

# Wpływ fitazy i kalcytriolu na cechy wytrzymałościowe kości udowych kurcząt brojlerów

IWONA PUZIO, MAREK BIEŃKO, RADOSŁAW RADZKI,  
MAŁGORZATA KAPICA, RAFAŁ FILIP\*

Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin,  
\*Pracownia Chorób Metabolicznych i Degeneracyjnych Tkanki Kostnej Instytutu Medycyny Wsi,  
ul. Jaczewskiego 2, 20-950 Lublin

Puzio I., Bieńko M., Radzki R., Kapica M., Filip R.

## Influence of phytase and calcitriol on mechanical parameters of femora in broiler chickens

### Summary

The purpose of the present study was to estimate the effects of microbial phytase administered to an adequate vitamin D<sub>3</sub> diet and combined supplementation of phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol to the diet without vitamin D<sub>3</sub> on the mechanical properties of broiler chicken bones.

The birds were divided into 3 groups: a control fed on an adequate vitamin D<sub>3</sub> diet (starter - 2500 IU, grower - 2000 IU/kg feed), experimental group I fed on a vitamin D<sub>3</sub> diet supplemented by 750PU phytase, and experimental group II fed on a diet without vitamin D<sub>3</sub> but supplemented by 750PU phytase and 3 mg 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (calcitriol). On the 42<sup>nd</sup>-day-of-life 15 birds from each treatment were slaughtered and their femora were isolated for feature analysis. Bone mass and length were measured. The three-point bending test was used to determine physical bone parameters: maximum strength and maximum elastic force. The geometrical parameters: cross-sectional area, second moment of inertia, mean relative wall thickness and cortical index, were also measured. The obtained results indicate that an addition of 750PU/kg of phytase to the adequate vitamin D<sub>3</sub> diet did not have a significant effect on the strength of the bones. A combined supplementation of 3 µg of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 750 PU of phytase improved the strength of the femur. The addition of calcitriol and phytase to the diet without vitamin D<sub>3</sub> had more effect on the mechanical properties of the femur than an adequate level of vitamin D<sub>3</sub>.

**Keywords:** vitamin D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, phytase, bone, chickens

Niedobór cholekalciferolu i jego aktywnych metabolitów u młodych ptaków powoduje obniżenie tempa wzrostu organizmu, zmiany w syntezie macierzy organicznej i zmniejszenie sieciowania kolagenu oraz zaburzenia mineralizacji, co w konsekwencji wpływa na wytrzymałość mechaniczną kości. U dorosłego drobiu wywołuje natomiast demineralizację kości prowadzącą do osteomalacji i patologicznych złamań. U niosek dochodzi do zmniejszania wylęgowości, nieśności oraz spadku wytrzymałości skorupki jaja, która staje się cienka i łamliwa (2, 3, 5, 13, 17). Dlatego też do zapewnienia optymalnego wzrostu kości i ich metabolizmu mineralnego ważne jest odpowiednie dostarczanie cholekalciferolu w paszy, co jest koniecznością warunkującą opłacalność produkcji. Niektórzy badacze uważają jednak, że mimo to u młodych, szybko rosnących kurcząt nie dochodzi do syntezy odpowiedniej ilości 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, która zapewniałaby poziom resorpcji Ca i P, warunkujący prawidłowy rozwój i wzrost kości (2, 6, 18).

Poziom witaminy D<sub>3</sub> w paszy warunkuje m.in. trawienie i retencję fosforu. Zawartość P w paszy jest

związana z tendencją do występowania u kurcząt dyschondroplazji piszczelowej (15). W paszach pochodzenia roślinnego fosfor występuje głównie w postaci soli kwasu fitynowego, w niewielkim stopniu wykorzystywanych przez ptaki i zwierzęta monogastryczne (1, 9, 10, 14). Dodatek do paszy fitazy – enzymu hydrolizującego wiązania estrowe fitynianów – redukuje zaburzenia funkcji kończyn i śmiertelność kurcząt na diecie deficytowej pod względem fosforu, powoduje wzrost parametrów wytrzymałościowych kości i gęstości mineralnej kości (12, 16). Niektóre badania wskazują, że witamina D<sub>3</sub> wpływa na potencjalną hydrolizę fitynianów, warunkując zwiększoną retencję fosforu fitynowego i to zarówno w obecności dodatku fitazy, jak też jej braku (4, 8, 11).

Podjęte badania miały na celu określenie wpływu dodatku mikrobiologicznej fitazy do paszy o odpowiedniej zawartości witaminy D<sub>3</sub> oraz łącznego stosowania dodatku fitazy i 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> do paszy nie zawierającej witaminy D<sub>3</sub> przez okres pierwszych 42 dni życia na wzrost i rozwój układu kostnego kurcząt brojlerów.

## Material i metody

Badania zostały przeprowadzone na 90 kurczętach brojlerach utrzymywanych w klatkach, w standardowych warunkach zoohigienicznych (temperatura, światło) ze stałym dostępem do wody i paszy. Czas doświadczenia obejmował okres od 1. do 42. dnia życia.

Jednodniowe kurczęta zaliczono w sposób losowy do 3 grup (kontrolnej i 2 doświadczalnych) liczących po 30 osobników. Do 21. dnia życia ptaki żywiono mieszankami starter (Ca – 0,79%, Pp – 0,38%; Ca : Pp – 2,08), zaś od 22. do 42. – mieszankami grower (Ca – 0,70%, Pp – 0,34%, Ca : Pp – 2,06). Grupa kontrolna K otrzymywała paszę z dodatkiem witaminy D<sub>3</sub> w ilości zgodnej z normami żywienia kurcząt brojlerów (starter – 2500 IU/kg, grower 2000 IU/kg paszy), grupa doświadczalna I żywiona była paszą o odpowiedniej zawartości witaminy D<sub>3</sub> wzbogaconą dodatkiem fitazy w ilości 750 PU/kg, zaś grupa II otrzymywała paszę bez witaminy D<sub>3</sub> suplementowaną natomiast fitazą w ilości 750 PTU/kg oraz 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (kalcitriol) w ilości 3 µg/kg paszy.

W 42. dniu życia 15 kurcząt z każdej grupy (F = 8, M = 7), o masie ciała najbardziej zbliżonej do średniej dla danej płci, poddano ubojowi. Po uboju izolowano kości udowe jako reprezentatywne w odniesieniu do badań układu kostnego kurcząt. Ocenie poddana została ich masa (z dokładnością do 0,1 g) i długość (z dokładnością do 1 mm). Z wykorzystaniem trójpunktowego testu zginania (Instron 4302, 1 kN, 10 mm/min.) oznaczone zostały cechy wytrzymałościowe kości na podstawie pomiarów: wartości siły maksymalnej, przy której następuje dezintegracja struktury kości oraz wartości siły w punkcie przekraczania granicy sprężystości. Charakterystyka cech wytrzymałościowych została przeprowadzona na podstawie oceny wartości bezwzględnych oraz przeliczenia ich wartości na masę poddanych badaniom kości i masę ciała.

Przeprowadzone zostały również badania morfometryczne kości, które obejmowały ocenę:

– cech geometrycznych: wtórny moment bezwładności w odniesieniu do osi poziomej  $I_x = 3,14 (B^3H - b^3h)/64$ , pole powierzchni przekroju poprzecznego  $A = 3,14 (HB - hb)/4$ , średnią względną grubość ścian  $MRWT = [(B - b)/b + (H - h)/h]/2$ .

– wskaźników korowych kości: grubość warstwy korowej  $GWK = H - h$ , wskaźnik korowy  $WK = (H - h)/H$ , powierzchnię korową  $PK = H^2 - h^2$ , wskaźnik powierzchni korowej  $WPK = (H^2 - h^2)/H^2$ .

Oznaczenia literowe H, h, B i b odpowiadają: H – horyzontalna średnica zewnętrzna, h – horyzontalna średnica wewnętrzna, B – wertykalna średnica zewnętrzna, b – wertykalna średnica wewnętrzna (7).

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej, określając różnice między grupami z wykorzystaniem testu t-Studenta przy poziomie istotności  $p \leq 0,05$ .

## Wyniki i omówienie

Dodatek fitazy do paszy o prawidłowej zawartości witaminy D<sub>3</sub>, zgodnej z normami żywienia zwierząt, powodował wzrost masy ciała kurcząt, przy czym istotne statystycznie różnice stwierdzono w odniesieniu do grupy otrzymującej paszę suplementowaną fitazą i kalcitriolem (tab. 1). Masa ciała kurcząt otrzymujących paszę bez witaminy D<sub>3</sub> z dodatkiem enzymu i 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> kształtowała się na poziomie zbliżonym do grupy kontrolnej (tab. 1).

Nie stwierdzono wpływu zastosowanego żywienia na masę i długość poddanych badaniom kości udowych. We wszystkich poddanych ocenie grupach wartości tych parametrów utrzymywały się na zbliżonym poziomie (tab. 1).

Różnice w wartościach bezwzględnych siły maksymalnej i siły sprężystości, jak również wartości tych parametrów w odniesieniu do masy kości i masy ciała nie wykazywały istotnych statystycznie różnic między grupą kontrolną a grupą otrzymującą paszę z dodatkiem enzymu (tab. 2). Kości udowe kurcząt żywionych paszą bez witaminy D<sub>3</sub> wzbogaconą w kalcitriol i fitazę cechowały się najwyższymi potwierdzonymi statystycznie wartościami cech wytrzymałościowych (tab. 2). Wartości bezwzględne siły maksymalnej oraz siły sprężystości kości kurcząt otrzymujących jednoczesny dodatek fitazy i kalcitriolu były większe odpowiednio o 19,9% i 13,1% w odniesieniu do grupy kontrolnej i o 9,2% i 6,7% niż w grupie otrzymującej dodatek fitazy. Wzrost wytrzymałości kości na działanie

sił odkształcających w wyniku zastosowania w żywieniu kurcząt paszy nie zawierającej witaminy D<sub>3</sub>, ale z dodatkiem aktywnego jej metabolitu 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> oraz fitazy został jednoznacznie potwierdzony przy ocenie przypadających na masę kości i masę ciała wartości siły maksymalnej i siły sprężystości. Przy zbliżonej masie kości udowych we wszystkich gru-

**Tab. 1. Masa ciała (g), masa (g) i długość (mm) kości udowych w 42. dniu życia kurcząt (n = 15,  $\bar{x} \pm s$ )**

Grupa	Masa ciała (g)	Masa kości (g)	Długość kości (mm)
K	2029 ± 59	12,9 ± 0,54	80 ± 0,83
I	2190 ± 61 <sup>a</sup>	13,7 ± 0,56	81 ± 0,85
II	2017 ± 48 <sup>b</sup>	13,2 ± 0,50	80 ± 0,63

Objaśnienia: a, b – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy  $p \leq 0,05$

**Tab. 2. Wartości siły maksymalnej i siły sprężystości kości udowych (N, N/g kości, N/kg masy ciała × 1000) w 42. dniu życia kurcząt (n = 15,  $\bar{x} \pm s$ )**

Grupa	Siła maksymalna			Sprężystość		
	N	N/g kości	N × 1000/kg m.c.	N	N/g kości	N × 1000/kg m.c.
K	266 ± 14 <sup>a</sup>	20,3 ± 0,95 <sup>a</sup>	12,8 ± 0,59 <sup>a</sup>	182 ± 8,1 <sup>a</sup>	14,2 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,9 ± 0,31 <sup>a</sup>
I	292 ± 17 <sup>a</sup>	21,2 ± 0,63 <sup>a</sup>	13,2 ± 0,46 <sup>a</sup>	193 ± 8,7	14,2 ± 0,5 <sup>a</sup>	8,8 ± 0,22 <sup>a</sup>
II	319 ± 13 <sup>b</sup>	24,2 ± 0,76 <sup>b</sup>	15,6 ± 0,63 <sup>b</sup>	206 ± 7,5 <sup>b</sup>	16,4 ± 0,6 <sup>a</sup>	10,6 ± 0,42 <sup>b</sup>

Objaśnienia: jak w tab. 1.

pach wartości siły maksymalnej i siły sprężystości przypadające na 1 gram masy kości w grupie otrzymującej dodatek fitazy i kalcitriolu były odpowiednio większe o 19,2% i 15,5% w porównaniu z grupą kontrolną i o 14,1% i 15,5% w porównaniu z grupą żywioną paszą z dodatkiem fitazy. Przy utrzymującej się na zbliżonym poziomie masie ciała kurcząt grupy kontrolnej i doświadczalnej II, wartości parametrów fizycznych przypadających na jeden kilogram masy ciała u kurcząt grupy II były większe o 21,8% (siła maksymalna) i 19,1% (siła sprężystości). Wartości siły maksymalnej i siły w punkcie przekraczania granicy sprężystości przypadające na kilogram masy ciała u kurcząt grupy I były natomiast o 18,2% i 20,5% mniejsze niż w grupie II otrzymującej paszę bez witaminy D<sub>3</sub>, ale z kalcitriolem i fitazą.

Analiza cech geometrycznych wykazała, że najwyższymi potwierdzonymi statystycznie wartościami pola powierzchni przekroju poprzecznego i średniej względnej grubości ścian cechowały się kości kurcząt otrzymujących jednoczesny dodatek enzymu i kalcitriolu. Nie stwierdzono natomiast istotnych statystycznie różnic w odniesieniu do wartości wtórnego momentu bezwładności (tab. 3). Zastosowanie w żywieniu kurcząt paszy z fitazą oraz paszy wolnej od witaminy D<sub>3</sub>, ale wzbogaconej fitazą i kalcitriolem w niewielkim stopniu wpłynęło na wskaźniki korowe kości. Najwyższe wartości tych parametrów, podobnie jak cech wytrzymałościowych, stwierdzono u kurcząt grupy II, ale jedynie w odniesieniu do grubości warstwy korowej analizowanych kości stwierdzono istnienie statystycznej istotności (tab. 3).

Reasumując należy stwierdzić, że zastosowanie w żywieniu kurcząt brojlerów paszy o prawidłowej zawartości witaminy D<sub>3</sub> z dodatkiem fitazy w ilości 750 PU/kg paszy nie wpłynęło w istotnym stopniu na wytrzymałość fizyczną kości. Natomiast stosowanie równoczesnego dodatku fitazy w ilości 750 PU/kg i 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> w ilości 3 µg/kg do paszy nie zawierającej witaminy D<sub>3</sub> przyczyniło się do wzrostu cech wytrzymałościowych kości udowych kurcząt brojlerów. Dodatek fitazy i kalcitriolu do paszy pozbawionej witaminy D<sub>3</sub> warunkował znacznie większą wytrzymałość kości udowych kurcząt niż żywienie mieszanką o adekwatnej zawartości witaminy D<sub>3</sub>.

Tab. 3. Wartości parametrów geometrycznych i wskaźników korowych kości udowych w 42. dniu życia kurcząt (n = 15,  $\bar{x} \pm s$ )

Grupa	Parametry geometryczne			Wskaźniki korowe			
	Ix (mm <sup>4</sup> )	A (mm <sup>2</sup> )	MRWT	GWK (mm)	PK (mm <sup>2</sup> )	WK (%)	WPK (%)
K	287 ± 32	38 ± 2,1 <sup>a</sup>	0,50 ± 0,02 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,08 <sup>a</sup>	50,7 ± 1,74	32,2 ± 0,81	53,9 ± 1,13
I	355 ± 32	42 ± 2,3	0,54 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,14	54,8 ± 3,14	32,9 ± 1,02	54,8 ± 1,38
II	347 ± 35	45 ± 2,4 <sup>b</sup>	0,64 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,6 ± 0,23 <sup>b</sup>	58,5 ± 3,77	36,6 ± 2,05	59,3 ± 2,57

Objaśnienia: jak w tab. 1.

hydroxycholecalciferol, protein, and synthetic zeolite. Poultry Sci. 1992, 71, 2041-2055.

- Edwards H. M.: 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation increases natural phytate phosphorus utilization in chickens. J. Nutr. 1993, 123, 567-577.
- Edwards H. M.: Nutrition and skeletal problems in poultry, Poultry Sci. 2000, 79, 1018-1023.
- Elliot M. A., Edwards H. M.: Effect of genetic strain, calcium and feed withdrawal on growth, tibial dyschondroplasia, plasma 1,25-dihydroxycholecalciferol, and plasma 25-hydroxycholecalciferol in sixteen-day-old chickens. Poultry Sci. 1994, 73, 509-519.
- Ferretti J. L., Capozza R. F., Mondelo N.: Interrelationships between densitometric, geometric, and mechanical properties of rat femora: inferences concerning mechanical regulation of bone modeling. J. Bone Min. Res. 1993, 8, 1389-1396.
- Mitchell R. D., Edwards H. M.: Effects of phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol on phytate utilization and quantitative requirement for calcium and phosphorus in young chickens. Poultry Sci. 1996, 75, 95-110.
- Nelson T. S., Ferrara L. W., Storer N. L.: Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. Poultry Sci. 1968, 47, 1372-1374.
- O'Dell B. L., de Boland A. R., Koirtzoyhann S. R.: Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. J. Agric. Food Chem. 1972, 20, 718-721.
- Qian H., Kornegay E. T., Denbow D. M.: Utilization of phytate phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol, and the calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. Poultry Sci. 1997, 76, 37-46.
- Puzio I.: Wpływ stosowania fitazy jako dodatku do diety na wzrost, rozwój i mineralizację układu kostnego kurcząt brojlerów. Medycyna Wet. 1999, 55, 627-630.
- Rath N. C., Huff G. R., Huff W. E., Balog J. M.: Factor regulating bone maturity and strength. Poultry Sci. 2000, 79, 1024-1032.
- Ravindran V., Ravindran G., Sivalogan S.: Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. Food Chem. 1994, 50, 113-136.
- Rennie J. S., Thorp B. H., Whitehead C. C.: The effect of dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol in preventing tibial dyschondroplasia in broilers fed on diets imbalanced in calcium and phosphorus. Br. J. Nutr. 1993, 69, 809-816.
- Sohail S. S., Roland D. A.: Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to six weeks of age. Poultry Sci. 1999, 78, 550-559.
- Whitehead R. H., Fleming: Osteoporosis in cage layers. Poultry Sci. 2000, 79, 1033-1041.
- Xu T., Leach R. M., Hollis B., Soares J. H.: Evidence of increased cholecalciferol requirement in chicks with tibial dyschondroplasia. Poultry Sci. 1997, 76, 47-53.

Adres autora: dr Iwona Puzio, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: puzio@ursus.ar.lublin.pl

**STEIN F. J., GELLER S. C., CARTER J. C.: Ocena migracji mikroczipów u koni, małp i mułów. (Evaluation of microchip migration in horses, donkeys, and mules).** J. Amer. Vet. Med. Ass. 223, 1316-1310, 2003 (9)

Badania dotyczyły migracji mikroczipów stosowanych do identyfikacji zwierząt. Grupę I stanowiło 20 koni z mikroczipami wszczepionymi w *ligamentum nuchae*, u których migrację badano w latach 1996-2000. Grupę II stanowiło 16 koni, 12 osłów i 5 mułów, u których badano wędrówkę mikroczipów w okresie 2-67 dni po ich implantacji. Mikroczipy o wymiarach 12 × 2,1 mm i masie 0,06 g transmitowały fale radiowe o długości fali 125 kHz. Mikroczipy wszczepione do *ligamentum nuchae* po lewej stronie szyi w okresie 4 lat nie przemieszczały się z miejsca implantacji. Zwierzęta można było zidentyfikować na podstawie wysyłanych sygnałów radiowych. Identyfikacja zwierząt była możliwa zaraz po wykonaniu implantu.

## Piśmiennictwo

- Bredford M. R.: Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits. Anim. Feed Sci. Tech. 2000, 86, 1-13.
- Edwards H. M.: Efficacy of several vitamin D compounds in the prevention of tibial dyschondroplasia in broiler chicken. J. Nutr. 1990, 120, 1054-1061.
- Edwards H. M., Elliot M. A., Soonchararinying S.: Effect of dietary calcium on tibial dyschondroplasia. Interaction with light, cholecalciferol, 1,25-di-