/۶۱ <sup>b</sup>	۱۳۲۲/۹۹ <sup>b</sup>	۳۲/۵۲	۰/۵۹	۹۸/۶۷	صفر		پنیر باد
۱۶۹۹/۹۸	۹۶/۴۶ <sup>a</sup>	۰/۷۴	۲۳۲/۱۰ <sup>a</sup>	۱۴۸۵/۶۴ <sup>a</sup>	۲۷/۳۷	۰/۵۶	۱۰۹/۷۹	۱۰۰		
۱۵۸۲/۹۲	۶۳/۴۸ <sup>d</sup>	۰/۶۳	۱۹۴/۷۳ <sup>d</sup>	۱۲۹۱/۹۹ <sup>d</sup>	۳۰/۶۶	۰/۵۸	۱۰۶/۰۶	۲۰۰		
۱۵۹۳/۱۳	۶۶/۶۶ <sup>b</sup>	۰/۶۶	۲۰۲/۱۵	۱۳۵۷/۲۴	۳۰/۳۵	۰/۵۸	۱۰۴/۲۱	صفر		کلسیتریول
۱۶۳۴/۲۲	۹۱/۶۲ <sup>a</sup>	۰/۶۹	۲۱۴/۷۸	۱۳۷۵/۵۴	۳۰/۰۶	۰/۵۷	۱۰۵/۲۶	۰/۵		
P-value										
۰/۴۰۲	۰/۰۰۲	۰/۱۵۰	۰/۰۴۵	۰/۲۲۵	۰/۲۶۵	۰/۰۰۱	۰/۰۴۸			کنترل
۰/۰۶۵	۰/۰۰۱	۰/۰۵۳	۰/۰۲۵	۰/۰۴۳	۰/۶۱۵	۰/۳۲۷	۰/۳۵۳			پنیر باد
۰/۴۰۰	۰/۰۰۹	۰/۹۰۶	۰/۲۷۲	۰/۵۱۹	۰/۷۵۶	۰/۶۲۱	۰/۹۲۴			کلسیتریول
۰/۹۰۱	۰/۰۸۸	۰/۷۴۴	۰/۰۴۷	۰/۴۸۱	۰/۰۶۸	۰/۰۴۳	۰/۳۶۱			کنترل × پنیر باد
۰/۰۹۱	۰/۷۳۰	۰/۷۵۶	۰/۹۰۵	۰/۰۳۰	۰/۶۱۹	۰/۱۱۸	۰/۸۷۶			کنترل × کلسیتریول
۰/۰۱۷	۰/۷۶۲	۰/۲۱۲	۰/۹۵۸	۰/۷۰۷	۰/۶۱۶	۰/۱۷۶	۰/۶۷۴			پنیر باد × کلسیتریول
۰/۹۴۴	۰/۸۱۶	۰/۴۱۵	۰/۳۴۴	۰/۸۳۲	۰/۵۷۵	۰/۱۳۸	۰/۶۸۱			کنترل × پنیر باد × کلسیتریول

a-c: میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵)

با وجود افزایش نیروی شکافت در استخوان درشت نی در گروه کنترل مثبت و گروه تغذیه شده با ۱۰۰ میلی گرم عصاره پنیر باد و عدم مشاهده هر گونه تغییر در درصد ابقای خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان در این تیمارها، افزایش در نیروی شکافت استخوان همراه با افزایش درصد خاکستر استخوان توسط ویلسون (۲۷) گزارش شده است. مطالعات او همچنین نشان داد ۵۸/۷ درصد از تغییرات نیروی شکافت مرتبط با وزن زنده و درصد خاکستر استخوان است. کاربردی نبودن درصد خاکستر به عنوان شاخص مفید برای توجیه یا محاسبه خصوصیات مکانیکی استخوان در میان سایر خصوصیات استخوان، بیان شده است (۳). به طور مشابه بهبود در خصوصیات مکانیکی استخوان با مکمل سازی متابولیت های فعال ویتامین D<sub>3</sub> و عدم انعکاس این اثرات در درصد خاکستر استخوان توسط نوف و همکاران (۱۶) گزارش شد. به اعتقاد این گروه درصد خاکستر استخوان بیانگر درصد خاکستر در کل استخوان است نه بیانگر درصد خاکستر در ناحیه میانی که محل اصلی اعمال نیرو برای شکست است. اثر مکمل سازی عصاره پنیر باد بر خمش شکست نزدیک به معنی داری بود ( $P=0/053$ ). برهمکنش میان کنترل و عصاره پنیر باد بر نیروی شکافت مشاهده شد. بیشترین نیروی شکافت در گروه تغذیه شده با جیره کنترل مثبت به همراه ۱۰۰ میلی گرم عصاره پنیر باد و کمترین نیروی شکافت در گروه تغذیه شده با جیره کنترل مثبت به همراه ۲۰۰ میلی گرم عصاره پنیر باد مشاهده شد. اثرات اصلی کلسیتریول، عصاره پنیر باد و جیره های کنترل بر انرژی شکست (fracture energy) درشت نی (انرژی مورد نیاز برای شکستن) معنی دار بود ( $P<0/01$ ). در ۴۲ روزگی کلسیتریول موجب افزایش انرژی شکست شد. درحالی که در آزمایشات رنی و همکاران (۲۰) مکمل سازی ۵ میکروگرم در کیلوگرم کلسیتریول هیچ گونه اثر معنی داری در استحکام استخوان نداشت، فراست و رولاند (۸) بهبود استحکام استخوان را در مرغ های ۷۵ هفته با افزودن ۰/۵ و یک میکروگرم کلسیفرول در کیلوگرم جیره گزارش کردند. خواص مکانیکی (استحکام) استخوان وابسته به عواملی از جمله مواد موجود (مقدار مواد معدنی) و ویژگی های ساختاری

(ساختار شیمیایی ماتریکس) استخوان است (۱۱). از طرفی ویژگی های ساختاری استخوان وابسته به ژنومتری استخوان است (۲۹). نتایج مطالعه حاضر با توجه به عدم تأثیر تیمارهای آزمایشی بر درصد معدنی شدن استخوان (درصد ابقاء خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان)، پیشنهاد می کند، اثرات مثبت مشاهده شده با مکمل سازی ۱۰۰ میلی گرم عصاره پنیر باد و همچنین اثرات منفی کاهش کلسیم جیره (کنترل منفی)، بر استحکام استخوان پرندگان تغذیه شده با این تیمارها مرتبط با ویژگی های ساختاری استخوان درشت نی می باشد. به علاوه داده های حاصل از آزمایشات ژنومتری و بافت شناسی قشر استخوان (Bone Cortex) نشان داد جیره های کنترل منفی موجب کاهش قابل توجه ضخامت درشت نی در ۲۱ روزگی و مکمل سازی ۱۰۰ میلی گرم عصاره پنیر باد موجب افزایش ضخامت در قشر درشت نی گردید. این نتایج با مشاهدات فلمینگ و همکاران (۷) همخوانی دارد که بیان کردند استحکام استخوان با افزایش ضخامت قشر استخوان افزایش می یابد. مطالعات متعددی پیش از این حضور ویتانولیدهای مختلف را در میوه پنیر باد تایید کرده اند (۱۸، ۱۵). اخیراً دو گروه از محققان، نقش مؤثر ویتانولیدها را بر سوخت و ساز کلسیم و فسفر و اثرات درمانی این ترکیبات بر پوکی استخوان را در موش های تخمدان برداشته شده و مرغ های پیر تایید کرده اند (۲۵، ۱۴). هر چند در این آزمایش شواهد واضحی برای بیان مکانیسم مرتبط با افزایش ضخامت قشر درشت نی در پرندگان دریافت کننده ۱۰۰ میلی گرم عصاره پنیر باد موجود نیست اما ممکن است ویتانولیدهای موجود در عصاره پنیر باد با تأثیرات مثبت بر سیستم درون ریز (۱۳) پرند موجب افزایش رسوب مواد معدنی در ناحیه میانی استخوان و در نتیجه موجب افزایش ضخامت قشر درشت نی و بروز اثرات مفید در خصوصیات مکانیکی (استحکام) آن شده باشد.

این پژوهش با تایید اثرات مثبت کلسیتریول بر استحکام استخوان، نشان داد که افزودن ۱۰۰ میلی گرم عصاره پودر شده پنیر باد می تواند بدون تأثیر منفی بر عملکرد رشد، باعث افزایش استحکام استخوان گردد.

#### منابع

1. Abouzid, S.F., El-Basuony, A.A. Nasib, A. Khan, S. Qureshi and M.I. Choudhary. 2010. Withaferin A production by root cultures of *Withania coagulans*. International Journal of Applied Research in Natural Products, 3: 23-27.
2. AOAC International. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. (Gaithersburg, MD, AOAC Int.).
3. Bonser, R.H.C. and A. Casinos. 2003. Regional variation in cortical bone properties from broiler fowl-a first look. British Poultry Science, 44: 350-354.
4. Deluca, H.F. 1977. Vitamin D endocrine system. Advances in Clinical Chemistry. 19: 125-174.

5. Dewir, Y.H., D. Chakrabarty, S.H. Lee, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2010. Indirect regeneration of *Withania somnifera* and comparative analysis of withanolides in *in vitro* and greenhouse grown plants Journal of Plant Biology, 54: 357-360.
6. Edwards, H.M. JR. 1989. The effect of dietary cholecalciferol, 25-hydroxycholecalciferol and 1, 25-dihydroxycholecalciferol on the development of tibial dyschondroplasia in broiler chickens in the absence and presence of disulfiram. Journal of Nutrition, 119: 647-652.
7. Fleming, R.H., C.C. Whitehead, D. Alvey, N.G. Gregory and L.J. Wilkins. 1994. Bone structure and breaking strength in laying hens housed in different husbandry systems. British Poultry Science, 35: 651-662.
8. Frost, T.J. and D.A. Roland. 1991. Current methods used in determination and evaluation of tibia strength; a correlation study involving birds fed various levels of cholecalciferol. Poultry Science. 70: 1640-1643.
9. Kenney, A.D. 1976. Vitamin D metabolism: Physiological regulation in egg-laying Japanese quail. Am Journal of Physiology, 230: 1606-1616.
10. Ledwaba., M.F. and K.D. Roberson. 2003. Effectiveness of twenty-five-hydroxycholecalciferol in the prevention of tibial dyschondroplasia in Ross cockerels depends on dietary calcium level. Poultry Science. 82: 1769-1777.
11. Liu, D., H.P. Veit, J.H. Wilson and D.M. Denbow. 2003. Long-term supplementation of various dietary lipids alters bone mineral content, mechanical properties and histological characteristics of japanese quail. Poultry Science. 82: 831-839.
12. Mcdonald, P., Edwards, R.A., Greenhalg, J.F.D. and C.A. Morgan. 1995. Animal Nutrition. 5th ed. AddisonWesley Longman, Edinburgh, UK.
13. Mishra, L.C., B.B. Singh and S. Dagenais. 2000. Scientific basis for the therapeutic use of *Withania somnifera* (ashwagandha): a review, Alternative Medicine Review, 5: 334-346.
14. Nagareddy, P.R. and M. Lakshmana. 2006. Withania somnifera improves bone calcification in calciumdeficient ovariectomized rats. Pharmacy and Pharmacology. 58: 1-7.
15. Neogi, P., M. Kawai, Y. Butsugan, Y. Mori and M. Suzuki. 1988. Withacoagin, a new whitanolid from *whitania coagulans* roots. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 61: 4479-4481.
16. Noff, D., A. Simkin and S. Edelstein. 1982. Effect of cholecalciferol derivatives on the mechanical properties of chicken bones. Calcified Tissue International, 34: 501-505.
17. O'connor-Dennie, T. and L.L. Southern. 2005. The effect of virginiamycin in diets with adequate or reduced dietary calcium or nonphytate phosphorus for broilers. Poultry Science, 84: 1868-1874.
18. Prasad, S.K., R. Kumar, D.K. Patel and S. Hemalatha. 2010. Wound healing activity of *Withania coagulans* in streptozoto-cin-induced diabetic rats. Pharmaceutical Biology, 48: 1397-1404.
19. Reddy, G.S. and K.Y. Tserng. 1989. Calcitric acid, end product of renal metabolism of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 through C-24 oxidation pathway. Biochemistry, 28: 1763-1769.
20. Rennie, J.S., R.H. Fleming, H.A. McCormack, C.C. Mccorquodale and C.C. Whitehead. 1997. Studies on effects of nutritional factors on bone structure and osteoporosis in laying hens. British Poultry Science. 38: 417-424.
21. Ross. 2007. Ross 308 Broiler: Nutrition Specification. Aviagen, Scotland, UK. Accessed May 25. 2009. <http://www.aviagen.com/>.
22. SAS 2003. SAS 9.1, Cary, NC, SAS Institute Inc, USA.
23. Schwartz, S.M. and A.A. Biewener. 1992. Shape and scaling. In: Biewener AA (Ed. Biomechanics, structures and systems: a practical approach. Oxford University Press. 21-43 pp.
24. Soares, J. H. JR. 1984. Calcium metabolism and its control-Areview. Poultry Science, 63: 2075-2083.
25. Tahmasbi, A.M., M.T. Mirakzehi, S.J. Hosseini, M.J. Agah and M. Kazemi Fard. 2012. 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. British Poultry Science, 53: 204-214.
26. Williams, C.H., D.J. David and O. Iismaa. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. Journal of Agricultural Science and Technology, 59: 381-385.
27. Wilson, J.H. 1991. Bone strength of caged layers as affected by dietary calcium and phosphorus concentrations, reconditioning, and ash content. British Poultry Science, 32: 501-508.
28. Yan, F., Angel, C. Ashwell, A. Mitchell and M. Christman. 2005. Evaluation of the broilers ability to adapt to an early moderate deficiency of phosphorus and calcium. Poultry Science, 84: 1232-1241.
29. Zernicke, R. F., G.J. Salem, R.J. Barnard, and E. Schraamm. 1995. Long-term, high-fat sucrose diet alters rat femoral neck and vertebral morphology, bone mineral content and mechanical properties. Bone. 16: 25-31.

## Effects of 1, 25-Dihydroxycholecalciferol and hydroalcoholic Extract of *Withania Coagulans* on Performance and Bone Strength of Male Broiler Chickens

Seyed Javad Hossen<sup>1</sup>, Hassan Kermanshahi<sup>2</sup>, Hassan Nassirimoghadam<sup>2</sup>, Abolghasem Nabipour<sup>2</sup> and Ahmad Hassanabadi<sup>3</sup>

---

1- Ph.D., Ferdowsi University of Mashhad  
(Corresponding author: H.seyedjavad@yahoo.com)  
2- Professor, Ferdowsi University of Mashhad  
3- Associate Professor, Ferdowsi University of Mashhad  
Received: April 27, 2013      Accepted: August 24, 2013

---

### Abstract

An experiment was conducted to investigate the effects of hydro alcoholic extract of *Withania coagulans* (WC) and 1, 25-dihydroxycholecalciferol on performance and bone strength of male broiler chickens. Diets were arranged factorially (2×3×2) consisted of a positive control with adequate Ca (10.4 g/kg diet) and nonphytate P (NPP; 5 g/kg diet) exceed the requirements suggested in the Ross 308 broiler nutrient specifications and a negative control diet with Ca (7.3 g/kg diet) and nonphytate P (NPP; 5 g/kg diet), three levels of WC (0, 100 and 200 mg/kg diet), and two levels of 1, 25-dihydroxycholecalciferol (0 and 0.5 µg/kg diet). Reducing the dietary Ca level by 30 % decreased tibia diameter (P<0.05) at 42 day of age. Bone fracture energy significantly increased with supplementation of 1, 25-dihydroxycholecalciferol at 42 day of age (P<0.01). Supplementation of 100 mg/kg WC significantly increased shear force (P<0.05) and fracture energy (P<0.01) at 42 day of age. At 21 day of age birds provided with 100 mg/kg of WC had a significant higher cortical thickness and tended to increase at 42 day. The results of this experiment indicated that supplementation of 100 mg/kg fruit hydro alcoholic extract of WC exhibit beneficial effects on bone characteristics without any adverse effects on productive performance.

**Keywords:** 1, 25-dihydroxycholecalciferol, *Withania coagulans*, Bone strength, Broiler chickens