

اثرات ۱-۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول و عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه دارویی بوزیدان (*Withania somnifera*) بر معدنی شدن و استحکام استخوان جوجه‌های گوشتی

محمد طاهر میرکزی^{۱*} - حسن کرمانشاهی^۲ - ابوالقاسم گلیان^۳ - احمدرضا راجی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۳/۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۷/۶

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثرات ۱-۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول [$1, 25 (OH)_2 D_3$] و عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه دارویی بوزیدان (*Withania somnifera*) بر عملکرد، ابقای مواد معدنی، معدنی شدن استخوان و خصوصیات مکانیکی استخوان جوجه‌های گوشتی انجام شد. تیمارها در قالب فاکتوریل ($2 \times 3 \times 2$) شامل جیره کنترل مثبت با سطح کافی کلسیم و کنترل منفی (کاهش ۳۰ درصدی سطح کلسیم)، ۳ سطح عصاره بوزیدان (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره) و ۲ سطح ۱-۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول (صفر و ۰/۵ میکروگرم در کیلوگرم جیره) بود. تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی یکروزه راس ۳۰۸ بصورت تصادفی در ۶۰ عدد پن و ۱۰ پرند در هر کدام توزیع گردید. هر تیمار دارای ۵ تکرار (۵۰ پرند در هر تیمار) بود. جیره‌های آزمایشی بطور نامحدود در اختیار جوجه‌ها از ۱ تا ۴۲ روزگی قرار گرفت. در ۲۱ و ۴۲ روزگی یک پرند از هر تکرار کشتار و استخوان درشت نی چپ جدا گردید. تیمارهای غذایی مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی را تحت تاثیر قرار ندادند. بیشترین افزایش وزن در ۴۲ روزگی ($2475/75$ گرم) در پرندگانی که از سطح کافی کلسیم مکمل شده با ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم بوزیدان تغذیه شده بودند ثبت گردید. در سطوح کمتر کلسیم جیره ابقای کلسیم و فسفر بطور معنی داری بیشتر بود. مکمل سازی ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم بوزیدان بطور معنی داری ابقای کلسیم در پرندگانی را که جیره کنترل منفی ($83/09$ درصد) دریافت کرده بودند را در مقایسه با کنترل مثبت ($66/35$) افزایش داد. صرف نظر از سطح کلسیم جیره، استفاده از ۷۵ میلی گرم در کیلوگرم بوزیدان به همراه ۰/۵ میکروگرم در کیلوگرم $1, 25 (OH)_2 D_3$ بطور معنی داری ابقای کلسیم را بهبود داد. در ۲۱ روزگی، میزان کلسیم درشت نی در پرندگانی که بوزیدان مصرف کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود. در حالیکه هیچگونه اثری در روز ۴۲ دیده نشد. میزان کلسیم درشت نی پرندگانی که جیره کنترل منفی مکمل شده با ۷۵ میلی گرم بوزیدان و ۰/۵ میکروگرم $1, 25 (OH)_2 D_3$ دریافت کرده بودند مشابه با آنهایی بودند که فقط ۱۵۰ میلی گرم بوزیدان مصرف کرده بودند. مکمل سازی $1, 25 (OH)_2 D_3$ در جیره بطور معنی داری کلسیم درشت نی را در ۴۲ روزگی افزایش داد. استفاده از عصاره بوزیدان نیز بطور معنی داری نیروی شکاف و سختی استخوان را افزایش داد. این آزمایش نشان داد که استفاده از عصاره بوزیدان اثرات مثبتی بر ابقای کلسیم، کلسیمی شدن استخوان و خصوصیات مکانیکی آن داشته و بر عملکرد پرند تاثیر منفی ندارد. از طرفی اثرات همکوشی میان عصاره بوزیدان و $1, 25 (OH)_2 D_3$ بر ابقای کلسیم و کلسیمی شدن استخوان مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: $1, 25 (OH)_2 D_3$ ، بوزیدان، ابقای کلسیم، معدنی شدن و استحکام استخوان، جوجه گوشتی

مقدمه

هیدروکسیلاسیون زمانی رخ میدهد که ویتامین D_3 به کبد منتقل شده تشکیل ۲۵ هیدروکسی کوله کلسیفرول [$25-(OH) D_3$] میدهد و دومین هیدروکسیلاسیون در کلیه بوسیله آنزیم ۱-آلفا-هیدروکسیلاز (E.C.1.14.13.13) رخ داده که $1, 25 (OH)_2 D_3$ تشکیل میشود (۱۴، ۲۹ و ۳۷). ثابت شده است که استفاده از $1, 25 (OH)_2 D_3$ در جیره‌های حاوی کلسیم کم و با فسفر زیاد که مقدار کوله کلسیفرول در آنها کافی است، مقدار خاکستر استخوان و جذب کلسیم (۵) و در جیره‌های عاری از کوله کلسیفرول (۲۴) استحکام استخوان به شکستن افزایش می یابد. پیشنهاد شده است که سنتز

۱-۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول [$1, 25 (OH)_2 D_3$] از لحاظ زیست شناسی فعالترین متابولیت ویتامین D_3 است که بوسیله دو واکنش هیدروکسیلاسیون متوالی تولید میگردد. اولین

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری و استادان گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(*) نویسنده مسئول: (Email: mo_mi945@stu-mail.um.ac.ir)

۴- دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

بطری، تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

حیوانات و جیره‌های آزمایشی

تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه خروس یکروزه سویه راس ۳۰۸ خریداری و در ۶۰ عدد پن با بستری از تراشه چوب با تراکم ۱۰ قطعه جوجه به ازای هر پن قرار گرفتند. پرندگان در طی ۶ هفته دوره آزمایش به آب و تیمارهای آزمایشی دسترسی آزاد داشتند. دما و برنامه نوری مطابق با دستورالعمل نژاد راس ۳۰۸ کنترل شد. طرح آزمایشی بصورت فاکتوریل ۲×۳×۲ و شامل جیره کنترل مثبت با سطح کافی کلسیم و کنترل منفی (کاهش ۳۰ درصدی سطح کلسیم)، سه سطح عصاره بوزیدان (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره) و دو سطح 1, 25 (OH)₂ D₃ (صفر و ۰/۵ میکروگرم در کیلوگرم جیره) بود. 1, 25 (OH)₂ D₃ (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) با روغن ذرت به عنوان حامل مخلوط (۱۰ میکروگرم در هر میلی لیتر) و در یک بطری تیره در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان استفاده در جیره نگهداری گردید. جیره های آزمایشی به گونه‌ای فرموله شده بودند که دارای انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام یکسانی باشند. جیره کنترل مثبت تامین کننده همه نیازمندیهای مواد مغذی پیشنهاد شده در دستورالعمل راهنمای سویه تجارتي راس ۳۰۸ بود (۳۳). جیره کنترل منفی مشابه با جیره کنترل مثبت اما سطح کلسیم آن ۳۰ درصد کاهش یافته بود.

روشهای آزمایشی

مصرف خوراک و وزن بدن در روزهای ۱، ۱۱، ۲۴ و ۴۲ ثبت و افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. در ۱۵ روزگی پرندگان بمدت ۱۶ ساعت تحت گرسنگی قرار گرفتند و ۱۲ تیمار آزمایشی حاوی ۰/۳ درصد اکسید کرم تا سن ۲۱ روزگی در اختیار جوجه ها قرار گرفتند. جمع آوری مدفوع در ۱۹ روزگی به منظور اندازه گیری ابقای خاکستر، کلسیم و فسفر آغاز گردید. نمونه های خوراک و مدفوع با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد بمدت ۲۴ ساعت خشک گردید. در روزهای ۲۱ و ۴۲ از ورید بال یک پرنده از هر تکرار که از خوراک به مدت ۱۲ ساعت محروم شده بود خونگیری به عمل آمد. نمونه های خون در دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و سرم به دست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا پایان آزمایش برای اندازه گیری کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز ذخیره گردید. سپس پرندگان کشتار و استخوان درشت نی پای چپ آنها از لاشه جدا شد و بافتهای ضمیمه حذف شدند. استخوان درشت نی پای چپ تا زمان سنجش های بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. در زمان آزمایش مکانیکی استخوانهای درشت نی یخ گشایی شدند. طول درشت نی و قطر آن در ناحیه

1, 25 (OH)₂ D₃ برای تحریک جذب حداکثری کلسیم و تشکیل استخوان در جوجه های با رشد سریع و تغذیه شده با جیره های دارای کلسیم کم و مقادیر کافی کوله کلسیفرول کافی نیست (۶). زیرا تبدیل ویتامین D به شکل متابولیکی فعال تابعی از چندین فاکتور شامل هورمون پاراتیروئید، کلسیم جیره، فسفات سرم و خود متابولیت 1, 25 (OH)₂ D₃ می باشد (۲۵). استروژن یک تنظیم گر هورمونی قوی متابولیسم کلسیم بوده که جذب کلسیم را در روده بوسیله فعال سازی آنزیم ۱-آلفا-هیدروکسیلاز کلیوی افزایش میدهد (۴۰). بوزیدان (*Withania somnifera*) از خانواده سیب زمینی (*Solanaceae*) گیاهی علفی، یکساله و منبع غنی از ترکیبات زیست فعال میباشد. خواص متعدد فارماکولوژیکی این گیاه بطور کلی مرتبط با ریشه آن است (۱۵). گیاه دارای لاکتونهاستروئیدی، ویتانولیدها و ویتافرین است که ترکیباتی استروژنی هستند (۲۴). طهماسبی و همکاران (۳۸) اثرات مفید عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه دارویی بوزیدان (۶۵ و ۱۳۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره) بر معدنی شدن استخوان در مرغهای تخمگذار در مرحله پایانی تولید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بیانگر این بود که استفاده از بوزیدان در جیره ابقای کلسیم و فسفر را در استخوان درشت نی بدون تاثیر نامطلوب بر عملکرد تولید بهبود می بخشد. علاوه بر این، ناگاردی و لاکشمانا (۲۳) دریافتند که درمان موشهای تخمدان برداری شده بوسیله عصاره هیدروالکلی بوزیدان (۶۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بطور مشخصی وزن خاکستر، درصد خاکستر، کلسیم و فسفر خاکستر و همچنین سطوح منیزیم آنرا افزایش می دهد. هدف از این آزمایش بررسی اثرات متقابل 1, 25 (OH)₂ D₃ و عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه دارویی بوزیدان با استفاده از جیره های با سطوح کافی و یا کم کلسیم بر ابقای مواد معدنی و خصوصیات مکانیکی استخوان جوجه خروس ها می باشد.

مواد و روشها

استخراج عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه دارویی بوزیدان

ریشه های گیاه بوزیدان در ماه آبان از زیستگاه طبیعی آن واقع در سراوان، سیستان و بلوچستان جمع آوری گردید. ریشه ها برای حصول اطمینان در هر بار بوم پژوهشکده گیاهشناسی دانشگاه فردوسی مشهد مورد شناسایی قرار گرفتند. سپس به آرامی با آب استریل شستشو داده شده، در سایه و در معرض هوای آزاد خشک شدند و در نهایت خرد شده تا به شکل پودر درآمدند. ریشه پودر شده با استفاده از اتانول ۵۰ درصد توسط دستگاه روتاری (Laborota 4000, Heidolph German) در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد برای حصول عصاره نیمه خشک مورد عصاره گیری قرار گرفت. آنگاه عصاره آبی به مدت ۲۴ ساعت مورد انجماد خشک قرار گرفت و با قرار گرفتن در

نتایج و بحث

عملکرد و ابقای مواد معدنی

در کل دوره آزمایش اثر متقابل معنی داری بین کنترل (منفی و مثبت) و بوزیدان بر افزایش وزن وجود داشت (جدول ۲). کمترین افزایش وزن (۲۱۹۴/۸۳ گرم) در پرندگانی مشاهده شد که از جیره کنترل مثبت با بالاترین سطح بوزیدان (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و یا جیره کنترل منفی با هیچگونه مکملی از بوزیدان (۲۲۱۹/۶۴ و ۲۲۳۵/۷۱ گرم) تغذیه شده بودند ($P < 0/05$). در سطوح کافی کلسیم جیره بدون استفاده از D_3 (OH)₂ 1, 25، افزودن ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بوزیدان منجر به حداکثر افزایش وزن (۲۴۷۵/۷۵ گرم) گردید ($P < 0/05$). هیچگونه اثرات معنی داری از سطح کلسیم جیره، بوزیدان و D_3 (OH)₂ 1, 25 بر مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک مشاهده نگردید. اگرچه اثر تیمارها بر ضریب تبدیل خوراک معنی دار نبود ولی افزودن ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره بوزیدان به جیره جوجه‌های گوشتی باعث کاهش ضریب تبدیل خوراک گردید. ابقای کلسیم و فسفر بطور معنی داری ($P < 0/05$) با کاهش کلسیم جیره به ۷۰ درصد سطح پیشنهاد شده افزایش یافت (جدول ۲). اثرات متقابل معنی داری بین عصاره بوزیدان با سطح کلسیم جیره یا D_3 (OH)₂ 1, 25 بر ابقای کلسیم مشاهده نگردید. بطوریکه استفاده از ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره بوزیدان بطور معنی داری ابقای کلسیم را در پرندگانی که از جیره کنترل منفی تغذیه شده بودند افزایش داد ($P < 0/01$). افزودن ۰/۵ میکروگرم D_3 (OH)₂ 1, 25 در پرندگانی که ۷۵ میلی‌گرم عصاره بوزیدان دریافت کرده بودند بطور معنی داری ابقای کلسیم را صرفنظر از سطح کلسیم جیره افزایش داد. در بین پرندگانی که از جیره کنترل مثبت تغذیه کرده بودند بیشترین ابقای کلسیم در پرندگانی دیده شد که ۷۵ میلی‌گرم عصاره بوزیدان با ۰/۵ میکروگرم D_3 (OH)₂ 1, 25 دریافت کرده بودند ($P < 0/01$). ابقای کلسیم در پرندگانی که D_3 (OH)₂ 1, 25 دریافت کرده بودند روند رو به رشدی داشت ($P = 0/074$). کاهش اضافه وزن در پرندگانی که از جیره کنترل مثبت با ۱۵۰ میلی‌گرم عصاره بوزیدان و ۰/۵ میکروگرم D_3 (OH)₂ 1, 25 تغذیه کرده بودند نشان میدهد که افزودن همزمان دو مکمل نمیتواند در پرندگانی که سطح کافی کلسیم دریافت میکنند مفید باشد در حالیکه اثرات مفید هنگامی برجسته تر است که سطوح کمتر کلسیم استفاده شود. همچنین اثرات متقابل مشابه بین کنترل (منفی و مثبت) و عصاره بوزیدان بر ابقای کلسیم اشاره بر این دارد که مکانیسم مرتبط با ابقای کلسیم ممکن است مسئول افزایش وزن باشد. در آزمایش فعلی کاهش سطح کلسیم جیره باعث افزایش ابقای همزمان کلسیم و فسفر گردید که خود میتواند به وسیله یافته‌های قبلی که کاهش سطح مواد معدنی جیره ابقای کلسیم و فسفر را افزایش میدهد توجیه گردد (۲۰ و ۲۶).

دیافیز با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد و سپس استخوانها در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد آون به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. آنگاه به مدت ۴۸ ساعت در دی اتیل اتر چربی‌گیری شده و وزن، طول، خصوصیات مکانیکی و کلسیم و فسفر آن اندازه‌گیری شد. خصوصیات مکانیکی استخوان درشت نی چپ با استفاده از دستگاه Model H5KS, Tinius Olsen Company Instron محاسبه گردید. در این روش استخوانها در موقعیت‌های مشابه قرار گرفتند. فاصله بین ۲ میله استیل نگهدارنده ۵ سانتیمتر و ضخامت میله شکننده (با نیروی ۵۰ کیلوگرم) ۱۰ میلی‌متر بود که استخوان را با سرعت ۵ میلی‌متر در دقیقه تا زمان شکستن لمس می‌کرد. با استفاده از نرم افزار Q Mat نیروی شکاف نهایی، حداکثر خمش قبل از شکستن، انرژی شکست و سختی (تانژانت زاویه آلفا) محاسبه گردید. قطعات شکسته شده استخوان درشت نی جمع‌آوری و در طی شب در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد آون خشک شده و در دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد کوره به مدت ۱۶ ساعت برای اندازه‌گیری مقدار کلسیم و فسفر مورد خاکسترگیری قرار گرفتند.

آنالیزهای آزمایشگاهی

نمونه‌های سرم برای اندازه‌گیری کلسیم، فسفر غیر آلی و آلکالین فسفاتاز با استفاده از دستگاه اتوماتیک آنالیز خون Random Access Analyser A15, Biosystem Corp, Spain مورد آنالیز قرار گرفتند. نمونه‌های خوراک، مدفوع و استخوان برای اندازه‌گیری خاکستر، کلسیم و فسفر کل مورد آنالیز قرار گرفت. غلظت کلسیم در نمونه‌ها بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی (SpectrAA 50B Atomic Absorption Spectrometer: Varian Ltd, USA) مطابق با روشهای توصیه شده توسط AOAC (۱) (روش ۹۲۷/۰۲) و فسفر کل با استفاده از روش مولیبدو وانادات (۱) (روش ۹۶۵/۱۷) اندازه‌گیری شد. غلظت کروم در نمونه‌های خشک خوراک و مدفوع با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی فوق‌الذکر مطابق با روش ویلیامز و همکاران (۴۱) تعیین گردید.

آنالیز آماری

آنالیز اطلاعات بصورت یک طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۲×۳×۲ (دو سطح کلسیم، سه سطح عصاره ریشه بوزیدان و دو سطح D_3 (OH)₂ 1, 25) انجام شد. تجزیه و تحلیل کلیه اطلاعات با استفاده از روش GLM نرم افزار آماری SAS (۳۵) انجام شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده گردید.

جدول ۱- ترکیب جیره های پایه (درصد)

دوره پایانی (۲۴-۴۲ روزگی)		دوره رشد (۲۳-۱۱ روزگی)		دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)		
+	-	+	-	+	-	
۵۳	۵۳	۵۳/۲۰	۵۳/۲۰	۵۲	۵۲	ذرت
۳۶/۹۰	۳۶/۹۰	۳۷	۳۷	۳۵	۳۵	کنجاله سویا
-	-	-	-	۵	۵	گلوتن ذرت
۶/۵۶	۶/۵۶	۵/۸	۵/۸	۳/۲۷	۳/۲۷	روغن گیاهی
۱/۰۳	۰/۳۷	۱/۰۷	۰/۴۰	۱/۳۱	۰/۵۳	سنگ آهک
۱/۴۰	۱/۴۰	۱/۵۵	۱/۵۵	۱/۷۵	۱/۷۵	دی کلسیم فسفات
۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۳۵	۰/۳۵	نمک
۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۳۲	۰/۳۲	متیونین
-	-	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۴	۰/۴	لیزین
-	-	-	-	۰/۱	۰/۱	ترئونین
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینی ۱
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی ۲
-	۰/۶۶	-	۰/۶۷	-	۰/۷۸	ماسه

انرژی و مواد مغذی محاسبه شده

۳۱۷۸/۷۷	۳۱۷۸/۷۷	۳۱۳۰/۹۷	۳۱۳۰/۹۷	۳۰۱۱/۴۷	۳۰۱۱/۴۷	انرژی قابل متابولیسم (کیلو کالری/کیلوگرم)
۲۰/۹۱	۲۰/۹۱	۲۱/۱۵	۲۱/۱۵	۲۳/۵۲	۲۳/۵۲	پروتئین خام (درصد)
۱/۱۳	۱/۱۳	۱/۲۴	۱/۲۴	۱/۴۴	۱/۴۴	لیزین (درصد)
۰/۵۲	۰/۵۲	۰/۶۱	۰/۶۱	۰/۷	۰/۷	متیونین (درصد)
۰/۸۶	۰/۸۶	۰/۹۵	۰/۹۵	۱/۰۷	۱/۰۷	کل اسیدهای آمینه گوگرد دار (درصد)
۰/۸۵	۰/۵۹	۰/۹۰	۰/۶۳	۱/۰۴	۰/۷۳	کلسیم (درصد)
۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۵	۰/۵	فسفر غیر فیتاته (درصد)
۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۶۸	۰/۶۸	۰/۷	۰/۷	فسفر کل (درصد)
۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۵	۰/۱۵	سدیم (درصد)
۰/۸۹	۰/۸۹	۰/۹۰	۰/۹۰	۰/۸۷	۰/۸۷	پتاسیم (درصد)
۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۲۵	۰/۲۵	کلر (درصد)
۲۲۶/۸۷	۲۲۶/۸۷	۲۲۶/۱۱	۲۲۶/۱۱	۲۱۷/۲۹	۲۱۷/۲۹	DEB (mEq/kg) ^۳
۰/۸۸	۰/۶۱	۰/۹۳	۰/۶۵	۱/۰۷	۰/۷۵	غلظت مواد مغذی آنالیز شده
۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۷۱	۰/۷۱	۰/۷۴	۰/۷۴	کلسیم (درصد)
						فسفر کل (درصد)

۱- پیش مخلوط ویتامینی در هر کیلوگرم جیره ۱۱۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۱۸۰۰ واحد بین المللی ویتامین D، ۱۱ میلیگرم ویتامین A، ۲ میلیگرم ویتامین K3، ۵/۷ میلیگرم ویتامین B2، ۲ میلیگرم ویتامین B6، ۰/۰۲۴ میلیگرم ویتامین B12، ۲۸ میلیگرم نیکوتینیک اسید، ۰/۵ میلیگرم اسید فولیک، ۱۲ میلیگرم پانتوتینیک اسید، ۲۵۰ میلیگرم کولین کلراید تامین می‌کند.

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 می‌کند.

۳- DEB= Dietary Electrolyte Balance

افزایش ابقای آن میباشد (۳۴). همچنین، توانایی سازگاری جوجه های گوشتی در سطوح کمتر از میزان مناسب کلسیم و فسفر به وسیله یان و همکاران (۴۳) گزارش شده است. $D_3(OH)_2$ 1, 25 باعث افزایش جذب روده ای کلسیم و فسفر میگردد. کاهش کلسیم یا فسفر باعث افزایش $D_3(OH)_2$ 1, 25 در پلازما شده اما فقط کاهش کلسیم باعث افزایش فعالیت آنزیم ۱-آلفا-هیدروکسیلاز در پرندگان می شود (۲، ۱۲ و ۲۱).

همچنین قبلا گزارش شده است که جذب روده ای کلسیم (۱۱ و ۱۰ و ۳) و فسفر (۲۲) و فسفر کمتر به مدت یک دوره ۱۰ تا ۱۵ روزه تغذیه میکنند افزایش می یابد. پرندگان با رشد سریع در شرایط محدودیت کلسیم یا فسفر جیره با افزایش ظرفیت جذب روده ای کلسیم و فسفر با این شرایط سازگار می شوند (۲۱ و ۲۲). علاوه بر این کاهش سطح کلسیم جیره یک استراتژی و فاکتور مهم برای کاهش مقدار فسفر دفعی از طریق

جدول ۲- اثر بوزیدان، 1, 25 (OH)₂ D₃ و نوع جیره کنترل بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه های گوشتی در سن ۴۲ روزگی و ابقای مواد معدنی در جوجه های گوشتی سن ۱۹ تا ۲۱ روزگی

ابقای مواد معدنی				تیمار				
فسفر (%)	کلسیم (%)	خاکستر (%)	ضریب تبدیل خوراک	مصرف خوراک (گرم)	افزایش وزن (گرم)	1, 25 (OH) ₂ D ₃ (میکروگرم/کیلوگرم)	بوزیدان (میلی گرم/کیلوگرم)	کنترل ^۱
۷۹/۳۸	۸۲/۴۵ ^a	۶۴/۹۴	۱/۷۴	۳۸۸۳/۶۴	۲۳۳۵/۷۱ ^{bc}	.	.	-
۷۷/۳۳	۸۱/۷۹ ^a	۶۳/۱۰	۱/۷۴	۳۸۶۸/۶۸	۲۳۱۹/۶۴ ^{bc}	۰/۵	.	-
۷۴/۲۲	۷۳/۳۶ ^{bc}	۶۳/۵۸	۱/۶۳	۳۸۸۰/۶۱	۲۳۶۸/۸۹ ^{abc}	.	۷۵	-
۷۵/۹۰	۷۹/۵۰ ^a	۵۷/۳۴	۱/۶۴	۳۹۳۹/۴۷	۲۳۹۶/۱۳ ^{abc}	۰/۵	۷۵	-
۷۷/۹۷	۸۱/۹۹ ^a	۶۰/۸۰	۱/۶۹	۳۸۸۸/۱۳	۲۲۹۹/۴۲ ^{abc}	.	۱۵۰	-
۷۶/۱۳	۸۳/۰۹ ^a	۶۰/۶۶	۱/۶۴	۴۰۰۶/۸۰	۲۴۴۱/۲۸ ^{ab}	۰/۵	۱۵۰	-
۷۳/۴۰	۶۹/۳۰ ^{cd}	۵۸/۳۳	۱/۶۷	۳۹۲۷/۲۰	۲۳۳۹/۳۳ ^{abc}	.	.	+
۷۴/۸۰	۶۹/۸۳ ^{cd}	۶۲/۷۶	۱/۶۷	۴۰۸۹/۶۰	۲۴۴۲/۰۳ ^{ab}	۰/۵	.	+
۷۳/۵۴	۶۸/۹۷ ^{cd}	۶۱/۵۲	۱/۶۳	۴۰۴۳/۶۲	۲۴۷۵/۷۵ ^a	.	۷۵	+
۷۵/۷۳	۷۷/۹۳ ^{ab}	۶۳/۹۳	۱/۷۱	۴۰۳۰/۲۷	۲۳۷۰/۱۰ ^{abc}	۰/۵	۷۵	+
۷۵/۴۵	۷۱/۰۷ ^{cd}	۶۳/۰۰	۱/۷۲	۳۸۷۶/۳۹	۲۲۵۳/۰۵ ^{abc}	.	۱۵۰	+
۷۴/۱۴	۶۶/۳۵ ^d	۶۴/۵۳	۱/۷۶	۳۸۵۹/۱۶	۲۱۹۴/۸۳ ^c	۰/۵	۱۵۰	+
۱/۷۰۰	۱/۷۱۱	۲/۳۷۲	۰/۰۵۱	۱۰۱/۴۷۶	۷۰/۲۶۹			SEM
								اثر اصلی
۷۶/۷۷ ^a	۸۰/۶۰ ^a	۶۲/۲۸	۱/۶۸	۳۹۱۱/۲۳	۲۳۳۶/۸۵	-		کنترل
۷۴/۰۸ ^b	۷۰/۲۷ ^b	۶۲/۲۳	۱/۷۰	۳۹۷۱/۰۴	۲۳۴۵/۸۶	+		
۷۵/۹۸	۷۵/۸۴	۶۲/۳۸	۱/۷۱	۳۹۴۲/۲۸	۲۳۰۹/۱۸	.		بوزیدان
۷۴/۴۶	۷۴/۸۶	۶۲/۰۴	۱/۶۵	۳۹۷۳/۵۰	۲۴۰۲/۷۲	۷۵		
۷۵/۸۲	۷۶/۱۳	۶۲/۵۹	۱/۷۰	۳۹۰۷/۶۳	۲۳۹۷/۱۵	۱۵۰		
۷۵/۲۴	۷۴/۸۲	۶۲/۳۴	۱/۶۸	۳۹۱۶/۶۰	۲۳۳۸/۷۰	.		1, 25 (OH) ₂ D ₃
۷۵/۶۶	۷۶/۳۶	۶۲/۲۶	۱/۶۹	۳۹۶۵/۶۷	۲۳۴۴	۰/۵		
P Values								
۰/۰۱۴	۰/۰۰۱	۰/۶۸۰	۰/۶۰۴	۰/۳۱۲	۰/۶۴۱			کنترل
۰/۴۹۵	۰/۷۵۵	۰/۹۱۵	۰/۳۰۴	۰/۶۵۸	۰/۰۷۷			بوزیدان
۰/۶۷۲	۰/۰۷۴	۰/۹۹۵	۰/۷۳۵	۰/۴۰۶	۰/۷۰۷			1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۲۸۵	۰/۰۰۱	۰/۱۳۸	۰/۱۵۱	۰/۲۵۲	۰/۰۱۱			کنترل × بوزیدان
۰/۳۲۹	۰/۷۷۰	۰/۰۷۱	۰/۴۲۲	۰/۹۳۰	۰/۲۸۳			کنترل × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۳۳۲	۰/۰۰۱	۰/۶۶۴	۰/۷۷۰	۰/۹۳۸	۰/۶۳۹			بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۶۵۵	۰/۲۱۸	۰/۶۳۹	۰/۸۲۶	۰/۵۱۸	۰/۲۴۹			کنترل × بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃

a-d میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P < ۰/۰۵).

۱- جیره کنترل مثبت حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.

معدنی شدن استخوان

اثرات تیمارهای غذایی مختلف بر خصوصیات فیزیکی استخوان و معدنی شدن آن در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است. تیمارهای آزمایشی از لحاظ آماری تأثیری بر خصوصیات فیزیکی استخوان پرندهگان در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی نداشتند. در پرندهگانی که دو سطح عصاره بوزیدان را دریافت کردند غلظت کلسیم درشت نی بطور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل (منفی و مثبت) در ۲۱ روزگی بیشتر بود (P < ۰/۰۵).

ادواردز و ولتمن (۷) گزارش کردند که ابقای کلسیم هنگامی بیشترین است که مقدار کلسیم جیره پایین باشد. در سطوح متوسط و بالای کلسیم جیره مقدار کلسیم بیشتری در سطوح بالای فسفر ابقا میگردد. ابقای فسفر هنگامی بیشترین است که جیره دارای سطوح پایین کلسیم و فسفر باشد و هنگامیکه سطح هر کدام از این مواد معدنی در جیره افزایش یابد راندمان ابقاء کاهش می یابد (۷).

جدول ۳- اثر بوزیدان، 1, 25 (OH)₂ D₃ و نوع جیره کنترل بر خصوصیات استخوان درشت نی جوجه های گوشتی در سن ۲۱ روزگی

فسفر استخوان (%)	کلسیم استخوان (%)	خاکستر استخوان (%)	قطر استخوان (میلی متر)	طول استخوان (میلی متر)	وزن استخوان (گرم)	تیمار		کنترل ^۱
						1, 25 (OH) ₂ D ₃ (میکروگرم/کیلوگرم)	بوزیدان (میلی گرم/کیلو گرم)	
۲۳/۹۳	۳۳/۱۷ ^c	۵۰/۰۲	۵/۲۰	۶۴/۷۶	۱/۵۴	.	.	-
۲۴/۰۴	۳۵/۳۳ ^{abc}	۵۱/۹۱	۵/۲۹	۶۶/۰۲	۱/۶۳	۰/۵	.	-
۲۴/۳۵	۳۶/۰۸ ^{abc}	۵۱/۴۳	۵/۶۰	۶۵/۸۷	۱/۸۵	.	۷۵	-
۲۴/۲۹	۳۷/۷۴ ^a	۵۰/۰۱	۵/۳۲	۶۶/۳۰	۱/۶۰	۰/۵	۷۵	-
۲۴/۳۱	۳۸/۶۵ ^a	۵۲/۹۱	۵/۴۲	۶۶/۴۰	۱/۶۵	.	۱۵۰	-
۲۴/۲۵	۳۵/۸۰ ^{abc}	۵۲/۵۷	۴/۹۳	۶۷/۰۶	۱/۵۰	۰/۵	۱۵۰	-
۲۴/۱۱	۳۳/۱۷ ^{bc}	۵۰/۹۲	۵/۳۸	۶۴/۸۷	۱/۶۲	.	.	+
۲۴/۰۲	۳۶/۲۵ ^{abc}	۵۱/۷۵	۵/۱۲	۶۵/۹۳	۱/۷۰	۰/۵	.	+
۲۴/۲۰	۳۵/۵۵ ^{abc}	۵۳/۶۲	۴/۸۷	۶۵/۵۹	۱/۵۸	.	۷۵	+
۲۴/۳۰	۳۷/۵۹ ^a	۵۳/۴۹	۵/۰۳	۶۴/۷۵	۱/۵۸	۰/۵	۷۵	+
۲۴/۰۹	۳۶/۹۶ ^{ab}	۵۴/۳۹	۵/۴۰	۶۶/۸۶	۱/۹۸	.	۱۵۰	+
۲۴/۰۱	۳۵/۸۰ ^{abc}	۵۱/۸۰	۵/۰۵	۶۶/۶۳	۱/۷۱	۰/۵	۱۵۰	+
۰/۲۳۲	۱/۱۰۶	۱/۵۶	۰/۲۰۸	۱/۱۷۴	۰/۰۵۸	.	.	SEM
۲۴/۲۰	۳۶/۲۶	۵۱/۴۷	۵/۳۱	۶۵/۹۹	۱/۶۴	-	.	اثر اصلی کنترل
۲۴/۱۲	۳۵/۸۵	۵۲/۶۱	۵/۱۶	۶۵/۷۷	۱/۷۰	+	.	
۲۴/۰۴	۳۴/۷۹ ^b	۵۱/۰۲	۵/۲۶	۶۵/۲۸	۱/۶۲	.	.	بوزیدان
۲۴/۲۸	۳۶/۶۱ ^a	۵۲/۲۲	۵/۲۱	۶۵/۶۵	۱/۶۷	.	۷۵	
۲۴/۱۷	۳۶/۷۴ ^a	۵۲/۹۲	۵/۲۴	۶۶/۷۱	۱/۷۳	۱۵۰	.	
۲۴/۱۷	۳۵/۷۳	۵۲/۰۹	۵/۳۱	۶۵/۷۳	۱/۷۱	.	.	1, 25 (OH) ₂ D ₃
۲۴/۱۵	۳۶/۳۴	۵۱/۹۲	۵/۱۲	۶۶/۱۱	۱/۶۲	۰/۵	.	

P Values							
۰/۱۲۸	۰/۴۸۰	۰/۲۳۷	۰/۲۱۱	۰/۲۵۵	۰/۷۵۳	.	کنترل
۰/۵۷۶	۰/۰۱۴	۰/۰۶۷	۰/۲۲۵	۰/۵۸۳	۰/۶۶۰	.	بوزیدان
۰/۲۴۲	۰/۲۱۸	۰/۴۲۱	۰/۰۶۲	۰/۷۶۴	۰/۳۶۶	.	1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۵۶۹	۰/۷۳۱	۰/۶۱۱	۰/۸۵۶	۰/۸۱۹	۰/۸۵۴	.	کنترل × بوزیدان
۰/۱۶۵	۰/۷۱۷	۰/۸۰۷	۰/۰۵۱	۰/۳۲۱	۰/۳۶۲	.	کنترل × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۸۹۵	۰/۰۰۹	۰/۵۰۸	۰/۶۴۶	۰/۲۲۴	۰/۶۶۰	.	بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۵۸۲	۰/۸۲۶	۰/۸۶۶	۰/۲۱۸	۰/۹۷۴	۰/۴۳۰	.	کنترل × بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃

a-c میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P < ۰/۰۵).

۱- جیره کنترل مثبت حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.

مکملی دریافت نکرده بودند نشان دادند (P < ۰/۰۱). پرنده گانی که از جیره کنترل منفی مکمل شده با ۷۵ میلیگرم عصاره بوزیدان و ۰/۵ میکروگرم 1, 25 (OH)₂ D₃ تغذیه کرده بودند غلظت مشابهی از کلسیم استخوان در مقایسه با آنهایی که فقط ۱۵۰ میلیگرم عصاره بوزیدان دریافت کرده بودند داشتند. در ۴۲ روزگی، مقدار کلسیم استخوان صرفنظر از سطح کلسیم جیره بطور معنی داری با استفاده از 1, 25 (OH)₂ D₃ افزایش یافت (P < ۰/۰۵). هیچگونه اثرات معنی داری از تیمارهای آزمایشی بر مقدار فسفر درشت نی پرنده گان در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی مشاهده نگردید.

در حالیکه هیچگونه اثرات معنی داری در ۴۲ روزگی ثبت نگردید. اثرات متقابل بین عصاره بوزیدان و 1, 25 (OH)₂ D₃ بطور معنی داری کلسیم استخوان را در ۲۱ روزگی تحت تاثیر قرار داد بطوریکه کلسیم استخوان در پرنده گانی که هیچگونه مکملی دریافت نکرده بودند بطور معنی داری در مقایسه با پرنده گان تیمار شده با ۱۵۰ میلی گرم عصاره بوزیدان یا ۷۵ میلیگرم عصاره بوزیدان بعلاوه ۰/۵ میکروگرم 1, 25 (OH)₂ D₃ کمتر بود (P < ۰/۰۱). صرفنظر از سطح کلسیم جیره پرنده گانی که از ۷۵ میلیگرم عصاره بوزیدان همراه با ۰/۵ میکروگرم 1, 25 (OH)₂ D₃ تغذیه کرده بودند بطور معنی داری غلظت بیشتری از کلسیم استخوان در مقایسه با آنهایی که هیچگونه

جدول ۴- اثر بوزیدان، $1, 25 (OH)_2 D_3$ و نوع جیره کنترل بر خصوصیات استخوان درشت نی جوجه های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

کنترل ^۱	بوزیدان		تیمار					
	(میلی گرم/کیلو گرم)	(میکروگرم/کیلوگرم)	وزن استخوان (گرم)	طول استخوان (میلی متر)	قطر استخوان (میلی متر)	خاکستر استخوان (%)	کلسیم استخوان (%)	فسفر استخوان (%)
-	.	.	۵/۵۹	۹۶/۳۲	۷/۹۵	۴۹/۶۹	۳۸/۸۳	۲۴/۳۴
-	.	-/۵	۵/۳۰	۹۷/۶۷	۷/۵۶	۴۹/۷۲	۳۸/۶۲	۲۴/۴۲
-	۷۵	.	۵/۶۹	۹۶/۳۴	۷/۸۱	۴۸/۳۴	۳۸/۰۰	۲۳/۸۷
-	۷۵	-/۵	۵/۹۶	۹۷/۱۳	۷/۹۲	۴۹/۴۶	۳۸/۷۵	۲۴/۳۷
-	۱۵۰	.	۵/۸۱	۹۸/۶۵	۷/۷۴	۴۹/۹۹	۳۸/۷۵	۲۴/۴۲
-	۱۵۰	-/۵	۵/۴۹	۹۸/۴۷	۷/۵۴	۴۷/۸۳	۳۸/۵۸	۲۴/۱۱
+	.	.	۵/۴۸	۹۵/۸۸	۷/۹۳	۴۸/۵۰	۳۸/۱۰	۲۴/۵۴
+	.	-/۵	۵/۹۰	۹۶/۵۳	۸/۳۴	۴۷/۹۳	۳۸/۲۷	۲۴/۱۴
+	۷۵	.	۵/۸۰	۹۷/۳۰	۷/۹۲	۴۷/۶۸	۳۷/۶۳	۲۴/۳۶
+	۷۵	-/۵	۵/۸۲	۹۶/۹۵	۷/۹۸	۴۸/۲۲	۳۸/۶۵	۲۴/۲۱
+	۱۵۰	.	۵/۸۶	۹۴/۹۰	۷/۸۸	۴۸/۸۵	۳۷/۸۰	۲۴/۴۴
+	۱۵۰	-/۵	۵/۳۵	۹۶/۲۲	۷/۸۲	۴۸/۶۳	۳۹/۱۳	۲۴/۰۹
SEM			-/۲۹۱	۱/۴۷۴	-/۳۰۰	-/۸۱۱	-/۴۳۵	-/۱۹۰
اثر اصلی								
کنترل			۵/۶۴	۹۷/۴۱	۷/۷۵	۴۹/۱۴	۳۸/۵۹	۲۴/۲۷
		+	۵/۷۰	۹۶/۲۹	۷/۹۸	۴۸/۳۱	۳۸/۲۵	۲۴/۲۹
		.	۵/۵۷	۹۶/۵۷	۷/۹۴	۴۸/۹۲	۳۸/۴۶	۲۴/۳۶
بوزیدان		۷۵	۵/۸۲	۹۶/۹۳	۷/۹۱	۴۸/۴۲	۳۸/۲۴	۲۴/۲۲
		۱۵۰	۵/۶۳	۹۷/۰۶	۷/۷۴	۴۸/۸۲	۳۸/۵۷	۲۴/۲۶
		.	۵/۷۱	۹۶/۵۵	۷/۸۷	۴۸/۸۵	۳۸/۱۹ ^b	۲۴/۳۴
		-/۵	۵/۶۴	۹۷/۱۶	۷/۸۶	۴۸/۶۲	۳۸/۶۰ ^a	۲۴/۲۳
P Values								
کنترل			-/۷۰۹	-/۱۹۵	-/۳۶۳	-/۱۷۰	-/۳۰۷	-/۷۲۹
بوزیدان			-/۴۵۵	-/۸۸۹	-/۷۰۶	-/۶۲۹	-/۶۳۹	-/۵۲۹
$1, 25 (OH)_2 D_3$			-/۶۸۳	-/۴۷۴	-/۷۰۶	-/۷۳۱	-/۰۱۳	-/۳۶۱
کنترل × بوزیدان			-/۷۳۶	-/۲۶۱	-/۷۶۷	-/۵۳۸	-/۹۲۹	-/۷۵۷
کنترل × $1, 25 (OH)_2 D_3$			-/۷۸۳	-/۹۳۱	-/۳۳۲	-/۸۹۳	-/۲۱۰	-/۰۹۵
بوزیدان × $1, 25 (OH)_2 D_3$			-/۳۵۰	-/۹۲۴	-/۸۸۹	-/۲۵۳	-/۳۵۶	-/۱۸۴
کنترل × بوزیدان × $1, 25 (OH)_2 D_3$			-/۴۲۷	-/۷۸۹	-/۴۰۰	-/۵۰۸	-/۷۴۰	-/۵۱۳

a-b میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$).

۱- جیره کنترل مثبت حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.

بسترول ساخته است. فیتو استروژنها تحت تاثیر تبدیل های متابولیک در دستگاه گوارش قرار میگیرند و تشکیل فنلهای هتروسیکلیک میدهند که از نظر ساختمانی مشابه با استروژن هستند (۳۱). استروژن در پرندگان مشابه با پستانداران به وضوح دارای تاثیر عمده ای در فرآیند استخوان سازی است (۴۲). افزایش معدنی شدن استخوان در پرندگانی که جیره مکمل شده با $1, 25 (OH)_2 D_3$ مصرف میکنند در تایید مشاهدات قبلی میباشد (۴، ۵ و ۶).

بنابراین، نتایج به خوبی بیانگر اهمیت مکمل سازی $1, 25 (OH)_2 D_3$ در سطوح کمتر از نیاز کلسیم و مقدار کافی کوله کلسیفرول در جیره میباشد.

اثرات عصاره بوزیدان بر کلسیمی شدن استخوان در تطابق با نتایج طهماسبی و همکاران (۳۸) میباشد که گزارش کردند مکمل سازی ۱۳۰ میلیگرم در کیلوگرم عصاره ریشه بوزیدان در جیره غذایی مرغهای تخمگذار در مرحله پایانی تولید کلسیمی شدن استخوان را بهبود می بخشد. ناگاردی و لاکشمانا (۲۳) نیز گزارش کرده اند که عصاره بوزیدان بطور مشخصی سطوح کلسیم و فسفر خاکستر در استخوان ران موشهای تخمدان برداری شده با کمبود کلسیم را افزایش داد. پیشنهاد شد که اثرات سودمند بوزیدان به وجود تعداد زیادی از ترکیبات شبه استروژنی بنام ویتانولیدها در ارتباط است. وجود حلقه دی فنلی در ساختار شیمیایی ترکیبات فیتو استروژنی آنها را مشابه با ترکیبات اندوژنوس استروژن، استرادیول و دی اتیل استیل

جدول ۵- اثر بوزیدان، 1, 25 (OH)₂ D₃ و نوع جیره کنترل بر خصوصیات مکانیکی استخوان درشت نی جوجه های گوشتی در سن ۲۱ روزگی

سختی (نیوتن/میلی متر)	انرژی شکستن (نیوتن-میلی متر)	خمش شکستن (میلی متر)	نیروی شکاف (نیوتن)	تیمار		کنترل ^۱
				1, 25 (OH) ₂ D ₃ (میکروگرم/کیلوگرم)	بوزیدان (میلی گرم/کیلوگرم)	
۱۵۸/۰۵	۲۶/۳۷	۰/۵۹	۸۹/۵۸	.	.	-
۱۹۱/۴۸	۲۹/۴۵	۰/۴۹	۹۵/۶۸	۰/۵	.	-
۲۲۴/۱۸	۳۷/۱۲	۰/۵۷	۱۴۱/۲۰	.	۷۵	-
۱۹۰/۱۵	۳۹/۴۷	۰/۶۴	۱۱۹/۸۲	۰/۵	۷۵	-
۲۰۲/۹۵	۲۴/۹۰	۰/۴۲	۸۹/۴۸	.	۱۵۰	-
۲۰۵/۱۷	۲۶/۲۲	۰/۵۲	۱۰۰/۵۲	۰/۵	۱۵۰	-
۱۸۷/۵۴	۳۱/۵۴	۰/۶۵	۱۰۸/۷۸	.	.	+
۱۹۰/۶۴	۲۵/۹۲	۰/۵۲	۹۸/۷۰	۰/۵	.	+
۱۹۲/۸۶	۳۰/۸۶	۰/۵۶	۱۲۰/۶۲	.	۷۵	+
۲۱۰/۹۶	۲۳/۸۸	۰/۵۲	۱۰۰/۶۲	۰/۵	۷۵	+
۲۰۲/۶۰	۲۷/۲۷	۰/۵۱	۱۰۹/۸۵	.	۱۵۰	+
۲۱۵/۷۷	۲۳/۶۶	۰/۴۸	۹۸/۱۲	۰/۵	۱۵۰	+
۱۳/۴۹۵	۵/۶۴۰	۰/۰۴۷	۹/۹۳۱			SEM
						اثر اصلی
۱۹۶/۲۹	۳۰/۴۴	۰/۵۴	۱۰۴/۳۰	-		کنترل
۱۹۹/۵۲	۲۷/۳۵	۰/۵۴	۱۰۵/۴۶	+		
۱۸۳/۱۸ ^b	۲۸/۳۴	۰/۵۶	۹۸/۱۸	.		بوزیدان
۲۰۵/۲۹ ^a	۳۲/۷۴	۰/۵۷	۱۱۹/۳۴	۰		
۲۰۶/۳۸ ^a	۲۵/۴۲	۰/۴۹	۹۸/۹۴	۱۵۰		
۱۹۵/۷۱	۲۹/۸۶	۰/۵۶	۱۰۸/۳۶	.		1, 25 (OH) ₂ D ₃
۲۰۰/۳۶	۲۷/۸۲	۰/۵۳	۱۰۱/۶۳	۰/۵		
P Values						
۰/۵۶۶	۰/۲۹۳	۰/۷۹۴	۰/۹۹۰			کنترل
۰/۰۳۰	۰/۲۸۶	۰/۰۵۳	۰/۰۰۶			بوزیدان
۰/۴۶۷	۰/۷۵۱	۰/۳۳۳	۰/۲۰۵			1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۶۱۲	۰/۲۶۵	۰/۳۳۲	۰/۰۷۹			کنترل × بوزیدان
۰/۵۰۸	۰/۳۷۸	۰/۱۲۰	۰/۲۹۹			کنترل × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۴۱۴	۰/۹۲۴	۰/۰۶۱	۰/۳۲۹			بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۱۲۳	۰/۹۸۴	۰/۸۶۶	۰/۷۰۸			کنترل × بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃

a-b میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P < ۰/۰۵).

۱- جیره کنترل مثبت حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.

خصوصیات مکانیکی استخوان

نتایج خصوصیات مکانیکی استخوان در جداول ۵ و ۶ ارائه شده است. در سن ۲۱ روزگی، نیروی شکاف استخوان بطور معنی داری در پرندگانی که ۷۵ میلیگرم عصاره بوزیدان دریافت کرده بودند نسبت به آنهایی که هیچگونه مکملی یا ۱۵۰ میلیگرم مکمل بوزیدان دریافت کرده بودند بیشتر بود (P < ۰/۰۱). هیچگونه تفاوتی در خمش قبل شکستن یا انرژی شکستن استخوان بین تیمارها مشاهده نگردید. هر چند اثرات عصاره بوزیدان بر خمش قبل شکستن بسیار نزدیک به معنی داری بود (P = ۰/۰۵۳). آنالیز داده های سختی استخوان نشان داد که پرندگانی که از دو سطح عصاره بوزیدان تغذیه میکردند در مقایسه با گروه کنترل دارای سختی استخوان بیشتری بودند

(P < ۰/۰۵). در سن ۴۲ روزگی سختی استخوان در پرندگانی که ۷۵

میلیگرم عصاره بوزیدان دریافت کرده بودند نسبت به آنهایی که جیره کنترل دریافت کرده بودند بیشتر بود (P < ۰/۰۵).

هر چند هیچگونه تفاوت معنی داری بین دو سطح بوزیدان مشاهده نگردید. تیمارهای غذایی نیروی شکاف استخوان، خمش شکستن و انرژی شکستن را تحت تاثیر قرار ندادند. نتایج این آزمایش در تطابق با یافته های ناگاردی و لاکشمانا (۲۳) و ردی و همکاران (۳۰) میباشد که گزارش کردند درمان موشهای تخمدان برداری شده با عصاره بوزیدان یا OST-6 (ماده ای گیاهی حاوی ۲۵۰ میلی گرم در گرم بوزیدان) بطور معنی داری میزان کل انرژی برای شکستن استخوان را افزایش میدهد.

جدول ۶- اثر بوزیدان، 1, 25 (OH)₂ D₃ و نوع جیره کنترل بر خصوصیات مکانیکی استخوان درشت نی جوجه های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

سختی (نیوتن/میلی متر)	انرژی شکستن (نیوتن-میلی متر)	خمش شکستن (میلی متر)	نیروی شکاف (نیوتن)	تیمار		کنترل ^۱
				1, 25 (OH) ₂ D ₃ (میکرو گرم/کیلوگرم)	بوزیدان (میلیگرم/کیلوگرم)	
۳۱۰/۷۶	۶۵/۵۸	۰/۶۵	۱۸۴/۸۰	۰	۰	-
۲۷۶/۵۲	۷۰/۰۵	۰/۷۲	۱۹۴/۳۷	-/۵	۰	-
۳۲۲/۵۸	۴۲/۹۲	۰/۶۲	۲۱۹/۸۲	۰	۷۵	-
۳۵۹/۳۴	۶۶/۵۰	۰/۵۹	۲۱۱/۶۶	-/۵	۷۵	-
۳۳۳/۸۰	۶۶/۴۶	۰/۶۴	۲۰۴/۸۰	۰	۱۵۰	-
۲۸۷/۵۶	۷۵/۲۴	۰/۷۰	۲۰۲/۴۴	-/۵	۱۵۰	-
۲۸۰/۷۷	۵۶/۳۷	۰/۷۲	۱۷۲/۶۰	۰	۰	+
۳۰۶/۱۶	۵۶/۹۶	۰/۶۰	۱۷۷/۰۴	-/۵	۰	+
۳۳۷/۸۸	۷۲/۵۴	۰/۷۱	۲۱۳/۴۲	۰	۷۵	+
۳۶۲/۷۵	۷۷/۲۵	۰/۶۶	۲۳۳/۵۰	-/۵	۷۵	+
۳۵۱/۲۲	۷۴/۸۰	۰/۶۵	۲۲۳/۹۲	۰	۱۵۰	+
۳۹۸/۲۴	۸۰/۳۰	۰/۷۷	۲۱۸/۱۴	-/۵	۱۵۰	+
۳۵/۶۶۶	۱۱/۴۸۳	۰/۰۵۴	۲۲/۶۹۷			SEM
						اثر اصلی
						کنترل
۳۱۴/۷۰	۶۴/۲۶	۰/۶۵	۲۰۳/۳۵	-		
۳۳۰/۰۹	۶۹/۷۳	۰/۶۸	۲۰۶/۰۴	+		
۲۹۵/۲۱ ^b	۶۲/۱۳	۰/۶۷	۱۸۱/۹۰	۰		بوزیدان
۳۴۲/۱۱ ^a	۶۴/۱۴	۰/۶۴	۲۱۸/۸۲	۷۵		
۳۱۳/۴۳ ^{ab}	۷۴/۱۶	۰/۶۹	۲۱۱/۷۲	۱۵۰		
۳۱۹/۸۳	۶۲/۹۳	۰/۶۶	۲۰۳/۶۸	۰		1, 25 (OH) ₂ D ₃
۳۱۴/۷۸	۷۰/۸۶	۰/۶۷	۲۰۵/۶۴	-/۵		
P Values						
۰/۶۱۴	۰/۳۵۱	۰/۳۶۶	۰/۶۶۸			کنترل
۰/۰۴۱	۰/۳۳۷	۰/۵۵۸	۰/۰۸۹			بوزیدان
۰/۷۷۲	۰/۲۵۶	۰/۷۹۸	۰/۸۷۲			1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۸۶۴	۰/۱۹۲	۰/۴۲۱	۰/۴۷۵			کنترل × بوزیدان
۰/۶۶۴	۰/۵۳۲	۰/۴۲۹	۰/۷۰۶			کنترل × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۱۰۹	۰/۷۸۹	۰/۲۰۴	۰/۸۴۹			بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۵۶۹	۰/۸۷۱	۰/۳۰۲	۰/۸۹۶			کنترل × بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃

a-b میانگین های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند (P < ۰/۰۵).
۱- جیره کنترل مثبت حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.

خصوصیات مکانیکی آن باشد. استروژن اثر خود را بطور همزمان از طریق افزایش بیان گیرنده ویتامین D و فعالیت های مرتبط با 1, 25 (OH)₂ D₃ در مخاط روده و استئوبلاستها اعمال میکند که منجر به تحریک سنتز پروتئین ماتریکس استخوان همراه با افزایش ذخیره معدنی آن میگردد (۱۹). در آزمایش فعلی مقدار مواد معدنی استخوان (کلسیم و فسفر) هیچگونه تفاوت معنی داری را بین تیمارها در سن ۴۲ روزگی نشان نداد. این احتمال وجود دارد که عواملی به غیر از افزایش معدنی شدن استخوان در افزایش استحکام آن دخیل باشد. استحکام استخوان مرتبط با خصوصیات مواد آن نظیر شیمی ماتریکس، تراکم، هندسه و طرح آن میباشد (۹ و ۱۸).

این نتایج در یافته های معدنی شدن استخوان منعکس شده است بطوریکه از کلسیمی شدن استخوان مشهود است. افزودن ۷۵ میلیگرم عصاره بوزیدان ابقای کلسیم در استخوان و نیروی شکاف را افزایش داد (به ترتیب P < ۰/۰۵ و P < ۰/۰۱). نتایج نشان میدهد که در این گروه میزان انرژی بیشتری برای شکستن استخوان مورد نیاز است. نکته قابل توجه در هر دو سن اثر معنی دار عصاره بوزیدان بر سختی استخوان در سطح ۷۵ میلیگرم میباشد. مطالعات قبلی اثبات کرده است که پودر ریشه بوزیدان از تجزیه بافت پیوندی به وسیله بازدارندگی کلاژناز و پروستاگلاندین E₂ جلوگیری میکند. این اثرات میتواند از طریق فیتو استروئولها، فلاونوئیدها و ویتامین C موجود در پودر ریشه بوزیدان رخ دهد (۲۸). این امکان وجود دارد که طبیعت استروژنی فیتو استروئولها مسئول اثرات مفید آنها بر معدنی شدن و

جدول ۷- اثر بوزیدان، 1, 25 (OH)₂ D₃ و نوع جیره کنترل بر فراسنج‌های خونی جوجه‌های گوشتی در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی

۴۲ روزگی			۲۱ روزگی			تیمار		کنترل ^۱
آلکالین فسفاتاز (واحد/لیتر)	کلسیم (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	فسفر (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	آلکالین فسفاتاز (واحد/لیتر)	کلسیم (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	فسفر (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	1, 25 (OH) ₂ D ₃ (میکروگرم/کیلوگرم)	بوزیدان (میلی‌گرم/کیلوگرم)	
۳۰۴۷/۰۰	۸/۳۶	۶/۲۲	۱۲۰۴۹/۳۳	۸/۵۸	۶/۵۸	-	-	-
۲۲۹۸/۴۰	۸/۴۸	۵/۵۸	۱۲۸۷۹/۵۰	۵/۷۸	۵/۷۸	۰/۵	-	-
۲۳۲۹/۴۰	۹/۷۳	۶/۱۷	۱۳۹۹۶/۶۰	۸/۵۲	۶/۷۳	-	۷۵	-
۱۹۰۶/۵۰	۱۰/۱۵	۶/۵۷	۹۶۷۳/۵۰	۸/۸۴	۶/۶۲	۰/۵	۷۵	-
۲۷۳۹/۵۰	۱۰/۱۷	۶/۷۹	۱۴۳۳۱/۰۰	۹/۱۵	۵/۰۶	-	۱۵۰	-
۲۲۱۰/۰۰	۹/۶۴	۶/۹۹	۱۴۳۱۲/۰۰	۸/۴۸	۶/۷۸	۰/۵	۱۵۰	-
۲۸۰۲/۲۰	۹/۴۲	۷/۳۳	۹۴۹۹/۳۳	۹/۰۶	۵/۶۴	-	-	+
۲۶۳۸/۳۳	۱۰/۷۷	۵/۴۲	۹۲۴۴/۰۰	۸/۸۲	۵/۱۷	۰/۵	-	+
۱۷۳۸/۰۰	۸/۴۵	۸/۳۶	۱۳۶۷۵/۰۰	۹/۷۱	۵/۷۴	-	۷۵	+
۲۶۲۵/۰۰	۹/۵۹	۷/۵۳	۱۱۰۲۶/۰۰	۹/۵۶	۵/۴۱	۰/۵	۷۵	+
۱۸۸۴/۰۰	۱۰/۰۰	۶/۶۰	۱۲۳۶۲/۲۰	۹/۸۸	۵/۱۳	-	۱۵۰	+
۱۹۴۳/۰۰	۱۰/۲۶	۵/۸۴	۱۰۷۹۷/۳۳	۹/۳۷	۴/۷۳	۰/۵	۱۵۰	+
۴۴۱/۳۹۸	-/۸۷۵	-/۸۴۷	۲۲۵۲/۶۳۱	-/۵۳۸	-/۶۰۳	-	-	SEM
۲۴۱۹/۲۰	۹/۴۰	۶/۳۹	۱۲۸۷۴/۴۲	۸/۹۴	۶/۲۸ ^a	-	-	اثر اصلی کنترل
۲۴۰۴/۹۴	۹/۷۴	۶/۹۴	۱۱۲۱۷/۲۳	۹/۴۱	۵/۳۰ ^b	+	-	
۲۶۳۴/۱۳	۹/۲۶	۶/۱۱	۱۰۷۳۹/۷۳	۹/۱۰	۵/۸۳	-	-	بوزیدان
۲۳۰۷/۳۳	۹/۴۴	۷/۱۵	۱۲۱۱۲/۸۷	۹/۱۹	۶/۰۱	۷۵	-	
۲۳۳۹/۸۳	۱۰/۰۲	۶/۵۹	۱۲۹۳۲/۱۳	۹/۲۶	۵/۵۷	۱۵۰	-	
۲۵۳۵/۰۵	۹/۳۳	۶/۹۲	۱۲۸۵۹/۱۶	۹/۱۷	۵/۸۴	-	-	1, 25 (OH) ₂ D ₃
۲۳۹۵/۶۰	۹/۸۰	۶/۳۷	۱۰۹۶۱/۳۸	۹/۱۹	۵/۷۷	۰/۵	-	

P Values						
۰/۵۱۰	۰/۱۹۲	۰/۵۳۱	۰/۴۸۶	۰/۰۰۸	۰/۲۳۴	کنترل
۰/۰۸۳	۰/۳۷۹	۰/۴۷۱	۰/۵۹۶	۰/۶۰۲	۰/۹۱۰	بوزیدان
۰/۵۱۱	۰/۰۶۹	۰/۳۷۷	۰/۳۴۶	۰/۸۱۲	۰/۷۲۵	1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۴۴۲	۰/۴۷۳	۰/۱۳۰	۰/۵۵۴	۰/۸۲۳	۰/۲۶۶	کنترل × بوزیدان
۰/۰۷۷	۰/۴۱۲	۰/۳۸۰	۰/۷۴۶	۰/۲۸۴	۰/۵۰۳	کنترل × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۴۶۸	۰/۳۵۰	۰/۷۱۸	۰/۴۶۰	۰/۵۲۸	۰/۳۲۵	بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃
۰/۷۶۸	۰/۹۹۶	۰/۹۷۶	۰/۸۰۸	۰/۵۷۹	۰/۳۸۸	کنترل × بوزیدان × 1, 25 (OH) ₂ D ₃

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

۱- جیره کنترل مثبت حاوی سطح توصیه شده کلسیم و کنترل منفی حاوی ۷۰ درصد سطح مورد نیاز کلسیم بود.

به بهبود حرکات پا کمک میکنند (۱۶). معدنی شدن استخوان به سختی و استحکام تراکمی آن نیز کمک میکند (۹ و ۱۸). در سن ۲۱ روزگی، داده‌های سختی استخوان در تطابق با داده‌های معدنی شدن استخوان میباشد، اما در سن ۴۲ روزگی علیرغم افزایش معنی‌دار سختی هیچگونه اثر معنی‌داری بر معدنی شدن استخوان مشاهده نگردید. تالاتی و همکاران (۳۹) تغییرات معدنی شدن استخوان و خصوصیات اندازه استخوان درشت نی و بازوی جوجه‌های گوشتی نر و ماده را در طول سیکل زندگی با استفاده از اشعه ایکس بررسی کردند و نتیجه گرفتند که استخوان درشت نی از نظر مواد معدنی بعد

این امکان وجود دارد که پیوندهای متقاطع بین مولکولی رشته‌های کلاژن مسئول استحکام کششی و خصوصیات کشش و فشار باشد (۱۳) که میتواند استحکام فیبریلی ایجاد کند و استحکام استخوان را در پی داشته باشد. مشخص شده است که پیوندهای متقاطع کلاژن در نگهداری سیستم اسکلتی استخوانها مهم هستند (۸ و ۳۲). اگر فیتو استروئیدهایی نظیر ویتانولیدها قادر به تنظیم مقدار پیوندهای متقاطع کلاژن باشند میتوانند استحکام استخوان را بدون اینکه بر معدنی شدن آن تاثیر بگذارند تحت تاثیر قرار دهند. سختی فاکتوری مهم در تحرک موثر میباشد (۱۷) و استخوانهای سخت تر

که سطوح بالاتر غلظت فسفر سرم مشاهده شده در گروه کنترل منفی مرتبط با سطوح بالای ابقای ماده معدنی در این گروه باشد.

از چهار هفتگی به موازات افزایش محدوده سطحی متراکم تر نمیشود.

کلسیم، فسفر و آکالین فسفاتاز سرم

جدول ۷ تاثیر جیره های آزمایشی بر غلظت کلسیم و فسفر سرم و فعالیت آنزیم آکالین فسفاتاز را نشان میدهد. در سن ۲۱ روزگی غلظت فسفر سرم در گروه کنترل منفی در مقایسه با گروه کنترل مثبت بیشتر بود ($P < 0.05$) در حالیکه هیچگونه اثر معنی داری از تیمارهای آزمایشی بر غلظت کلسیم سرم و فعالیت آکالین فسفاتاز در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی وجود نداشت. مشاهده شده است که غلظت کلسیم جیره قابلیت دسترسی فسفر و فعالیت آنزیم فیتاز را تحت تاثیر قرار میدهد (۲۷ و ۳۶). در آزمایش فعلی سطوح بالاتر غلظت فسفر سرم در گروه کنترل منفی در مقایسه با گروه کنترل مثبت در تطابق با ابقای بیشتر فسفر در سن ۲۱ روزگی میباشد. این امکان وجود دارد

نتیجه گیری

نتایج این آزمایش نشان میدهد که ابقای کلسیم و فسفر بطور معنی داری به وسیله سطح کلسیم جیره تحت تاثیر قرار میگیرد. مکمل سازی عصاره هیدروالکلی ریشه بوزیدان در جیره جوجه های گوشتی میتواند کلسیمی شدن استخوان را بهبود بخشد و اثرات بطور معنی داری با حضور $D_3(OH)_2$ 1, 25 در جیره در سن ۲۱ روزگی برجسته میباشد. علاوه بر این، مکمل سازی جیره با بوزیدان باعث بهبود معنی داری در نیروی شکاف استخوان و سختی آن میگردد.

منابع

- 1-AOAC International. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. (Gaithersburg, MD, AOAC Int.).
- 2-Bar, A., J. Rosenberg, and S. Hurwitz. 1982. Plasma and intestinal content of 1,25 dihydroxyvitamin D_3 in calcium or phosphorus restricted birds. Current Advances in Skeletogenesis. Proceeding of the 5th Workshop on Calcified Tissues, pp. 197-200 [SILBERMAN, M. & SLAVKIN, HC. editors]. Amsterdam: Elsevier Science Publishing.
- 3-Blahos, J., A. D. Care, and B. S. Sommerville. 1987. Effect of low calcium and low phosphorus diets on duodenal and ileal absorption of phosphate in chick. Endocrinologia Experimentalis, 21: 59-64.
- 4-Cheng, Y. H., J. P. Goff, J. L. Sell, M. E. Dalloroso, S. Gil, S. E. Pawlak, and R. L. Horst. 2004. Utilizing *Solanum glaucophyllum* alone or with phytase to improve Phosphorus Utilization in Broilers. Poultry Science, 83: 406-413.
- 5-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.
- 6-Edwards, H. M. Jr. 1990. Efficacy of several vitamin D compounds in the prevention of tibial dyschondroplasia in broiler chickens. Journal of Nutrition, 120: 1054-1061.
- 7-Edwards, H. M. and J. R. Veltmann. 1983. The Role of Calcium and Phosphorus in the Etiology of tibial dyschondroplasia in young chicks. Journal of Nutrition, 113: 1568-1575.
- 8-Eyre, D. 1987. Collagen cross-linking amino acids. Methods Enzymol, 144: 115-139.
- 9-Eyre, D. R. 1996. Biochemical markers of bone turnover. Pages 114-118 in: Primers on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, Favus, M. J., Lippincot-Raven, ed. New York, NY.
- 10-Fox, J. and A. D. Care. 1978. Stimulation of duodenal and ileal absorption of phosphate in the chick by low-calcium and low-phosphorus diets. Calcified Tissues Research, 26: 243-245.
- 11-Fox, J., N. W. Bunnett, A. R. Farrar, and A. D. Care. 1981. Stimulation by low phosphorus and low calcium diets of duodenal absorption of phosphate in betamethasone treated chicks. Journal of Endocrinology, 88: 147-153.
- 12-Friedlander, E. J., H. L. Henry, and A. W. Norman. 1977. Studies on the action of calciferol: Effect of dietary calcium and phosphorus on the relationship between the 25-hydroxylation D_3 -1-hydroxylase and production of chick intestinal calcium binding protein. Journal of Biological Chemistry, 252: 8677-8683.
- 13-Frost, H. M. 1994. Perspectives: a vital biomechanical model of synovial joint. Anat. Rec, 240: 1-18.
- 14-Kenney, A. D. 1976. Vitamin D metabolism: Physiological regulation in egg-laying Japanese quail. Am. J. Physiol, 230: 1606-1616.
- 15-Khan, S., F. Malik, K. A. Suri, and J. Singh. 2009. Molecular insight into the immune up-regulatory properties of the leaf extract of Ashwagandha and identification of the Th1 immunostimulatory chemical entity. Vaccine, 27: 6080-6087.
- 16-Kim, W. K., S. A. Bloomfield, and S. C. Ricke. 2011. Effects of age, vitamin D_3 , and fructooligosaccharides on bone growth and skeletal integrity of broiler chicks. Poultry Science, 83: 406-413.
- 17-Kjaer, M. 2004. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. Physiol. Rev, 84: 649-698.
- 18-Knott, L. and A. J. Bailey. 1998. Collagen cross-links in mineralizing tissues: a review of their chemistry, function,

- and clinical relevance. *Bone*, 22:181–187.
- 19-Liel, Y., S. Shany, P. Smirnoff, and B. Schwartz, 1999. Estrogen increases 1, 25-dihydroxyvitamin D receptors expression and bioresponse in the rat duodenal mucosa. *Endocrinology*, 140: 280-285.
- 20-Mitchell, R. D. and H. M. JR. Edwards. 1996. Additive effects of 1, 25-Dihydroxycholecalciferol and phytase on phytate phosphorus utilization and related parameters in broiler chickens. *Poultry Science*, 75: 111-119.
- 21-Montecuccoli, G., A. Bar, G. Risenfeld, and S. Hurwitz. 1977. The response of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase activity, intestinal calcium absorption, and calcium-binding protein to phosphate deficiency in chicks. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 57A: 331–334.
- 22-Morrissey, R. L. and R. H. Wasserman. 1971. Calcium absorption and calcium-binding protein in chicks on differing calcium and phosphorus intakes. *American Journal of Physiology*, 220: 1509–1515.
- 23-Nagareddy, P. R. and M. Lakshmana. 2006. *Withania somnifera* improves bone calcification in calcium-deficient ovariectomized rats. *Pharmacy and pharmacology*, 58: 1–7.
- 24-Newman S., and S. Leeson. 1999. The effect of dietary supplementation with 1,25-dihydroxycholecalciferol or vitamin C on the characteristics of the tibia of older laying hens. *Poultry Science*, 78: 85–90.
- 25-Pike, J. W., E. Spanos, K. W. Colston, I. MacIntyre, and M. R. Haussler. 1978. Influence of estrogen on renal vitamin D hydroxylases and serum 1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ in chicks. *American Journal of Physiology*, 235: E338- E343.
- 26-Plumstead, P. W., A. B. Leytem, R. O. Maguire, J. W. Spears, P. Kwanyuen, and J. Brake. 2008. Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 1. Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus. *Poultry science*, 87: 449-458.
- 27-Qian, H., E. T. Kornegay, and D. M. Denbow. 1996. Phosphorus equivalence of microbial phytase in turkey diets as influenced by Ca:P ratios and P levels. *Poultry Science*, 75: 69–81.
- 28-Rasool, M. and P. Varalakshmi. 2007. Protective effect of *Withania somnifera* root powder in relation to lipid peroxidation, antioxidant status, glycoproteins and bone collagen on adjuvant-induced arthritis in rats. *Fundamental & clinical pharmacology*, 21: 157-164.
- 29-Reddy, G. S. and K. Y. Tserng. 1989. Calcitroic acid, end product of renal metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D $_3$ through C-24 oxidation pathway. *Biochemistry*, 28: 1763–1769.
- 30-Reddy, N. P., M. Lakshmana, and U. V. Udupa. 2004. Antiosteoporotic activity of OST-6(Osteocare), a herbomineral preparation in calcium deficient ovariectomized rats. *Phytother Res*, 18: 25-29.
- 31-Rege, N. N., H. M. Nazareth, A. A. Issac, S. M. Karandikar, and S. A. Dahanukar. 1989. Immunotherapeutic modulation of intraperitoneal adhesions by *Asparagus racemosus*. *J. Postgraduate Med*, 35: 199-203.
- 32-Robins, S. P. 1988. Functional properties of collagen and elastin. *Clin. Rheumatol*, 2: 1-36.
- 33-Ross. 2007. Ross 308 Broiler: Nutrition Specification. Aviagen, Scotland, UK. Accessed May 25, 2009. <http://www.aviagen.com/>.
- 34-Sandberg, A. S., T. Larsen, and B. Sandstrom. 1993. High dietary calcium level decreases colonic phytate degradation in pigs fed a rapeseed diet. *Journal of Nutrition*, 123: 559-566.
- 35-SAS .2003. SAS 9.1, (Cary, NC, SAS Institute Inc).
- 36-Sebastian, S., S. P. Touchburn, E. R. Chavez, and P. C. Lague. 1996b. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chickens. *Poultry Science*, 75: 1516–1523.
- 37-Soares, J. H. Jr. 1984. Calcium metabolism and its control-Areview. *Poultry Science*, 63: 2075–2083.
- 38-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.
- 39-Talaty, P. N., M. N. Katanbaf, and P. Y. Hester. 2009. Life cycle changes in bone mineralization and bone size traits of commercial broilers. *Poultry Science*, 88: 1070–1077.
- 40-Tanaka, Y., L. Castillo, M. J. Wineland, and H. F. DeLuca. 1978. Synergistic effect of progesterone, testosterone and estradiol in the stimulation of chick renal 25-hydroxyvitaminD $_3$ -1-hydroxylase. *Endocrinology*, 103: 2035–2039.
- 41-Williams, C. H., D. J. David, and O. Lismoa. 1962. The determination of chromic oxide in fecal samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci*, 59: 381–389.
- 42-Wilson, S., and B. H. Thorp. 1998. Estrogen and cancellous bone loss in the fowl. *Calcif. Tissue Int*, 62: 506–511.
- 43-Yan, F., R. 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.