مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶۵، شماره ۳، ۲۴۴ - ۲۳۹

اثر سطوح مختلف ویتامین E بر پاسخ سیستم ایمنی هومورال و عملکرد در جوجه‌های گوشتی

رضا وکیلی[1*] رضا دلیری[2]

۱) گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر، کاشمر - ایران.

۲) کارشناس ارشد تغذیه طیور و مدرس دانشگاه آزاد اسلامی واحد بیرجند، بیرجند - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۰ اسفند ۱۳۸۷ ، پذیرش نهایی: ۳ اسفند ۱۳۸۸)

چکیده

ویتامین E با خواص آنتی اکسیدانتی شناخته شده و درگونه‌های مختلف تنظیم وظایف سیستم ایمنی را از خود نشان داده است. این آزمایش با استفاده از ۲۴۰ قطعه جوجه نر یک‌روزه گوشتی از سویه رأس ۳۰۸ جهت بررسی اثرات چهار سطح مختلف ویتامین E (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بر عملکرد و پاسخ سیستم ایمنی هومورال انجام شد. به منظور مطالعه پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌ها در سنین ۱۵، ۳۰، ۴۵ روزگی با ۰/۲ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵ گلبول قرمز گوسفند در عضله سینه تزریق شدند و در ۷ و ۱۴ روز بعد از تزریق دوم و سوم نمونه‌گیری خونی انجام شد، سپس تیترهای آنتی‌بادی بر علیه گلبول گوسفند به‌وسیله‌ی روش میکروهماگلوتیناسیون اندازه‌گیری شد. سپس جوجه‌ها کشتار و بورس فابرسیوس و طحال آنها توزین شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ویتامین E هیچ اثر معنی‌داری بر عملکرد جوجه‌ها شامل وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی نداشت. اختلاف معنی‌داری بر تیتر آنتی‌بادی تام علیه گلبول قرمز گوسفند، تیتر آنتی‌بادی حساس به ۲ مرکاپتواتانول، و نیز تیتر آنتی‌بادی ضد ویروس نیوکاسل گروهی که ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E مصرف کرده بودند، در مقایسه با گروه شاهد داشت ($p<0/05$). تیتر آنتی‌بادی مقاوم به ۲ مرکاپتواتانول و وزن ارگان‌های لنفوئیدی (بورس فابرسیوس و طحال) تحت تأثیر جیره قرار نگرفت و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. این نتایج نشان داد که مکمل ویتامین E پاسخ ایمنی هومورال را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: جوجه‌گوشتی، ویتامین E، سیستم ایمنی، هماگلوتیناسیون، عملکرد.

مقدمه

ویتامین E، یک ویتامین محلول در چربی با منشأ گیاهی که ضروری برای عملکردهای تولید مثلی، عصبی، ماهیچه‌ای و ایمنی می‌باشد(۱). تا حد زیادی مشخص شده که ویتامین E تأثیری بر پیشرفت سیستم ایمنی از طریق تأثیر مستقیم بر روی سلول‌های ایمنی و یا تأثیر غیر مستقیم بر پارامترهای آندوکرینی و متابولیکی که به نوبه‌ی خود بر سیستم ایمنی مؤثر هستند، می‌گذارد (۱۵). هر چند مکانیسم اثر ویتامین E کاملاً مشخّص نشده، امّا فعالیّت آن به‌طور عمده مرتبط با خاصیّت آنتی‌اکسیدانی آن است. ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان کاهش دهنده‌ی رادیکال‌های آزاد تولید شده در متابولت‌های طبیعی و واکنش‌های التهابی مطرح می‌باشد (۱۹). ویتامین E به‌عنوان اوّلین سد دفاعی بدن در برابر عوامل اکسید کننده معرّفی شده از این رو می‌توان نقش آن را در چگونگی پاسخ‌های ایمنی مؤثر دانست (۷). اسیدهای چرب می‌توانند به‌عنوان مولکول تعدیل کننده سیستم ایمنی در ارتباطات بین سلول‌ها، سیّال بودن غشاء و شکل‌گیری مولکول پیامبر ثانویه دخالت نمایند و ویتامین E می‌تواند از این طریق تنظیم کننده سیستم ایمنی باشد (۱۵). تراکم ویتامین E می‌تواند بر پروفیل ایکوزانوئیدها تأثیر داشته باشد، به نحوی که ویتامین E به‌عنوان یک تنظیم کننده‌ی مسیر لیپواکسیژناز و سیکلواکسیژناز مطرح می‌باشد. ایکوزانوئیدها تنظیم کننده‌ی سیستم ایمنی می‌باشند، در نتیجه می‌توانند بر سیستم ایمنی تأثیر مثبت داشته باشند(۱۱). افزایش مصرف ویتامین E سبب تقویت سیستم ایمنی از طریق افزایش بیگانه‌خواری ماکروفاژها و افزایش تولید آنتی‌بادی می‌شود (۱۷). ایجاد ایمنی محافظت‌کننده در اثر ویتامین E در عفونت‌های اشریشیاکلی، نیوکاسل، گامبورو، کوکسیدیوز و برونشیت عفونی گزارش شده است(۱۹). لازم به ذکر است در برخی از تحقیقات عدم تأثیر مثبت ویتامین E بر روی سیستم ایمنی گزارش شده است که باید مورد توجّه قرار گیرد. بهترین نتایج افزایش ایمنی ناشی از ویتامین E در مقادیر ۲۵ تا ۵۰ واحد در کیلوگرم مشاهده شد و سطوح بالاتر اثرات کمتری بر روی افزایش ایمنی دارا بودند (۹). همچنین میزان ویتامین E مورد نیاز توصیه شده در گزارش انجمن ملّی تحقیقات فقط برای جلوگیری از بروز نشانه‌های کمبود ویتامین به علّت اثرات تخریبی اکسیداسیون و کاهش باروری است و هرگز احتیاجات لازم برای تحریک و تقویّت سیستم ایمنی را تأمین نخواهد ساخت. هدف از انجام این طرح بررسی سطوح مختلف ویتامین E بر عملکرد و چگونگی پاسخ سیستم ایمنی هومورال جوجه گوشتی بود.

مواد و روش کار

در این آزمایش از جوجه‌های گوشتی یک‌روزه سویه تجاری رأس ۳۰۸ استفاده گردید. عملیات مربوط به پرورش و نمونه‌برداری در مؤسسه

*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۸۲۵۰۵۰۱ - ۰۵۳۲ نمابر: ۸۲۵۰۵۲۰ - ۰۵۳۲ Email: vakili@iaukhashmar.ac.ir

جدول ۱ـ اجزاء جیره غذایی تیمارهای مورد آزمایش.

سن (روز)			
اجزا (گرم به کیلوگرم)	۰-۲۱	۲۱-۴۲	۵۶ تا ۴۲
ذرت	۵۸۶/۴	۶۳۲/۹	۷۰۸/۶
کنجاله سویا	۳۰۱/۴	۳۱۲/۰	۲۵۵/۱
سبوس گندم	۲	۲	۲
پودر ماهی	۵۸/۲	-	-
کربنات کلسیم	۱۰/۷	۱۲/۴	۱۱/۶
دی کلسیم فسفات	۷/۷	۱۰/۲	۸
روغن سویا	۲۵	۲۲/۲	۷/۴
نمک	۲/۷	۳/۱	۲/۴
مکمل ویتامینه و مینراله	۵	۵	۵
DL متیونین	۰/۷	۰/۲	-
انرژی متابولیسمی (kcal/kg)	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰
درصد پروتئین خام	۲۰/۸۴	۱۸/۱۲	۱۶/۳۱
کلسیم	۰/۹۱	۰/۸۲	۰/۷۲
فسفر	۰/۴۱	۰/۳۲	۰/۲۷
متیونین+سیستین	۰/۸۲	۰/۶۵	۰/۵۸

جدول ۲ـ برنامه واکسیناسیون.

واکسن مورد استفاده	سن پرنده	روش واکسیناسیون
نیوکاسل (B1)	۹ روزگی	روغنی ـ تزریقی، B1 قطره چشمی
گامبورو (زنده)	۱۲ روزگی	قطره چشمی
نیوکاسل (لاسوتا)	۱۶ روزگی	قطره چشمی
گامبورو (زنده)	۱۹ روزگی	آشامیدنی

کشت و دام کنه بیست رضوی متعلق به آستان قدس رضوی انجام شد. جوجه‌ها پس از تعیین جنس، به طور تصادفی به صورت دسته‌های ۱۲ تایی در ۲۰ قفس سیمی به ابعاد ۱۰۰×۴۰×۳۰ سانتیمتر قرار گرفتند. طرح به صورت کاملاً تصادفی ۴ تیمار و ۵ تکرار و هر تکرار ۱۲ شامل قطعه‌ای بود. جیره‌های غذایی مورد آزمایش، با توجه به ترکیبات مواد مغذی موجود در اقلام خوراکی مورد استفاده و با توجه به احتیاجات غذایی جوجه‌های گوشتی در مراحل مختلف پرورش مطابق جداول انجمن تحقیقات ملی در سال ۱۹۹۴، تهیه و تنظیم شد. هر واحد آزمایشی به آبخوری سینی و دانخوری سطلی مجهّز بود. سطوحی که در این آزمایش استفاده شده شامل صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰ میلیگرم به کیلوگرم خوراک بود (جدول ۱).

مصرف خوراک و آب به صورت آزاد (ad libitum) بود. تمامی واکسن‌های توصیه شده در منطقه (نیوکاسل، گامبرو،...) طبق برنامه تجویز شد (جدول ۲).

به‌منظور بررسی پاسخ ایمنی هومورال، جوجه‌های گوشتی علیه گلبول قرمز گوسفند (SRBC) مطابق نظریه Lerner و همکاران در سال ۱۹۷۱ ایمنی‌سازی شدند (۱۴). برای تهیه یک سوسپانسیون تزریقی SRBC از ۳ راس گوسفند بلوچی خون‌گیری به‌عمل آمد و در شیشه حاوی EDTA ریخته شد. گلبول‌ها سه بار در بافر فسفات سالین PBS شسته شده و نهایتاً یک سوسپانسیون، SRBC ۵ درصد در PBS آماده گردید. لازم به ذکر است که تمام مراحل فوق در شرایط استریل انجام گرفت. تزریق SRBC در روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دوره آزمایش انجام شد به نحوی که تمام جوجه‌های طرح با ۰/۲ ml از محلول فوق به‌صورت I.M در ماهیچه سینه تزریق شدند. برای نمونه‌گیری خونی به‌دلیل وجود سلول‌های حافظه‌ای بعد از تزریق اوّل خون‌گیری انجام نشد، ۷ و ۱۴ روز بعد از تزریقات دوم و سوم به ترتیب در روزهای ۵۹، ۵۲، ۴۴، ۳۷ دوره آزمایش، از این جوجه‌ها خون‌گیری انجام شد (۱۱). بعد میزان آنتی‌بادی نمونه‌ها علیه SRBC به روش هماگلوتیناسیون اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی به روش زیر عمل گردید:

پلت‌های مخصوص میکروهماگلوتیناسیون V تصویر تهیه گردید. این پلت‌ها دارای ۹۶ چاهک در ۱۲ ستون (۱ تا ۱۲) و ۸ ردیف (A تا H) هستند. برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی تام، آنتی‌بادی‌های مقاوم به ۲ـ مرکاپتواتانل (IgG) و حساس به آن (IgM) روش Van der zipp در سال ۱۹۸۰ استفاده شد (۲۰).

مطابق این روش برای اندازه‌گیری Total anti-SRBC، ۵۰ µl از نمونه سرم با ۵۰ µl بافر فسفات سالین (PBS) در داخل پلیت میکروتیتر مخلوط شد و سپس رقت‌های سریال از ۱/۲ الی ۱/۲۵۶ از سرم تهیه شد. در مرحله بعدی ۵۰ µl از محلول سوسپانسیون SRBC ۲ درصد به هر چاهک اضافه شد و بعد به مدت ۴ الی ۵ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. تیترها بر اساس Log_2 بیشترین رقتی که آگلوتیناسیون کامل را نشان می‌داد بیان شد و چنانچه رقت بالاتر آگلوتیناسیون نسبتی نشان می‌داد یک نقطه حد واسط در نظر گرفته می‌شد و آنتی‌بادی‌های حساس به مرکاپتواتانول به این صورت تعیین شده که ۵۰ µl از نمونه سرم با ۵۰ µl بافر فسفات سالین حاوی ۰/۲ M ۲ مرکاپتواتانل در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد و سپس رقت‌های سریال از ۱/۲ الی ۱/۲۵۶ از آن تهیه شد و بعد از آن ۵۰ µl محلول سوسپانسیون SRBC ۲ درصد به هر چاهک اضافه شد و نیز آنتی‌بادی مقاوم به مرکاپتواتانول از کسر آنتی‌بادی حساس به ۲ـ مرکاپتواتانل از کل تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفند (Total Anti-SRBC) بدست آمد. بعد از واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل در روز ۲۵ دوره آزمایش بلافاصله سه جوجه از هر قفس علامت‌گذاری شد و از تکرار خون‌گیری به عمل آمد و سرم آنها جهت تعیین تیتر آنتی‌بادی علیه نیوکاسل به آزمایشگاه تشخیص ارسال شد.

برای تعیین وزن بورس و طحال، نسبت به وزن بدن در سن ۵۶ روزگی از هر تکرار یک پرنده از جنس نر به طور تصادفی انتخاب و بعد از وزن کشی کشتار شد، هر قطعه جداگانه به‌وسیله یک دستگاه ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم وزن شد و به‌صورت درصدی از کل وزن بدن محاسبه گردید.

در این پژوهش، هر مشاهده بر اساس مدل زیر به دست آمد:

$$Y_{IJ}=\mu+T_i+\Sigma_{IJ}$$

Y=مقدار هر مشاهده

جدول ۳ ـ میانگین رشد هفتگی، میانگین مصرف خوراک و ضریب تبدیل (به ازا هر قطعه).

	ویتامین E (IU)						
متغیر	۰	۱۰	۲۰	۴۰	خطای معیار	احتمال معنی‌داری
گرم وزن بدن						
هفته صفر	۴۸/۹۳	۴۸/۱۶	۴۹	۴۸/۸۷	۰/۶۶۲	۰/۷۹۴
هفته اول	۹۷/۷۹	۹۸/۶۸	۹۸/۴	۹۸/۰۹	۰/۷۶۵	۰/۸۵۷
هفته دوم	۲۲۰/۳۰۲	۲۱۴/۸۴۸	۲۲۰/۲۴۸	۲۱۹/۰۹۸	۶/۱۰۳	۰/۹۰۹
هفته سوم	۴۰۲/۴۸	۳۹۶/۴	۴۱۰/۳۶	۴۰۰/۰۸	۹/۴۴۶	۰/۷۶۱
هفته پنجم	۱۴۳۳	۱۳۸۵/۲۳	۱۴۲۵/۱۵	۱۳۹۸/۰۸	۲۱/۷۳۹	۰/۳۹
هفته هفتم	۲۱۶۸	۲۱۷۳/۴	۲۱۷۸/۱۷	۲۱۸۳/۵	۱۶/۵۰۹	۰/۹۶۲
گرم مصرف خوراک						
هفته صفر تا یک	۱۶۱/۴	۱۶۰/۳	۱۶۰/۲۳	۱۶۰/۳	۰/۹۶۹	۰/۶۲۹۵
هفته اول تا دوم	۲۸۵	۲۹۴	۲۸۲/۸	۲۸۳	۴/۵۶۷	۰/۲۹۵
هفته دوم تا سوم	۴۸۴/۶	۴۸۸	۴۸۹/۴	۴۸۵/۴	۲/۴۲۷	۰/۴۸۷
هفته سوم تا پنجم	۱۹۷۸	۱۹۶۰	۱۹۷۸	۱۹۶۳/۸	۱۰/۸۴۷	۰/۵۳۵
هفته پنجم تا هفتم	۳۸۰۶/۸	۳۸۰۰/۶	۳۸۱۰/۲	۳۷۸۰/۶	۹/۲۲۶	۰/۱۴۵
(رشد/مصرف غذا) ضریب تبدیل						
هفته یک	۱/۶۷	۱/۷۷	۱/۶۶	۱/۶۷	۰/۰۷	۰/۶۶۳
هفته دوم	۱/۶۷	۱/۷۷	۱/۶۶	۱/۶۷	۰/۰۷	۰/۶۶۳
هفته سوم	۱/۶۸	۱/۷۱	۱/۷۶	۱/۷۹	۰/۰۳۹	۰/۷۹
هفته پنجم	۱/۸۳۰	۱/۸۷	۱/۸۴	۱/۸۶	۰/۰۲۵	۰/۷۶
هفته هفتم	۲/۲۶	۲/۲۵۰	۲/۲۵۰	۲/۲۳	۰/۰۰۱۶	۰/۶۵

جدول ۴ ـ میانگین وزن بورس فابرسیوس و طحال در تیمارهای حاوی سطوح مختلف ویتامین E.

ویتامین E (واحد بین‌المللی)	بصورت درصدی از وزن بدن	
	طحال	بورس
۰	۰/۱۳۰	۰/۰۵
۱۰	۰/۱۳۲	۰/۰۵
۲۰	۰/۱۳۲	۰/۰۵
۴۰	۰/۱۳۴	۰/۰۵۲
احتمال معنی‌دار شدن	۰/۹۷۹	۰/۹۸۷
خطای معیار میانگین	۰/۰۰۶۵	۰/۰۰۴۸

جدول ۵ ـ میانگین تیتر آنتی بادی علیه نیوکاسل (Log2 در تیمارهای حاوی سطوح مختلف ویتامین E اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$).

ویتامین E (واحد بین‌المللی)	تیتر آنتی بادی علیه نیوکاسل (Log_2)
۰	۲/۸ b
۱۰	۳/۶ ab
۲۰	۴/۲ ab
۴۰	۵ a
احتمال معنی‌دار شدن	۰/۰۷۳۸
خطای معیار میانگین	۰/۵۵۶

μ =میانگین صفت مورد مطالعه

T_i=اثر تیمار

Σ_{IJ}=خطای آزمایش

تجزیه و تحلیل آماری یافته‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS با روش تجزیه واریانس انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

در طی هفت هفته وزن کشی هیچ تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری بین تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد. در بررسی اثر ویتامین E بر مصرف غذا در تمام مراحل تغذیه‌ای (آغازین و رشد) جوجه‌هایی که تحت جیره‌های مختلف ویتامین E قرار گرفته‌اند هیچ تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری مشاهده نشد.

نسبت مصرف خوراک به افزایش وزن از موارد دیگر اندازه‌گیری شده در این تحقیق بود که از عوامل مهم پرورش طیور صنعتی می‌باشد. در بررسی اثر سطوح مختلف ویتامین E بر ضریب تبدیل غذایی در پیش دان، میان دان و در تمام کل هفت هفته (جدول ۳) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

همان‌طور که قبلاً گفته شد بورس فابرسیوس و طحال در انتهای هفته‌ی هشتم پس از ذبح حیوان جدا و توزین گردید. که میانگین هر تیمار بطور جداگانه در جدول ۴ به‌صورت درصدی از وزن بدن آمده است که اثر سطوح مختلف ویتامین E بر روی وزن بورس و وزن طحال معنی‌دار نبود.

همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود سطوح مختلف ویتامین E توانست تأثیر معنی‌داری بر تیتر آنتی بادی ضد نیوکاسل بگذارد، به‌نحوی

جدول ۶ـ میانگین تیترآنتی بادی تام علیه گلبول قرمز گوسفندی (Log2) درتیمارهای حاوی سطوح مختلف ویتامین Eاعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی داری دارند (p< ۰/۰۵).

ویتامین E(واحد بین‌المللی)	روزهای بعد از تزریق اولیه			روزهای بعد از تزریق ثانویه	
	۷	۱۴		۷	۱۴
۰	۳/۴ b	۲/۲	کل (تام)	۴/۴ b	۳/۲
۱۰	۳/۶ b	۲/۴		۵ b	۳/۸
۲۰	۴/۲ b	۳		۵/۴ ab	۴
۴۰	۵/۸ ab	۳/۲		۶/۲ ab	۵
احتمال معنی‌دار شدن	۰/۰۰۰۲	۰/۱۲۸		۰/۰۱۷۵	۰/۰۴۷۷
خطای معیار میانگین	۰/۳۱۶	۰/۳۳۹		۰/۳۶۷	۰/۴۱۲

جدول ۸ـ میانگین تیتر آنتی بادی مقاوم به ۲ ـ مرکابتو اتانول (Log2) درتیمارهای حاوی سطوح مختلف ویتامین E.

ویتامین E(واحد بین‌المللی)	روزهای بعد از تزریق اولیه			روزهای بعد از تزریق ثانویه	
	۷	۱۴		۷	۱۴
۰	۰	۰/۶	lgG	۲/۲	۱/۴
۱۰	۰	۰/۶		۲/۶	۱/۸
۲۰	۰	۱		۲/۸	۲
۴۰	۰	۱		۴/۳	۲/۸
احتمال معنی‌دار شدن	۰	۰/۶۹۱۶		۰/۴۶۱	۰/۷۹۲۱
خطای معیار میانگین	۰	۰/۳۶۷		۰/۰۱	۰/۰۰۳

که با افزایش سطح ویتامین E روند رو به افزایشی در تولید آنتی بادی مشاهده شد (p<۰/۰۵).

در بررسی اثر نوع جیره بر تیتر آنتی بادی تام علیه گلبول قرمز گوسفندی و همچنین بر تیتر آنتی بادی حساس به ۲ـ مرکاپتواتانل (IgM)، تفاوت معنی‌داری بین جیره‌ها مشاهده گردید (جدول ۶،۷)، در مقایسه میانگین‌ها جیره‌ی سطح چهارم به‌طوری معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل می‌باشد (p<۰/۰۵).

همان‌طور که در جدول ۸ مشاهده می‌شود اثر نوع جیره بر تیتر آنتی بادی مقاوم به۲ـ مرکاپتواتانل (IgG) تفاوت معنی‌داری بین جیره‌ها مشاهده نشد.

بحث

در بررسی اثر ویتامین E بر مصرف غذا در تمام مراحل تغذیه‌ای (آغازین و رشد) جوجه‌هایی که تحت جیره‌های مختلف ویتامین E قرار گرفته‌اند هیچ تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری مشاهده نشد که نتایج حاصله با تحقیقات Gore و Qureshi در سال ۱۹۹۷ و Azza و همکاران در

جدول ۷ـ میانگین تیتر آنتی بادی حساس به ۲ـ مرکابتو اتانول (Log2) درتیمارهای حاوی سطوح مختلف ویتامین E اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی داری دارند (p< ۰/۰۵).

ویتامین E(واحد بین‌المللی)	روزهای بعد از تزریق اولیه			روزهای بعد از تزریق ثانویه	
	۷	۱۴		۷	۱۴
۰	۳/۴ b	۲/۲	lgM	۲/۲	۱/۸
۱۰	۳/۶ b	۲/۴		۲/۴	۲
۲۰	۴/۲ b	۳		۲/۶	۲
۴۰	۵/۸ ab	۳/۲		۲/۸	۲/۲
احتمال معنی‌دار شدن	۰/۰۰۰۲	۰/۶۹۱۶		۰/۷۲۴۵	۰/۸۷۹۵
خطای معیار میانگین	۰/۳۱۶	۰/۳۶۷		۰/۳۸۷	۰/۳۴۶

سال۲۰۰۱ مطابقت دارد(۳،۱۱).

Bottje و همکاران در سال ۱۹۹۷ عنوان نمودند که افزودن ۸۷ میلیگرم به کیلوگرم ویتامین E نیز نتوانست تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی داشته باشد اما کاهش مصرف خوراک نسبت به تیمار کنترل مشهود بود. چون جیرهای تنظیمی هم انرژی بودند دستیابی به همچنین نتایجی همواره دور از ذهن نیست. طیور برای دستیابی به مواد مغذی مورد نیاز خود اقدام به پرخوری می‌کنند در صورت تعادل مناسب مواد مغذی در جیره مصرف خوراک نسبت به یک جیره‌ی نامتعادل کاهش پیدا می‌کند (۶). هر عاملی که سلامت حیوان را به مخاطره بیاندازد با تضعیف عمومی بدن و تحلیل عملکرد بافت‌های مختلف سبب کاهش رشد می‌شود. عوامل پاتوژن باعث می‌شود سیستم ایمنی پرنده تحریک و در نتیجه به جای این‌که مواد مغذی جهت ساختن پروتین در عضلات به کار رود در سیستم ایمنی پرنده مصرف می‌شود (۸). اثبات نقش ویتامین E در افزایش فعالیت ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها منجر به افزایش مقاومت بدن نسبت به عوامل بیماری‌زا شده و در نتیجه شرایط را برای رشد مطلوب پرنده مهیا می‌سازد (۱۹). عدم تأثیر سطوح مختلف ویتامین E بر وزن بورس و طحال مطابق با یافته‌های Gore و Qureshi در سال ۱۹۹۷ می‌باشد (۱۱)، با این حال توجه به میانگین‌های وزن بورس و طحال نشان می‌دهد که با افزایش مصرف ویتامین E وزن بورس و طحال روند رو به افزایشی را نشان می‌دهند که این روند از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.

مطابق با نتایج Bell و Freeman در سال ۱۹۷۱ با رسیدن به سن بلوغ، بورس شروع به تحلیل رفتن می‌کند که وزن طحال نیز از این قاعده مستثنی نیست به طوری‌که این عضو با شروع بلوغ و فعالیت اندام‌های جنسی شروع به تحلیل رفتن می‌کند، وزن کمتر آن در جوجه‌های ما نشان دهنده‌ی همین امر است (۴).

تیتر آنتی بادی ضد نیوکاسل در گروهی که ویتامین E بالایی دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد بالاتر بود که این موضوع در تحقیق

Friedman و همکاران در سال ۱۹۹۸ اشاره شده است (۸).

این موضوع موید این نکته است که در جوجه‌هایی که جیره ویتامین E بیشتری دریافت کردند تولید آنتی‌بادی بیشتری از خود نشان می‌دهند به‌نحوی که این ویتامین به‌عنوان یک کمک کننده و پیش برنده‌ی سیستم ایمنی مطرح می‌باشد (۲).

تراکم ویتامین E می‌تواند بر پروفیل ایکوزانوئیدها تأثیر داشته باشد، به‌نحوی که ویتامین E به‌عنوان یک تنظیم کننده‌ی مسیر لیپواکسیژناز و سیکلواکسیژناز مطرح می‌باشد. ایکوزانوئیدها تنظیم کننده‌ی سیستم ایمنی می‌باشند و ویتامین E تنظیم کننده‌ی این ایکوزانوئیدها، در نتیجه می‌تواند بر سیستم ایمنی تأثیر مثبت داشته باشد.

گزارش شده در اثر مصرف ویتامین E ایمنی محافظت کننده در برابر عفونت‌های اشرشیاکلی و نیوکاسل ایجاد می‌کند (۳،۲۰).

جوجه‌های که سطح بالایی از ویتامین E را دریافت کرده‌اند میانگین تام تیتر آنتی بادی علیه گلبول گوسفند، بیشتری را از خود نشان دادند. در تزریق اولیه حداکثر تیتر آنتی‌بادی در هفت روز بعد از تزریق آنتی ژن و در تزریق ثانویه نیز حداکثر تیتر آنتی‌بادی در هفت روز بعد از تزریق آنتی ژن بدست آمد. در مقایسه تزریق اولیه و ثانویه نیز میانگین تام تیتر آنتی بادی علیه گلبول گوسفند در هفت روز بعد از تزریق ثانویه بیشترین مقدار خود را دارا است.

تزریق ثانویه با پاسخ قوی‌تری همراه است که در نتیجه‌ی توسعه سیستم ایمنی می‌باشد و از این رو تفاوت‌ها در پاسخ ثانویه مشهودتر است. پاسخ قوی‌تر در تزریق ثانویه با تحقیقات Nelson و همکاران در سال ۱۹۹۵ و Kreukinet و Vender Zipp در سال ۱۹۹۹ مطابقت دارد، همچنین در تزریق ثانویه SRBC، تیتر قوی‌تری را نسبت به تزریق اولیه بدست آورده‌اند (۱۳،۱۸).

میانگین تام تیتر آنتی بادی علیه گلبول گوسفند در آزمایش انجام شده در تزریق دوم مقداری پائین‌تر از تیتر گزارش شده توسط منابع دیگر است (۵،۱۸) علت این تفاوت ممکن است به‌دلیل نحوه اعمال آنتی ژن، سن ایمنی سازی و زمینه ژنتیکی جوجه‌ها باشد، به‌طوری که نشان داده شده است که تزریق داخل رگی (I.V) تیتر بالاتری را نسبت به تزریق داخل عضلانی (I.M) یا داخل پریتونال (I.P) نشان می‌دهند، همچنین مشخص شد که افزایش دوز مصرف نیز بر تولید آنتی‌بادی اثر دارد و با افزایش درصد SRBC در محلول تزریقی می‌توان تیتر بالاتری را بدست آورد (۱۵،۲۰).

همچنین Kreukinet و Vender Zipp در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند که پاسخ ایمنی اولیه به دوز SRBC بستگی دارد (۱۳) همچنین اثر سن بر تولید آنتی‌بادی نیز گزارش شد به نحوی که Munns و همکاران در سال ۱۹۹۱ گزارش کردند که پاسخ مرغ‌های بالغ به تزریق SRBC به‌عنوان یک آنتی ژن وابسته به سلول‌های T که برای تولید آنتی‌بادی به سلول‌های T کمک کننده وابسته است بالاتر و قوی‌تر از جوجه‌ها می‌باشد (۱۶).

جوجه‌هایی که سطح بالایی از ویتامین E را دریافت کرده‌اند میانگین تیتر آنتی‌بادی حساس به ۲-مرکاپتواتانل بیشتری را از خود نشان دادند به طوری‌که در تزریق اول حداکثر تیتر در هفت روز بعد از تزریق آنتی ژن و در تزریق ثانویه نیز حداکثر تیتر در هفت روز بعد از تزریق آنتی ژن بدست آمد. در مقایسه بین تزریق اولیه و ثانویه، میانگین تیتر آنتی‌بادی حساس به ۲-مرکاپتواتانل (IgM) هفت روز بعد از تزریق اولیه بیشترین مقدار خود را دارا است. روند کاهشی بعد از تزریق ثانویه به‌دلیل افزایش سریع مقدار IgY خون می‌باشد که به‌عنوان یک عامل بازدارنده‌ی تولید IgM می‌تواند عمل کند، از این رو با افزایش تولید IgY در تزریق ثانویه، IgM روند کاهشی را پیش خواهد گرفت. در نتیجه کاهش تیتر آنتی‌بادی حساس به ۲-مرکاپتواتانل در فاز دوم تزریق به‌دلیل افزایش تیتر IgY می‌باشد که در تزریق دوم، آنتی‌بادی غالب پاسخ را تشکیل می‌دهد و اثر بازدارندگی بر تولید IgM دارد (۱۰).

کنتیک آنتی‌بادی مقاوم به ۲-مرکاپتواتانل (IgG) در تزریق اول حداکثر تیتر در ۱۴ روز پس از تزریق و در تزریق ثانویه حداکثر تیتر در هفت روز بعد از تزریق بدست آمد. در مقایسه بین تزریق اولیه و ثانویه حداکثر تیتر آنتی‌بادی در هفت روز بعد از تزریق ثانویه می‌باشد، که نتایج بدست آمده با تحقیقات Gore و Qureshi در سال ۱۹۹۷ مطابقت دارد (۱۱،۱۲).

نتایج

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد پاسخ سیستم هومورال مستقیماً تحت تأثیر ویتامین E قرار گرفت، در صورت استفاده از ویتامین E به منظور افزایش سیستم ایمنی در مرغداری‌های گوشتی، سطح ۴۰ میلیگرم به کیلوگرم جیره پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

در پایان از زحمات صمیمانه مدیریت محترم موسسه کشت و دام کنه بیست رضوی متعلق به آستان قدس رضوی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر و کلیه همکارانی که ما را یاری کردند تشکّر و قدردانی می‌نمائیم.

References

1. Abdollahi, A., Rosenholtz, N. S., Garvin. J. L. (1993) Tochopherol micro entraction method with application to quantitative analysis of lipophilic nutrients. J. Food Sci. 58:663-666.
2. Ambrosius, H., Headge, D. (1987) chicken immunoglobulins. Vet. Immunol. Immunopathol. 17:57-67.
3. Azza, A. A. E., Mohamed. Abou, F., Haitham ya Kout, M. (2001) Enhancement of Broiler performance and Immune response by α- tocopherol supplemented In diets. Pak. J. Biol. Sci. 8: 1029-1035.
4. Bell, D. J., Freeman, B. M. (1971) Physiolgy and Biochemisty of the Domestic Fowl. Academic Press. London, England. p. 985-1037.
5. Boa, Amponsem, K., Osulivan, N . P., gross, W. B., dunnigton, E. A., Siegel, P. B. (1991) Genotype, feeding regimen, and diet interaction in meat chicken. 3-general fitness. Poult. Sci. 70: 697-701.
6. Bottje, W. G., Bersi, F. ERF. K., Beers, K. W. (1997) Effect of dietary dl- α- tocopherol on tissue α- and γ-tocopherol and pulmonary hypertension syndrome (Ascites) in broiler. Poult. Sci.76:1506-1512.
7. Chen, J. Y., Latshaw, J. D., Lee, H. O., min. D. B. (1998) α- tocopherol content and oxidative stability of egg yolk as related to dietaryα- tocopherol J. Food Sci. 63:919-922.
8. Friedman, A., Bartov, I., Sklan, D. (1998) Humoral immune respons impairment following Excess vitamin E nutrition in the chick and turkey. Poult. Sci. 77: 956-962.
9. Galobart, J., Barroeta. A. C. (2001) α-tocopherol transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spray dried eggs enriched with w3 polyunsaturated fatty acid. J. Poult. Sci. 80:1496-1505.
10. Gobel, T. W. F. (1996) The T-dependent immune system. In: poulery immunology. T. F. Darison, T. R. Morris. and L. N. Poyne. (eds). poultry science symposium series. (Vol 24). Carfaxpublishining, Oxfordshine.U.K. p. 31-46.
11. Gore, A. B., Qureshi. M. A. (1997) Enhancment of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. Poult. Sci. 76: 984-991.
12. Kboa, S. price, Picard. M. (2000) Vitamin E and immune responses of broiler pureline chickens. Poult. sci. 79: 466-470.
13. Kreukinet, M., Vender zipp, I. (1999) Effect of different doses of sheep erythrocytes on the humeral immune response of chicken lines selected for high or low antibody production. Poult. Sci. 69:608-614.
14. Lerner, K. G., Glick, B., Mc duffie, F. C. (1971) Role of the bursa of faricius in IgG and IgM production in the chicken: Evidence for the role of a non bursa site in the development of humoral immunity. J. Immunol. 107: 493-530.
15. Leshchinsky, T. V., Klasing, K. C. (2003) Profile of chicken cytokines induced by lipopolysaccharide is modulated by Dietary α-tocopherol acetate. Poult. Sci. 52: 1260-1273.
16. Munns, P. L., Lamont, S. J. (1991) Research note: Effects of age and immunization interval on the anumnestic response to T-cell- dependent and T-cell-independent antigens in chickens. Poult. Sci. 70: 2371-2374.
17. Murat arslan, Ergul, E. (2001) The Effect of vitamin E on some blood parameters in broiler. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 25:711-716.
18. Nelson, N. A., Lakshmanan, N., Lanont, S. J. (1995) sheep red blood cell and bracella abortus antibody respons in chickens selected for multitrait immunocomopetecne. Poult. Sci. 74: 1603-1609.
19. Tingetdy, R. P. (1989) Vitamin E immune response and disease resistance. Ann. N. y. Acad. Sci. 570:335-344.
20. Van der Zipp, I. (1980) Genetic analysis of the humoral immune response of white leghorn chicks. Poult. Sci. 59: 1363-1369.

J. Vet. Res. 65, 3:239-244, 2010

THE EFFECT OF DIFFERENT LEVELS OF VITAMIN E ON HUMORAL IMMUNITY, AND PERFORMANCE IN BROILER CHICKS

Vakili, R.[1*], Daliri, R.[2]

[1]*Department of Animals Sciences, Islamic Azad University, Kashmar Branch, Kashmar- Iran.*

[2]*Graduated From Islamic Azad University, Kashmar Branch, Kashmar- Iran.*

(Received 10 March 2009 , Accepted 22 February 2010)

Abstract:

Vitamin E is known for its antioxidant properties and has been shown to modulate immune system in various species.An experiment with 240 one-day old Ross 308 male broilers was coducted to investigate the effects of 4 different levels of vitamin E (0,10,20 and 40 mg/kg) on performance and response of humoral immunity. Chicks at age of 15, 30 and 45 days were injected I.M. with 0.2ml of a 5% saline suspension of sheep red blood cell (SRBC). Blood samples were collected from each bird at 7 and 14 days of the second and third challenge.Afterwards, the 2-mercaptoethanol sensitive (2MES, presumably IgM) and 2-mercaptoethanol resistant (2MER, presumably IgG), Anti-SRBC antibody titers were determined using a microheamagglutination technique. Then chicks were slaughtered and their bursa of fabricius and spleens were weighted.The results of this study suggested that vitamin E has no significant effect on performance of broiler chicks such as body weight, feed intake and feed efficiency. There was a significant difference on total anti-SRBC-titter, 2-mercaptoethanol sensitive antibody titer (2-ME sensitive), anti-New Castle disease virus titter (NDV) in group which was given 40 mg/kg supplemented vitamin E compared to the control group($p<0.05$). 2-mercaptoethanol resistant antibody titter (2-ME resistant) and lymphatic organs (bursa of fabricius and spleen) weight were not under the effect of diet. Furthermore significant difference wasn`t observed between treatments.These results indicated that supplementation of vitamin E increases humoral immune responses.

Key words: broiler, vitamin E, immunity, heamagglutination, performance.

***Corresponding author's email:vakili@iaukhashmar.ac.ir, Tel: 0532-8250501 , Fax: 0532-8250520**