

Etlık Piliç (Broyler) Rasyonlarına İki Farklı Dozda 25-OH D₃ (HyD) Eklenmesinin Kemik Gelişimi Üzerine Etkisi

Aydın GÜREL^{1*}, Hasret YARDİBİ², Hande ÖZYOĞURTÇU¹,
M. Emre YARDİBİ³, Gülhan T. HOŞTÜRK²

¹İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul
²İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul
³Novus Türkiye ve Ortadoğu Bölge Müdürlüğü, Çekmeköy, İstanbul

*Sorumlu Yazar: Aydın GÜREL İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul
e-posta: agurel@istanbul.edu.tr

Geliş Tarihi / Received: 28.11.2011

ÖZET

Broyler (Etlık piliçlerde) ticari amaçlı olarak et verimini yükseltmek amacıyla yapılan uygulamalarda et verimi hızla artarken, kemik gelişimi buna paralel olarak hızlı olmamaktadır. Bu nedenle hayvanın yaşamının belli bir döneminden sonra, bacak kemiklerinde hızlı artan vücut ağırlığına bağlı sorunlar çıkmaktadır. Araştırmada, kanatlıların daha yüksek yararlanabileceği vitamin D'nin bir formu olan 25-OHD₃'ün etlik piliçlerde kemik gelişimindeki etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada günlük yaşta karışık cinsiyette 210 Ross 308 etlik civciv kullandı. Civcivler ilk gün rastlantısal seçme yöntemiyle biri kontrol olan ve 30'ar civcivden oluşan 7 ayrı gruba ayrıldı, 1. gruba, sadece standart ticari broyler yemi verildi ve bu grup kontrol grubunu oluşturdu. Diğer 6 gruba da, standart ticari broyler yemine üç farklı dozda vitamin D₃ ve iki farklı doz ticari ismi HyD olan, Vitamin D₃'ün metaboliti 25-OHD₃ (25 dihidroksikole kalsiferol) eklenerek 42 gün süre verildi. 42. günün sonunda hayvanlar ötenazi edildi. Kesimler sırasında kan ve daha sonra iki bacağından kaslar sıyrılıp her gruptan 15 hayvanın femur ve tibiaları alındı ve bunlar tespit amacıyla %10'luk formol saline solüsyonuna konuldu, her hayvana ait femur ve tibialardan birer adedi kemik direnç testlerinde kullanıldı, diğerleri ise tespitten sonra, dekalsifikasyon amacıyla %10'luk nitrik asit solüsyonuna alındı. Sonra her hayvana ait birer femur ve tibialardan özellikle büyüme plakları bölgesini içine alacak şekilde küçük parçalar alındı bunlar rutin işlemlerden geçirilerek parafin bloklara gömüldü ve her bloktan rotary mikrotom ile 4-5 mikro inceliginde 2-3 kesit alındı ve bunlar H.E ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Alınan kanlardan serumlar ayrıldı ve bunlarda serum Ca, P ve 25-OHD₃ düzeylerine bakıldı. Elde edilen mikroskopik sonuçlara göre, 3. ve 7. gruplarda kontrol grubuna göre önemli bir fark görülmezken, özellikle 2. grup ve 4. grupta daha belirgin olmak üzere 5. ve 6. gruplarda da kontrol grubuna göre olumlu yönde farklılıklar saptanmıştır. Kemik dayanıklılığı ve sağlamlığı sonuçlarına göre, kontrol gruplarına göre istatistiksel yönden önemli bir fark gözlenmezken yemlere HyD eklenen gruplarda her iki parametre yönünden önemli gelişme olduğu saptandı. Elde edilen bulgulara göre; HyD'nin iki farklı dozunun, Vit D₃ eklemeyen tek başına kemik gelişiminde önemli bir katkı sağlamadığı, fakat 2500- 5000 IU/D₃ içeren yemlere 34 ve özellikle 69 mg/ton HyD (25-OHD₃) eklenmesinin gelişimde ve buna paralel olarak kemik sağlamlığında katkısı olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Broyler, kemik gelişimi, Vit. D₃

ABSTRACT

**THE ADDITION OF TWO DIFFERENT DOSAGES OF 25-OH D₃ TO BROILER FEEDS
AND ITS IMPACT ON BONE DEVELOPMENT**

Vitamin D is a metabolite which takes place especially in physiologic and metabolic events of poultry. In the broiler industry, applications are improving meat efficiency however the bone development is not improving respectively. This situation is the main reason of the long bones problems seen in broiler chickens after certain ages. The aim of this investigation was to study the effects of 25-OHD₃ which is a form of vitamin D, on the bone development of broilers. Two hundred ten day-old meat-type chicks (308 Ross) were used. On the first day, the chicks were randomly separated in 7 groups. One of them was selected as the control group; all groups were included 30 chicks. The control groups were fed by standard commercial food. The other groups were fed by standard commercial food with three different doses of vitamin D₃ and two different doses of 25-OHD₃, metabolite of vitamin D₃ which the commercial name is HyD. After the 42 days euthanasia was applied to the birds. Blood samples were taken at 21. and 42. days from hens. During the cutting process muscles were separated from the legs. The left and the right femurs and tibiatorsi were collected from 15 animals each of the groups and fixed in 10 percent formol saline solution. One of the femurs and tibiatorsi of each animal were used for bone strength tests. The others were kept in solution during 3 days and then they were transferred in to the 10 percent nitric acid solution for decalcification. The one femur and tibiatorsi of the decalcificated animals were removed and cut in half to prepare the transverse and sagittal sections. The routine processes were applied to those preparates and they were ambedded in parafin wax. 2 or 3 section of 4-5 micrometres were cutted from each parafin block and stained with hematocsylen eozine. The samples were investigated under the light microscope. In the microscopic evaluations, the criters indicating the growth plates, the bone density, the trabecules strength lesions were determined +1, +2, +3 in order to harmful to fine. The mean value of groups were compared to the control groups. The calcium and phosphor levels were determined spectrophotometrically. 25-OHD₃ concentrations were determined with ELISA. The difference in 25-OHD₃ levels between the control and the other groups was found statistically important significant. The differences between 2nd and 4th groups and 5th and 6th groups were found statistically by microscopical evaluations. In the HyD groups, the bone strength tests results were found statistically important than the others. According to the results of microscopic observations and the bone strength tests, the two different dosages of HyD without adding Vit D₃ do not contribute on bone development all by itself; however, it is concluded that the supplementation of 34 and especially the 69 mg HyD to the feeds which contain 2500 - 5000 IU/D₃ effect the bone development and the strength.

Key Words: Broiler, osteogenesis, Vit. D₃

Giriş

Broyler işletmelerinde bacak bozukluklarına bağlı iskelet sorunları son yıllarda önemli ekonomik kayıplar oluşturmaktadır. Bacaklardaki bozukluklara bağlı en sık gelişen bulgu topallıktır. Topallık ağrı veya biyomedikal fonksiyon bozuklukları sonucu gelişir (Crespo ve Shivaprasad, 2008; Frittis ve Waldroup, 2003; Morris, 1993; Pattison, 1992; Thorp, 2001). Bacak zayıflığı olarak da bilinen bacak kemik problemleri özellikle broylerde bir sorun olmakta ve hayvanların yeme ulaşamamasına bağlı olarak hayvanlarda gelişim bozuklukları, açlık ve dehidrasyona bağlı mortalitede artış, karkas kalitesinde bozulma, ıskarta hayvan sayısında ve kesimhaneye sevkiyat sırasında ölüm sayısında artış gibi önemli ekonomik kayıplara neden olur (Julian, 1998; Pattison, 1992; Randall ve Reece, 1996; Ridell, 1981).

Bu konuda Amerika'da yapılan çalışmalarda broylerlerde bacak problemlerine ilgili ekonomik kaybın 80-120 milyon dolar civarında olduğu bildirilmiştir (Edwards, 2000; McNamee ve Smyth, 2000; Ridell, 1981).

Etlik piliçlerde ticari amaçlı olarak et verimini yükseltmek amacıyla yapılan uygulamalarda et verimi hızla artarken, kemik gelişimi buna paralel olarak hızlı olmamaktadır. Bu nedenle hayvanın yaşamının belli bir döneminden sonra, bacak kemiklerinde hızlı artan vücut ağırlığına bağlı sorunlar oluşmaktadır (Mcnamee ve ark., 1998; Mcnamee ve ark., 1999; Morris, 1993; Reiland, 1978; Ridell, 1997). Vitamin D kanatlılarda özellikle kemik gelişimi ile ilgili önemli fizyolojik ve metabolik olaylarda yer alan bir metabolittir (Calobatta, 1999; Crespo ve Shivaprasad, 2008; Fleming, 2008; Thorp ve Waddington, 1997). Gelişmiş ve hızlı büyüyen

ırkların bir sorunu olarak ortaya çıkan iskelet sistemi ile ilgili bozuklukların çözümü olarak vitamin D₃ metabolitlerinin faydalı olacağı düşünülmektedir. Vit. D₃ (cholecalciferol) iskelet formasyonu, kemik gelişimi, Ca/P optimizasyonu ve büyüme için gerekli bir vitamindir (Bar ve ark., 2003; Calobatta, 1999; Pattison, 1992; Thorp ve Waddington, 1997). Kanatlı yemlerine yeterli miktarda Vit. D₃ katılıyor olmakla beraber saha şartlarında zaman zaman raşitizm, tibial kondroplazi gibi iskelet sorunları, kesimhanede kırık vb. bağlı kayıplar sıklıkla problem olarak karşımıza çıkmaktadır (Crespo ve Shivaprasad, 2008; Mcnamee ve ark., 1998; Nairn ve Watson, 1972; Poulas ve ark., 1978; Taylor ve ark., 1971). Hızlı gelişen ırklarda çeşitli stres faktörleri ve beslenmeye bağlı değişik sorunlar Vit. D'nin vücutta yararlanılabilirliği üzerine etkili olmaktadır (Calobatta, 1999; Crespo ve Shivaprasad, 2008; Frittis ve Waldroup, 2003). Vit. D'nin yeni geliştirilen formu böbreklerde üretilen son basamak ürün niteliğinde olması nedeniyle, bahsedilen sorunların ortaya çıktığı durumlarda Vit. D yetersizliğinin ortaya çıkma riskini önemli düzeyde azaltmaktadır (Bar ve ark., 2003; Calobatta, 1999; Frittis ve Waldroup, 2003). Yapılan çalışmalarda Vit. D₃'e göre yeni formun bağırsaklardan emilim etkinliğinin daha yüksek olduğu ortaya konmuştur (Bar ve ark., 2003; Calobatta, 1999; Sell ve Kratzer, 1994). Bunlara bağlı olarak, bu araştırmada, kanatlıların daha yüksek yararlarına bileceği Vitamin D'nin bir formu olan 25-OHD₃'ün ve klasik kullanılan Vit. D₃'ün yem ile birlikte veya ayrı ayrı kullanımının etlik piliçlerde kemik gelişimindeki etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada özel bir işletmeden elde edilen günlük yaşta karışık cinsiyette 210 Ross 308 etlik civciv kullanıldı. Çalışmada farklı seviyelerinin etkisi incelenecek Vit. D₃ metaboliti olan 25-OHD₃ (25-hidroksikole kalsiferol), HyD ticari ismi ile DSM Besin Maddeleri Ltd. Şti. tarafından sağlanmıştır. HyD ticari isimli bu ürün yem katkı maddesi olarak her 1 kg'ında %1,25'lik HyD (0,0625 g

25-OHD₃) içermektedir. Bu ürünün diğer bileşenleri dolgu maddesi olarak gıda nişastası, maltodekstrin, hindistan cevizi yağı, etoksiquin, sodium askorbat, silisyum dioksit ve sudan oluşmaktadır. Çalışmada 25-OHD₃'in iki seviyesi incelenmiştir. Bunlar 34,37 mg 25-OHD₃/ton ve 68,75 mg 25-OHD₃/ton yem olarak kullanılmıştır. Bu etken madde dozunu elde etmek için ticari formdaki HyD kaynağından ton yeme sırasıyla 0,55 kg ve 1,1 kg katılmıştır. Vit. D'nin (0, 2500 ve 5000 vitamin D₃ IU/kg olmak üzere) 3 farklı seviyesi kullanılmış ve bunlar da DSM Besin Maddeleri Ltd. Şti. den alınmıştır. Burada da yemde 5000 IU aktiviteyi sağlamak için 1 ton yeme 1 kg, 2500 IU için 0,5 kg Rovimix katılmıştır. Çalışmada 4 dönemli beslenme programı uygulanmış olup (0-12 gün, 13-28 gün, 29-35 gün, 36-42 gün) besin maddesi ihtiyaçları NCR 1994 (Sell ve Kratzer, 1994) ve Ross firmasının Ross 308 broylar için önerilerine uygun olarak hazırlanmıştır. Bu yemler özel bir şirkete ait yem fabrikasında yapılmış ve hayvanların yaşına göre granül ve pelet formda verilmiştir. Yemler *ad libitum* olarak sağlanmıştır. Çalışma süresince 23 saat aydınlık 1 saat karanlık olacak şekilde ışıklandırma yapılmıştır.

Civcivler ilk gün rastlantısal seçme yöntemiyle, biri kontrol olan ve 30'ar civcivden oluşan 7 ayrı gruba ayrıldı, 1. gruba, sadece broylar üretiminde kullanılan Ross 308 broylar civcivler için önerilen standart ticari broylar yemi verildi ve bu grup kontrol grubunu oluşturdu. Diğer 6 gruba da, standart ticari broylar yemine üç farklı dozda vitamin D₃ ve iki farklı doz ticari ismi HyD olan, vitamin D₃'ün metaboliti 25-OHD₃ (25 hidroksikole kalsiferol) eklenerek verildi. Buna göre diğer gruplara;

2. gruba; Ticari broylar başlangıç yemi + 5000 IU/kg Vitamin D₃ + 1,1 kg/ton 25-OHD₃,
3. gruba; Ticari broylar başlangıç yemi + 5000 IU/kg/ton Vitamin D₃ + 0,55 kg/ton 25-OHD₃,
4. gruba; Ticari broylar başlangıç yemi + 2500 IU/kg Vitamin D₃ + 1,1 kg/ton 25-OHD₃,
5. gruba; Ticari broylar başlangıç yemi + 2500 IU/kg Vitamin D₃ + 0,55 kg/ton 25-OHD₃,
6. gruba; Ticari broylar başlangıç yemi + 0

IU/kg Vitamin D₃ + 1,1 kg/ton 25-OHD₃, 7 gruba; Ticari broyler başlangıç yemi + 0 IU/kg Vitamin D₃ + 0,55 kg/ton 25-OHD₃ düzeni içinde 42 gün süre ile verildi ve 42. günün sonunda hayvanlar ötenazi edildi. Kesimler sırasında kan ve her gruptan 15 hayvanın femur ve tibiaları alındı ve bunlar tespit amacıyla %10'luk formol saline solüsyonuna konuldu, her hayvana ait femur ve tibialardan birer adedi kemik direnç testlerinde kullanıldı, diğer femur ve tibialar formol saline solüsyonunda 3 gün kaldıktan sonra, dekalsifikasyon amacıyla %5'lik nitrik asit solüsyonuna alındı. Dekalsifiye olan her hayvana ait birer femur ve tibialardan özellikle büyüme plakları bölgesini içine alacak şekilde küçük parçalar alındı bunlar rutin işlemlerden geçirilerek parafin bloklara gömüldü ve her bloktan rotary mikrotom ile 4-5 mikro kalınlığında 2-3 kesit alındı ve bunlar Hemotoksilen - Eozin (H.E) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Kemik direnç testleri uygulanacak kemikler (her gruptan 15 Adet) %10'luk formal saline içerisinde İspanya'da bulunan IRTA Tarım ve Gıda Teknoloji Araştırma Enstitüsüne (15.06.07 tarihli 0403 no'lu yazı) gönderildi. Gönderilen örnekler, orada 24 saat 4C°de depolandıktan sonra kırma testi ile mekanik analize tabi tutulmuştur. Bu test için MTS Alliance RT/5 5000N yükleme hücreli ve ufak kemik kırma özel aygıtı olan evrensel doku analiz aleti kullanılmıştır. Bu işlem sonucunda elde edilen güç-mesafe eğrisinden esneklik modülü hesaplanmıştır.

Alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda Ca ve P değerleri için ticari kitler (Spinreact) kullanılarak spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Serumda Vit. D seviyesi ELISA yöntemiyle saptanmıştır (Immun diagnostik Kit).

Bulgular

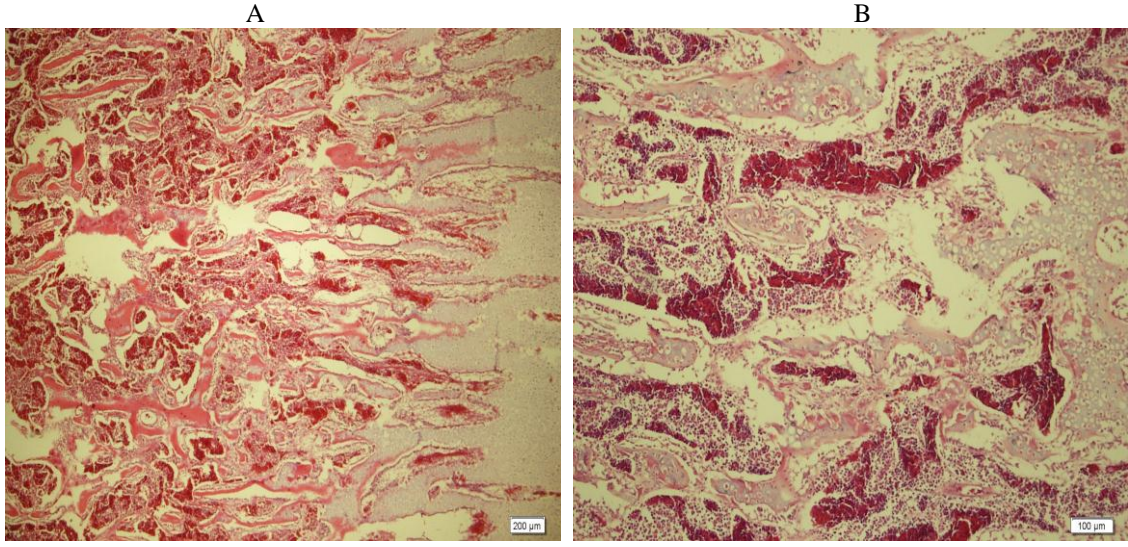
Mikroskopik değerlendirmelerde her hayvanda femur ve tibialarda büyüme plağı alanında; kırıkdağ yoğunluğu, kemik yoğunluğu, trabeküllerin sağlamlığı gibi, kriterler temel alınarak yapılan incelemelerde

her kemikteki lezyonlar kötüden iyiye doğru +1, +2, +3 olarak derecelendirildi, her grupta her bir hayvanın değerlerinin toplanmasıyla elde edilen, toplam değerler, hayvan sayısına bölünerek, her grup için istatistiksel bir ortalama bir değer elde edildi ve bunlar kontrol grubuyla karşılaştırıldı (Tablo 1).

Lezyonların Derecelendirilmesi

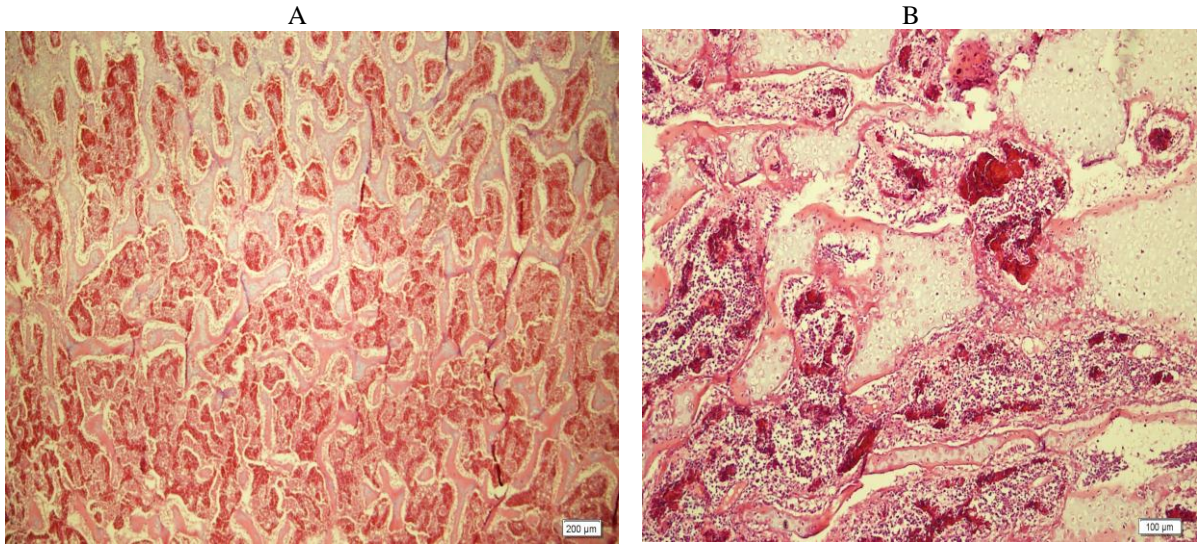
+1: Kırıkdağ yoğunluğu fazla, kemik dönüşümü az, var olan trabeküllerde kırıklar fazla oranda (Şekil 1, A, B), **+2:** Kırıkdağ yoğunluğu daha az kemik dönüşümü daha fazla, trabeküllerde kırık oranı az (Şekil 2, A, B), **+3:** Kırıkdağ yoğunluğu az kemik dönüşümü oldukça fazla trabeküller düzgün yapıda (Şekil 3, A, B).

Çalışmada kemik dayanıklılığı ve sağlamlığını gösterecek, kemiğe uygulanan azami güç değeri ve kemiğin dayanıklılığı gibi parametreler ölçülmüş ve bunlar Tablo 2 ve Şekil 4'de verilmiştir. Bu tablo incelendiğinde kemiğe uygulanan azami güç değeri ve kemiğin dayanıklılığı sonuçlarında gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı (P>0,05) ve farklı dozda yapılan uygulamaların kemik gelişiminde istatistiksel düzeyde bir fark oluşturmadığı görülmüştür. Fakat yinede aynı tablo incelendiğinde rasyonlarına HyD eklenen gruplardaki piliçlerin kemiklerinde belirtilen iki parametre yönünden önemli sayılabilecek bir gelişme olduğu görülmektedir. Örneklemede kullanılan piliçlerdeki varyasyonun yüksekliğinin (varyasyon katsayısı %14-34) gruplar arası farklılığın istatistiki bakımdan anlamlı çıkmamasına neden olmuştur. Buna rağmen farklı uygulamalara bağlı olarak ortaya çıkan eğilim incelendiğinde; en düşük sonuçların 0 IU D₃ ve HyD ilave edilen 6. ve 7. gruplarda olduğu görülmektedir (P>0,05). Çalışmanın asıl konusu olan HyD'nin iki farklı seviyesinin tek başlarına yani sadece Vitamin D₃ ilave edilmeden verilmesi durumunda kemik gelişiminde gözlenen bu zayıflığı gidermediği görülmektedir (P>0,05). Bununla birlikte 2500 ve 5000 IU D₃ içeren yemlere 34 mg/ton (550 g/ton HyD) ve 69 mg/ton (1100 g/ton HyD) 25-OHD₃ ilavesi durumunda özellikle 69 mg/ton seviyesinin kemik sağlamlığını arttırmada etkili olduğu söylenebilir.



Şekil 1. +1 lezyon, **A:** Grup-2, H.E. 40X, **B:** Grup 3, H.E. 100X.

Figure 1. +1 lesion, **A:** Group-2. H.E. 40X, **B:** Group 3, H.E. 100X.



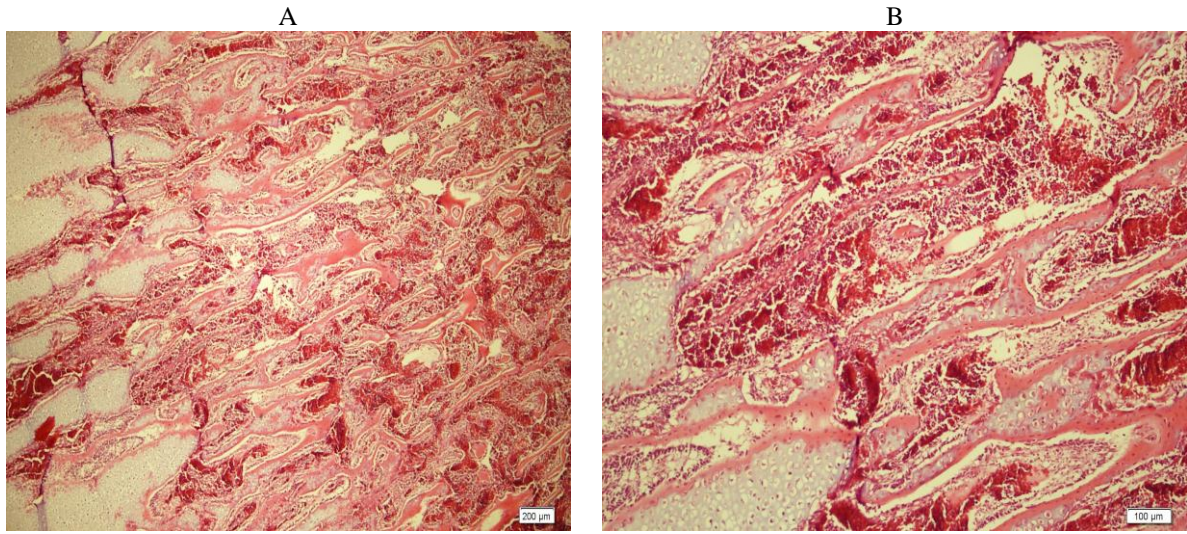
Şekil 2. +2, lezyon, **A:** Grup 1, H.E. 40X, **B:** Grup-6,H.E., 100X.

Figure 2. +2 lesion, **A:** Group 2, H.E. 40X, **B:** Group-6, H.E., 100X.

Çalışma grubunda bulunan hayvanların kan kalsiyum, fosfor ve HyD düzeyleri Tablo-3'de verilmiştir. Grup içi yapılan karşılaştırmalarda kalsiyum düzeyleri değerlendirildiğinde; 1. ve 2. gruplar arasında ve yine 1. ve 3., 4., 5., 6. gruplar arasında istatistiki anlamda farklılıklar saptanmıştır ($P \leq 0,05$). En yüksek ortalama kan Ca konsantrasyonu 2. grupta bulunmuştur. Fosfor düzeyleri açısından değerlendirildiğinde;

1. ve 2. gruplar arasında ve yine 1. ve 3., 4., 5., 6. Gruplar arasında istatistiki fark anlamlı bulunup, en yüksek ortalama kan P konsantrasyonu 2. grupta görülmüştür.

HyD düzeyleri açısından değerlendirildiğinde; 1. ve 2., 1. ve 3., 1. ve 4., 5., 6. gruplar arasında istatistiki anlamda farklılıklar saptanmış olup, en yüksek kan HyD konsantrasyonu yine 2. grupta bulunmuştur.



Şekil 3. +3 Lezyon, **A:** Grup-6, H.E. 40X, **B:** Grup-6, H.E. 100X.

Figure 3. +3 Lesion, **A:** Group-6, H.E. 40X, **B:** Group-6, H.E. 100X.

Tablo 1. Çalışma grupları içerisindeki tavuklarda femur ve tibialarda saptanan mikroskopik bulgularının derecelendirilmesi.

Table 1. The classification of femurs and tibia's microscopic evaluations in experimental groups.

Gruplar	Mikroskopik Değerlendirme Derecesi		Gruplar	Mikroskopik Değerlendirme Derecesi	
	Femur	Tibia		Femur	Tibia
1. grup Kontrol grubu	1.hayvan :+2	+2	5. grup	1.hayvan:+1	+2
	2.hayvan:+2	+2		2.hayvan:+3	+2
	3.hayvan:+2	+2		3.hayvan:+3	+2
	4.hayvan:+1	+2		4.hayvan:+1	+2
	5.hayvan:+2	+2		5.hayvan:+3	+3
	1,8	+2	2,2	+2,8	
2. grup	1.hayvan:+3	+2	6.grup	1.hayvan:+2	+1
	2.hayvan:+2	+2		2.hayvan:+2	+2
	3.hayvan:+3	+3		3.hayvan:+1	+2
	4.hayvan:+3	+2		4.hayvan:+2	+2
	5.hayvan:+2	+2		5.hayvan:+3	+2
	2,6	+2,8	2	+1,6	
3. grup	1.hayvan:+1	+1	7.grup	1.hayvan:+2	+1
	2.hayvan:+2	+2		2.hayvan:+1	+1
	3.hayvan:+2	+2		3.hayvan:+2	+2
	4.hayvan:+1	+2		4.hayvan:+2	+2
	5.hayvan: +2	+2		5.hayvan:+1	+1
	+1,6	+1,8	1,6	+1,4	
4. grup	1.hayvan:+3	+2	Toplam Grup Ortalamaları	1.grup:+1,8	+2
	2.hayvan:+3	+2		2.grup:+2,6++	+2,8++
	3.hayvan:+3	+2		3.grup:+1,6	+1,8-
	4.hayvan:+3	+2		4.grup:+2,8++	+2++
	5.hayvan:+2	+2		5.grup:+2,2++	+2,8+
	+2,8	+2	6.grup:+2-	+1,6+	
			7.grup:+1,6	+1,4-	

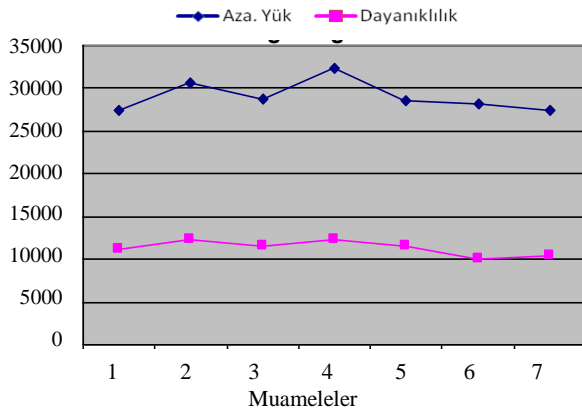
Tablo 2. Etlik piliç yemlerinde Vit.D₃ ve HyD kombinasyonlarının kemik dayanıklılığı üzerine etkisi.**Table 2.** The effects of Vit D₃ and HyD combinations on bone strength in broiler diets.

Muameleler	Kemik Dayanıklılık Kriterleri					
	Azami yük (gf)			Dayanıklılık (Kgf/mm)		
	Ortalama	Std. Sapma	CV (%)	Ortalama	Std. Sapma	CV (%)
1	27464	4578,55	16,67	11,14	3,10	27,81
2	30640	7954,29	25,96	12,21	3,02	24,77
3	28670	6066,99	21,16	11,60	3,18	27,39
4	32421	4702,80	14,51	12,30	2,55	20,70
5	28478	5924,43	20,80	11,50	4,01	34,91
6	28114	4005,53	14,25	10,02	1,61	16,03
7	27350	4686,50	17,14	10,37	2,41	23,20
P	0,1502	-	-	0,2852	-	-

Tablo 3. Deneme gruplarında incelenen Ca, P, HyD parametrelerinin değerleri.**Table 3.** Ca, P and HyD levels in experimental groups.

Parametreler	Gruplar						
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Ca (mg/dl)	10,43 ^a	16,54 ^c	12,21 ^b	13,18 ^b	12,21 ^b	12,57 ^b	11,00 ^a
P (mg/dl)	4,32 ^a	6,86 ^d	5,04 ^{bc}	5,43 ^c	5,39 ^c	5,39 ^c	4,50 ^{ab}
HyD (pg/ml)	18,21 ^a	44,26 ^e	39,25 ^d	29,42 ^c	29,99 ^c	23,28 ^b	19,18 ^{ab}
n	28	28	28	28	28	28	28

^{abcde}: Her bir parametre için aynı satırda farklı harf taşıyan grupların arasındaki istatistiksel fark önemlidir ($P \leq 0.05$).

**Şekil 4.** İki farklı seviyede vitamin D₃ içeren etlik piliç yemlerine HyD ilavesinin kemik dayanıklılığına etkisi.**Figure 4.** The effects of HyD on bone strength in broiler diets that have two different doses Vit. D₃.

Tartışma

Broilerlerde hızlı büyüme ve artan vücut ağırlığı iskelet sisteminde deformasyon ve kırıklara buna bağlı olarak da yetersizliklere sebep olmaktadır. Ayrıca rasyondaki özellikle

Ca, P ve Vit. D'nin dengesiz veya yetersiz bulunması ya da normal düzeyde olsa da hayvanda bunların emilimini veya kullanımını engelleyen durumlar bulunması, hızlı büyüyen bu hayvanlarda özellikle 3. haftadan sonra iskelet sistemine ilgili sorunlara neden olmaktadır veya bunların oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Crespo ve Shivaprasad, 2008; Julian, 1998; McNamee, 1999; Pattison, 1992; Ridell, 1997). Bu nedenlere bağlı olarak broiler işletmelerinde iskelet sistemine ilgili önemli sorunlar gelişmekte ve dikkate değer ekonomik kayıplar oluşmaktadır (Crespo ve Shivaprasad, 2008; McNamee ve Smyth, 2000; Thorp, 2001). Broilerlerde, bu nedenlerle ortaya çıkan bozuklukların önlenmesi veya en az düzeye indirilmesi için, normal düzeyde Vit. D içeren yemlere Vit. D'nin farklı bir metaboliti olan 25-OH kolekalsiferol eklenmesi düşünülmüştür. Bu konuda yapılan çalışma sınırlı sayıda (Bar ve ark., 2003; Calobatta, 1999; Frittis ve Waldroup, 2003). Vit. D₃'ün yeni geliştirilen bu formu karaciğerde hidroksile edilerek üretilen

ve ara basamak türün olma niteliğine sahip olması nedeniyle, Vit. D₃'ün emiliminin engellendiği durumlarda da Vit. D yetersizliği oluşma riskini azaltmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda yeni geliştirilen bu formun, Vit. D₃'e göre barsaklardan emiliminin daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Bar ve ark., 2003; Calobatta, 1999; Fritis ve Waldroup, 2003; Thorp, 2001). Çalışmada yemlerine HyD eklenen tüm gruplarda kemik gelişiminde istatistiksel düzeyde olumlu bir etki olmasa da, özellikle HyD'nin 2500 ve 5000 IU Vit. D₃ ile beraber verildiği gruplarda, diğer gruplara göre kemik gelişiminde daha olumlu bir etki olduğu görülmektedir.

Ca, P ve Vit. D kemik gelişimi için gerekli inorganik madde ve vitaminlerdir. Ca ve P mobilizasyonunda, emilimi ve serum düzeylerinde Vit. D'nin etkili olduğu bilinmektedir (Calobatta, 1999; Crespo ve Shivaprasad, 2008; Lidor ve ark., 1987; Ridell, 1992). Çalışmada Tablo 3 incelendiğinde kontrol grupları ile diğer grupların yemlerinde Ca ve P kaynakları ve miktarları aynı olduğu halde, yemlerine HyD eklenen 2-7. gruplarda Ca ve P düzeylerinin kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak önemli düzeyde olduğu görülmektedir. Bu sonuca göre yemlere eklenen HyD'nin Ca ve P emiliminde ve kan serum düzeylerine önemli derecede olumlu etkisi olduğu görülmektedir. Çalışmada HyD eklenen gruplardaki tavukların femur ve tibialarının mikroskopik sonuçları incelendiğinde, özellikle HyD eklenen gruplardaki tavukların bu kemiklerine ait mikroskopik inceleme sonuçlarının kontrol grubundakilere göre daha iyi olduğu diğer gruplarda da kendi arasında bir düşme görülse de kontrollere göre daha iyi sonuçlar saptandığı görülmektedir. Mikroskopik sonuçlara göre değerlendirme yapıldığında, gruplar arasında önemli bir istatistiksel fark bulunmasa da, içerisinde 2500-5000 IU Vit. D bulunan yemlere 1,1 kg HyD eklenen gruplarda kemik gelişiminde daha iyi sonuçlar alındığı görülmektedir.

Elde edilen mikroskopik sonuçlara göre, 3. ve 7. gruplarda kontrol grubuna göre önemli bir fark görülmezken, özellikle 2. grup ve 4. grupta

daha belirgin olmak üzere 5. ve 6. gruplarda da kontrol grubuna göre olumlu yönde farklılıklar saptanmıştır. Kemik dayanıklılığı ve sağlamlığı sonuçlarına göre, kontrol gruplarına göre istatistiksel yönden önemli bir fark gözlenmezken yemlere HyD eklenen gruplarda her iki parametre yönünden önemli gelişme olduğu saptanmıştır. Ca, P ve Vit. D bulguları, mikroskopik incelemeler ve kemik dayanıklılık testleri sonuçlarına göre HyD'nin iki farklı dozunun, Vit D₃ eklemekten tek başına kemik gelişiminde önemli bir katkı sağlamadığı, fakat 2500-5000 IU/D₃ içeren yemlere 34 ve özellikle 69 mg/ton HyD (25-OHD₃) eklenmesinin gelişimde ve buna paralel olarak kemik sağlamlığında katkısı olduğu sonucuna varılmıştır. Tablo 3 incelendiğinde kan serumu HyD, Ca ve P düzeyleri konsantrasyonu en yüksek olarak 2. grup bulunmuştur. Aynı şekilde yine Tablo 1 incelendiğinde femur ve tibia'daki mikroskopik açıdan olumlu yöndeki belirgin değişimlerin en iyi 2. grupta ve daha sonra 4. grupta olduğu görülmektedir.

Bacaklarda gelişen bozuklukların etyolojileri bütün olaylarda tam olarak açıklanamamaktadır. Değişik faktörler bu bozuklukların gelişiminde bir arada sorumlu olabilirler. Bacak bozukluklarına neden olan faktörler, başta enfeksiyöz etkenler, yetersiz, dengesiz beslenmeye bağlı metabolizma bozuklukları ve anormal gelişim olmak üzere toksinler, çevresel faktörler, genetik predispozisyon ve management sayılabilir (Crespo ve Shivaprasad, 2008; Mısırlıoğulları ve ark., 2001; Reece, 1992; Ridell, 1992; Thorp, 2001) Ridell ve ark. tarafından 1981-91 yılları arasında yapılan çalışmalarda (Ridell, 1992) olayların çoğunda nonenfeksiyöz etkenler bacak bozukluklarının en önemli sebebi olarak açıklanmıştır.

Ayrıca, klasik olarak yemlere katılan Vit. D₃ kaynaklarının bağırsaklardan emilimi değişik mikotoksinlerin varlığından ve uygunsuz Ca, P oranlarından olumsuz etkilenebilmektedir. Vücutun, bağırsaklardan absorbe edilen Vit. D₃'den hücresel düzeyde yararlanılabilmesi için, Vit. D₃'ün, önce karaciğerde 25. karbona bir hidroksil grubu ilavesi ile 25-hidroxy chelocalciferol'e dönüştürülmesi, daha sonrada

böbreklerde ikinci bir hidroksilasyonla grubu eklenerek 1,25 dihidroksilchelocalciferol'a dönüşmesi gerekmektedir (Bar ve ark., 2003; Calobatta, 1999; Frittis ve Waldroup, 2003; Sell ve Kratzer, 1994). Bağırsaklarda emilimi olumsuz etkileyen çeşitli faktörler ile metabolik dönüşüm aşamasında metabolizmada çıkan sorunlar, karaciğer, böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkileyen çeşitli etkenler, Vit. D dönüşümü ile ilgili basamakları engellemekte ve performansta gerileme ve kemik gelişimi ile ilgili sorunlara neden olmaktadır. Bu çalışmada hayvanlar özel hazırlanmış, kalabalık olmayan kümeslerde yukarıda belirtilen gelişim bozukluklarına sebep olabilecek etkilerden uzak bir ortamda yetiştirilmiştir. Saha şartlarında yetiştirme ortamı her zaman uygun olmamaktadır. Bu nedenle çalışmada kontrol ve çalışma grupları arasında önemli istatistiksel farklar çıkmamasında bu durumun etkili olabileceği düşünülmektedir.

Elde edilen bulgulara göre; HyD'nin iki farklı dozunun, Vit D₃ eklemeyen tek başına kemik gelişiminde önemli bir katkı sağlamadığı, fakat 2500-5000 IU/D₃ içeren yemlere 34 ve özellikle 69 mg/ton HyD (25-OHD₃) eklenmesinin gelişimde ve buna paralel olarak kemik sağlamlığında katkısı olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Bar, A., Razaphkovsky, V., Vax, E., Plavnik, I., 2003.** Performance and bone development in broiler chickens given 25-hydroxycholecalciferol. *British Poultry Science* 44, 224-233.
- Calobatta, D.F., 1999.** 25-OH-D₃ in commercial poultry nutrition. *ASA Technical Bulletin Vol. AN 26*.
- Crespo, R., Shivaprasad, H.L., 2008.** Noninfectious diseases. In: Saif, Y.M. (Ed.). *Diseases of Poultry*. Edition 12th USA: Blakwell Publishing.
- Edwards, H.M., 2000.** Nutrition and skeletal problems in poultry. *Poultry Science* 79, 1018-1023.
- Fleming, R.H., 2008.** Nutritional factors affecting poultry bone health. *Proceedings of the Nutrition Society* 67, 177-83.
- Frittis, C.A., Waldroup, P.W., 2003.** Effects of source and levels of vitamin D on live performance and bone development in growing broilers. *The Journal of Applied Poultry Research* 12, 45-52.
- Julian, R.J., 1998.** Rapid growth problems: ascites and skeletal deformities in broilers. *Poultry Science* 77, 1773-1780.
- Lidor, C., Dekel, S., Hallel, T., Edelstein, S., 1987.** Levels of active metabolites of vitamin D₃ in the callus of fracture repair in chicks. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 69 (1), 132-136.
- McNamee, P.T., McCullagh, J.J., Thorp, B.H., Ball, H.J., Graham, D.G., McCullough, D., Smyth, J.A., 1998.** Study of leg weakness in two commercial broiler flocks. *Veterinary Record* 143, 131-145.
- McNamee, P.T., McCullagh, J.J., O'Hagan, J., Spratt-Davidson, S., Mulholland, E.J., Ball, H.J., Smyth, J.A., 1999.** A longitudinal study of leg weakness in five commercial broiler flocks. In: *Proc. of the 48th Western Poultry Disease Conference*, Vancouver, B.C. Canada.
- McNamee, P.T., Smyth, J.A., 2000.** Bacterial chondronecrosis with osteomyelitis ('femoral head necrosis') of broiler chickens: a review. *Avian Pathology* 29, 253-270.
- Mısırlıoğlu, D., Çarlı, K.T., Sevimli, A., Petek, M., 2001.** Broiler piliçlerde bacak problemlerine patolojik, bakteriyolojik ve serolojik bir yaklaşım. *Veteriner Bilimleri Dergisi* 17, 101-108.
- Morris, M.P., 1993.** National survey of leg problems. *Broiler Industry*, May, 20-24.
- Nairn, M.E., Watson, A.R.A., 1972.** Leg weakness in poultry a clinical and pathological characterisation. *Australian Veterinary Journal* 48, 645-656.
- Pattison, M., 1992.** Impacts of bone problems on the poultry meat industry. In: Whitehead, C.C. (Ed), *Bone Biology and Skeletal Disorders in Poultry*. Abingdon, Carfax Publishing Company, pp. 329-338.
- Poulas, P.W., Reiland, S., Elwinger, K., Olsson, S.E., 1978.** Skeletal lesions in broiler, with special reference to dyschondroplasia. Pathology, frequency and clinical significance in two strains of birds on high and low energy feed.

- Acta Radiologica Scandinavica Supplement 358, 229-75.
- Randall, C.J., Reece, R.L., 1996.** Skeletal system. In: Wolfe, M. (Ed), A Colour Atlas of Avian Histopathology. Chapter 9. London, Times Mirror International Publishers Limited.
- Reece, R.L., 1992.** The role of infectious agents in leg abnormalities in growing birds. Bone biology and skeletal disorders in poultry. Poultry Science Symposium No. 23 Abingdon, Carfax Publishing Company, pp. 231-263.
- Reiland, S., 1978.** Normal and pathological skeletal development in broiler and leghorn chickens. Acta Radiologica Supplements 358, 277-298.
- Ridell, C., 1981.** Skeletal deformities in poultry. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine 25, 277-310.
- Ridell, C., 1992.** Non-infectious skeletal disorders of poultry: a overview. In: Whitehead, C.C. (Ed), Bone Biology and Skeletal Disorders in Poultry. Poultry Science Symposium No. 23 Abingdon, Carfax Publishing Company, pp. 119-145.
- Ridell, C., 1997.** Leg problems still important. Poultry Digest 56, 28-31.
- Sell, J.L., Kratzer, F., 1994.** Nutrient requirements of poultry. NRC. 9th Edition National Academic Press.
- Taylor, T.G., Simkiss, K., Stringer, D.A., 1971.** The skeleton: its structure and metabolism. In: Bell, D.J., Freeman, B.M. (Ed.), Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. London, Academic Press, pp. 621-640.
- Thorp, B.H., Waddington, D., 1997.** Relationships between the bone pathologies, ash and mineral content of long bones in 35-day-old broiler chickens. Research in Veterinary Science 62, 67-73.
- Thorp, B.H., 2001.** Diseases of the musculoskeletal system. In: Jordan, F. (Ed.), Poultry Diseases. London, W.B. Saunders, pp. 437-454.