تاثیر بتاگلوکان مخمر بر انفجار تنفسی هتروفیل در جوجه‌های گوشتی

علی کارگری رضاپور[1*]، مهسا علی حسین مسلک[2]، سجاد سلیمانی[3]، افشین ذاکری[1]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، استادیار دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی، تبریز، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده کشاورزی، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، تبریز، ایران
۳.دانشگاه کردستان، دانشکده کشاورزی، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، سنندج، ایران
نویسنده مسئول مکاتبات: rezapour@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۱/۸/۲۵، پذیرش نهایی: ۹۱/۱۱/۱۱)

چکیده

امروزه تقویت سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی با افزودن مکمل‌های غذایی رویکرد جدید محققین است. به منظور بررسی اثر بتاگلوکان مخمر بر انفجار تنفسی هتروفیل (آزمایش احیای نیتروبلوتترازولیوم) به عنوان شاخصی از سیستم ایمنی ذاتی جوجه‌های گوشتی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از ۱٦۲ قطعه جوجه گوشتی یک روزه انجام گردید. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از: سطوح بتاگلوکان (به میزان صفر، ۰/۰٤٪ و ۰/۰۸٪ در جیره پایه) و فاکتور جنس (نر و ماده). در پایان دوره از تکرارهای تیمارهای مختلف آزمایش، نمونه خونی اخذ و آزمایش احیای نیتروبلوتترازولیوم انجام شد. نتایج آزمایش انفجار تنفسی نشان داد که سطح ۰/۰٤٪ بتاگلوکان در پایان دوره به طور معنی‌داری موجب افزایش میانگین انفجار تنفسی هتروفیل‌ها شد (p<۰/۰۵). همچنین، میانگین انفجار تنفسی در جنس نر نیز به‌طور معنی‌داری بیشتر از جنس ماده بود ولی، اثر متقابل دو فاکتور بتاگلوکان و جنس معنی‌دار نبود. بنابراین، استفاده از بتاگلوکان به میزان ۰/۰٤٪ جیره موجب بهبود سیستم ایمنی ذاتی طیور گوشتی می‌شود.

مجله آسیب‌شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۱۳۹۱، دوره ٦، شماره ٤، پیاپی ٢٤، صفحات: ۱۷۱۳-۱۷۰۹.
کلیدواژه‌ها: آزمایش انفجار تنفسی، بتاگلوکان مخمر، سیستم ایمنی ذاتی، هتروفیل

Archive of SID

مقدمه

افزایش قدرت سیستم ایمنی برای مقابله با بیماری‌های عفونی بسیار حائز اهمیت است. در سراسر جهان بیماری‌های عفونی به خاطر تلفات زیاد در حیوانات اهلی و ماکیان باعث نگرانی شده‌اند. در نتیجه، یکی از راه حل‌های بهبود ایمنی دام و کاهش ابتلا به بیماری‌های عفونی استفاده از محرک‌های سیستم ایمنی می‌باشد (Abdolkarimi and Daneshiar, 2010). با توجه به این که از ژوئن ۱۹۹۹ در اروپا مصرف آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در طیور ممنوع اعلام گردیده است (به خاطر باقی ماندن آنتی‌بیوتیک در گوشت مصرفی و نیز ایجاد مقاومت‌های دارویی در طیور و انسان) استفاده از ترکیبات طبیعی محرک رشد که کارآیی بسیار بالایی هم دارند، می‌تواند به‌عنوان یکی از بهترین جایگزین شونده‌ها برای آنتی بیوتیک‌های محرک رشد باشند (Zakeri, 2010).

سیستم ایمنی ذاتی مکانیسم دفاعی آنتی‌ژن غیر اختصاصی است که میزبان فوراً یا تحت چندین ساعت بعد از در معرض قرارگیری با میکروب از آن استفاده می‌کند. این نوعی از ایمنی

www.SID.ir

است که شخص با آن متولد می‌شود و پاسخ ذاتی بدن برای از بین بردن میکروب‌ها و محافظت در برابر عفونت است (Kaiser, 2011). هتروفیل خط نخستین دفاعی طیور گوشتی است (Redmond et al., 2009) و طبعاً تقویت عملکرد این سلول‌ها موجب تقویت سیستم ایمنی ذاتی جوجه‌های گوشتی خواهد شد. بتاگلوکان‌ها ترکیبات غیرسلولزی هستند که به عنوان عوامل قوی فعال‌کننده سیستم ایمنی معرفی شده‌اند و در ژاپن و چین حتی به‌صورت بالینی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. این مواد پیکره گلوکزی دارند که با اتصالات β۱→۳ گلیکوزیدی به هم متصل شده و دارای انشعابات β۱→٦ هستند (Chen and Seviour, 2007). با توجه به مطالعات گوناگونی که در زمینه بتاگلوکان انجام شده است این ماده از جمله مکمل‌های غذایی abiotic است که پاسخ ایمنی ذاتی جوجه‌های نابالغ را علیه پاتوژن‌های گوناگون افزایش می‌دهد (Lowry et al., 2005). بنابراین، در این تحقیق بر آن شدیم تا اثر بتاگلوکان مخمر بر انفجار تنفسی هتروفیل را به عنوان یکی از شاخص‌های سیستم ایمنی ذاتی در جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

تعداد ١٦٢ قطعه جوجه گوشتی سویه تجاری راس ٣٠٨ یک روزه شامل ٨١ قطعه جوجه نر و ٨١ قطعه جوجه ماده در قالب آزمایش فاکتوریل ٢×٣ بر پایه طرح کاملاً تصادفی برای بررسی اثرات سطوح مختلف بتاگلوکان (صفر، ٠/٠٤ و ٠/٠٨ درصد جیره پایه) مورد استفاده قرار گرفتند. فاکتورهای مورد آزمایش سطوح بتاگلوکان و جنس پرنده‌ها بود. جوجه‌ها به ٦ گروه ٢٧تایی تقسیم شدند و هر گروه در ٣ تکرار (قفس) مورد آزمایش قرار گرفتند. جیره‌های مصرفی توسط نرم افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم و اجرا شد (جدول ١). همه جوجه‌ها با جیره‌های حاوی انرژی و پروتئین مشابه اما دارای سطوح متفاوت صفر، ٠/٠٤ و ٠/٠٨ درصد بتاگلوکان در جیره پایه از یک تا سی و پنج روزگی تغذیه شدند. دسترسی جوجه‌ها به آب و غذا به‌صورت آزاد بود. شرایط پرورش، دما و رطوبت براساس نیازمندی‌های سویه راس طبق کاتالوگ تنظیم شد. نمونه خونی در روز ٣٥ آزمایش اخذ شد. در هر بار نمونه برداری ٢ قطعه جوجه از هر پن برداشت شده و ذبح گردید. سپس، از خون در حال خارج شدن از ورید گردنی نمونه‌برداری شده و هر نمونه در یک لوله آزمایش حاوی ٢ قطره ضد انعقاد هپارین جمع‌آوری شد. آزمایش انفجار تنفسی بر اساس روش کار ذکر شده در منابع (Chanarian, 1989; Gooi, 1990) به صورت زیر انجام گرفت:

١. مجاورت ١٠٠ میکرولیتر از نمونه خونی با ١٠٠ میکرولیتر محلول NBT (محلول بافر فسفات + NBT + فوربول١٢- میریستات ١٣- استات (PMA) که هر کدام به نسبت یکسان مخلوط شده‌اند) و محلول شاهد (محلولNBT فاقد PMA) به مدت ٣٠ دقیقه در ٣٧ درجه سانتی گراد.

٢. سانتریفوژ کردن در rpm ٢٠٠ به مدت ٥– ٣ دقیقه.

٣. تهیه گسترش از رسوب حاصل و رنگ‌آمیزی به روش گیمسا.

٤. شمارش درصد هتروفیل‌هایی که احیاء NBT در آنها صورت گرفته است (مشاهده دانه‌های سیاه در سیتوپلاسم سلول‌ها).

آنالیز آماری داده‌ها بر اساس طرح آزمایشی بکار رفته و با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. مقایسه میانگین داده-ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ٥٪ انجام گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ١- ترکیبات جیره مصرفی در دوره‌های مختلف پرورشی بر حسب کیلوگرم در تن خوراک مصرفی

ماده خوراکی	جیره آغازین‌روز ١٠-١	جیره رشد روز ٢٤-١١	جیره پایانی‌روز ٣٥-٢٥
ذرت دانه‌ای	٥٩٧/٩	٥٩١/٤	٦٦١/٥
کنجاله سویا	٣٣٤/٨	٣٣٥/٧	٢٧٨
گلوتن ذرت	٣٠	٠	٠
پودر چربی	١٤/٩	٣٠	٢٠/٥
دی کلسیم فسفات	٠	١٧/٥	١٥/٨
بی‌کربنات سدیم	٢/٦	٢/٢	٢/٦
کربنات کلسیم	٠	١١/٥	١٠/٦
مکمل معدنی	٢/٥	٢/٥	٢/٥
مکمل ویتامینه	٢/٥	٢/٥	٢/٥
نمک	٢/١	١/٩	١/٨
لیزین	٤/٣	١/٥	١/٤
متیونین	٣/٤	٢/٦	٢/٢
انرژی قابل متابولیسم	٢٩٨٠	٢٩٧٠	٣٠٠٠
پروتئین خام	٢١/٦٧	١٩/٨	١٧/٨٥

یافته‌ها

جدول ٢ نتایج تجزیه واریانس آزمایش انفجار تنفسی (NBT) را تحت تأثیر کاربرد تیمارها و تکرارها در روز ٣٥ دوره آزمایشی نشان می‌دهد. فاکتورهای بتاگلوکان و جنس هر کدام به تنهایی معنی‌دار شدند (p<٠/٠٥) ولی اثر متقابل این دو فاکتور معنی‌دار نبود (p >٠/٠٥). در مقایسه چند دامنه‌ای دانکن (جداول ٣ و ٤) سطح ٠/٠٤٪ بتاگلوکان در جیره آزمایشی با گروه شاهد و سطح ٠/٠٨٪ تفاوت معنی‌داری داشت (p<٠/٠٥). همچنین تفاوت میانگین آزمایش NBT در جنس نر و ماده معنی‌داری بود (p<٠/٠٥). در کل دوره آزمایشی (جدول ٥)، جوجه‌های نر تغذیه شده با سطح ٠/٠٤ درصد بتاگلوکان در جیره پایه آزمایشی در پایان دوره بالاترین میزان (NBT) را نشان دادند.

جدول ٢- جدول تجزیه واریانس آزمایش انفجار تنفسی (NBT) در تیمارهای مختلف آزمایش

Source	*DF*	*Mean Square*	*F Value*	*Pr > F*
BG	2	55.11	4.78	0.0158
Sex	1	469.44	40.70	<.0001
BG*Sex	2	35.11	3.04	0.0626

جدول ٣- مقایسه میانگین آزمایش انفجار تنفسی در سطوح مختلف بتاگلوکان

سطح بتاگلوکان	انحراف استاندارد	میانگین (٪)
صفر (شاهد)	١/٢٤	٤٦/١٧ [b]
٠/٠٤٪ جیره پایه	٢/٠٣	٤٩/٥٠ [a]
٠/٠٨٪ جیره پایه	١/٠٢	٤٥/٥٠ [b]

a,b: میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی-دار هستند (p<٠/٠٥).

جدول ٤- مقایسه میانگین آزمایش انفجار تنفسی در جنس‌های نر و ماده

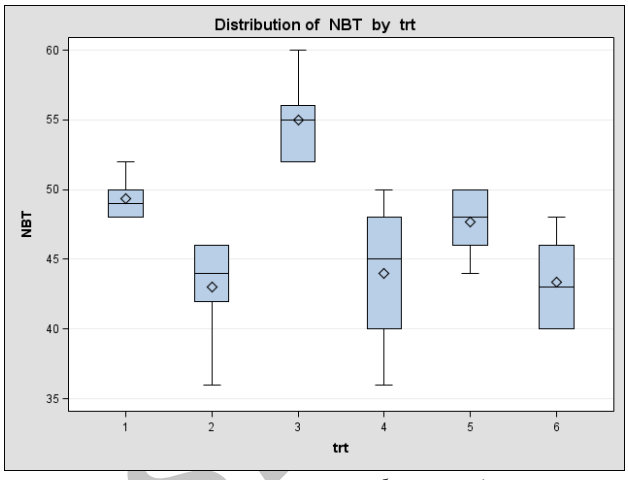
جنس	انحراف استاندارد	میانگین (٪)
نر	٠/٩٣	٥٠/٦٧ [a]
ماده	٠/٩٣	٤٣/٤٤ [b]

a,b: میانگین‌های باحروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌دار هستند (p<٠/٠٥).

جدول ٥- میانگین آزمایش انفجار تنفسی ترکیبات تیماری سطوح مختلف بتاگلوکان در جنس‌های نر و ماده

سطح بتاگلوکان	جنس	کد ترکیب تیماری	انحراف استاندارد	میانگین (٪)
صفر (شاهد)	نر	١	٠/٦٧	٤٩/٣٣
	ماده	٢	١/٥٢	٤٣/٠٠
٠/٠٤٪ جیره پایه	نر	٣	١/٢٣	٥٥/٠٠
	ماده	٤	٢/١٢	٤٤/٠٠
٠/٠٨٪ جیره پایه	نر	٥	٠/٩٥	٤٧/٦٧
	ماده	٦	١/٣٣	٤٣/٣٣

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ١- میانگین درصد آزمایش NBT در ترکیبات تیمارهای مختلف آزمایش (±**انحراف استاندارد**). کدترکیبات تیماری به شرح جدول **٥** می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

بتاگلوکان *ساکارومایسیس سروزیه* فعالیت هتروفیل را افزایش می‌دهد و به کشتن پاتوژن‌های مهاجم مانند سالمونلا توسط سلول‌های ایمنی کمک می‌کند (Lowry et al., 2008). تحقیقات مختلفی در خصوص اثر بتاگلوکان بر اجزای مختلف سیستم ایمنی انجام شده است. در تحقیقی که در مورد اثر بتاگلوکان‌ها بر رفتار تولیدمثلی خرگوش سفید نیوزلندی انجام گرفت، بتاگلوکان موجب کاهش واکنش ازدیاد حساسیت تأخیری، کاهش تولید IgG در اواخر آبستنی، افزایش تولید IgG و IgM در اواخر شیردهی شد (Chen et al., 2008). در تحقیقی در مورد اثر بتاگلوکان‌ها در ماهی‌ها سه جیره با مقادیر مختلف بتاگلوکان تغذیه شدند، در نهایت جیره دارای بتاگلوکان کم، بیشترین اثر در شاخص‌های رشد و نیز تقویت سیستم ایمنی ذاتی ماهی‌ها را داشت (Ai et al., 2007). در تحقیقی که در طیور گوشتی انجام شد استفاده از سطوح مختلف مخمر (٢/٥، ٥ و ٧/٥ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده مرغ) قابلیت هضم کلسیم و فسفر را افزایش داد. همچنین عیار آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل افزایش یافت. طبق نتایج این مطالعه، مکمل غذایی مخمر در سطح ٢/٥ gr/kgBW عملکرد رشد را افزایش داد (Gao et al., 2008). افزایش قدرت انفجار تنفسی هتروفیل‌ها که در سطح ٠/٠٤٪ بتاگلوکان در آزمایش جاری دیده شد در تطابق با نظر سایر مطالعات یاد شده می‌باشد ولی، افزایش غلظت بتاگلوکان جیره به ٠/٠٨٪ جیره پایه نتوانسته است موجب بهبود میانگین حتی در حد سطح ٠/٠٤٪ از بتاگلوکان گردد. به‌عبارت دیگر افزایش غلظت بتاگلوکان اثر معنی‌داری نداشته و با گروه شاهد در یک ردیف قرار گرفته است. اگرچه تحقیق در خصوص دوز تقویت کننده‌ها در سیستم ایمنی طیور هنوز در ابتدای مسیر است ولی مطالعه در سایر گونه‌های جانوری از جمله میگو بیانگر نوعی افت سیستم ایمنی متعاقب استفاده طولانی مدت یا دوز بالای مواد تعدیل‌گر سیستم ایمنی است که اصطلاحاً خستگی ایمنی (Immune Fatigue) نامیده می‌شود. به طور مثال مطالعه Sajeevan و همکاران (٢٠٠٨) که در خصوص استفاده از ٥ سطح بتاگلوکان (٠/٠٥ تا ٠/٤ درصد) در میگو انجام یافت، نشان داد که بهترین اثر مربوط به سطح ٠/٢ درصد بتاگلوکان است ($p<$٠/٠٥) و غلظت‌های بالاتر اثر کمتر و یا حتی فاقد اثر معنی‌دار می‌باشند. مطالعات قبلی Sajeevan و همکاران (٢٠٠٦) نیز مؤید وجود نوعی خستگی ایمنی است.

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش اخیر، افزودن ٠/٠٤٪ بتاگلوکان در جیره آزمایشی در روز ٣٥، بهترین تأثیر را بر عملکرد جوجه‌های گوشتی و سیستم انفجار تنفسی داشت ولی، اضافه کردن ٠/٠٨٪ این ماده و همچنین تیمار شاهد، تاثیر معنی‌داری در این خصوص نداشت.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

- Abdolkarimi, R. and Daneshiar, M. (2010). Effect of different levels of Thyme extract on immune system of broiler chickens. 4th Congress of Iran Animal Science, Agriculture Pardis and Tehran university of Natural Resources (Karaj) [In Farsi].
- عبدالکریمی، ر. و دانشیار، م. (١٣٨٩). بررسی اثرات سطوح مختلف عصاره آویشن باغی بر سیستم ایمنی جوجه های گوشتی. چهارمین کنگره علوم دامی ایران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (کرج).
- Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W., Xu, W. and Li, H. (2007). Effects of dietary beta-1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, Pseudosciaenacrocea. Fish & Shellfish Immunology, 22(4):394-402.
- Chanarian, I. (1989). Laboratory Haematology (An Accoun of Laboratory Techniques). Churchill Livingstone, 1th edition, pp. 177-178.
- Chen, J. and Seviour, R. (2007). Medicinal importance of fungal b-(1/3), (1/6)-glucans. Mycological research, III: 635–652.
- Chen, K.L., Weng, B.C., Chang, M.T., Liao, Y.H., Chen, T.T. and Chu, C. (2008). Direct enhancement of the phagocytic and bactericidal capability of abdominal macrophage of chicks by β-1,3–1,6- Glucan. Poultry Science, 87(11):2242-2249.
- Gao, J., Zhang, H.J., Yu, S.H., Wu, S.G., Yoon, I., Quigley, J., Gao, Y.P. and Qi, G.H. (2008). Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions. Poultry Science, 88(10):2141-2151.
- Gooi, H.G. and Chapel, H. (1990). Clinical immunology (a practicalapproach). Oxford University press, pp. 51-80.
- Kaiser, G. (2011). Innate immune system, in: http.faculty.ccbcmd.edu. Retrieved in: 05.01.2011.
- Lowry, V.K. (2005). Purified beta-glucan as an abiotic feed additive up-regulates the innate immune response in immature chickens against *Salmonella enterica*serovar*Enteritidi*. ScienceDirect, International Journal of food microbiology, 98(13):309-318.
- Redmond, S.B., Chuammitri, P., Andreasen, C.B., Palic, D., Lamont, S., Jdreasen, C.B. and Lamont, S.J. (2009). Chicken heterophils from commercially selected and non-selected genetic lines express cytokines differently after *invitro* exposure to *Salmonella enteritidis*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 132(2/4):129-134.
- Sajeevan, T.P., Philip, R. and Bright Singh, I.S. (2006). Immunostimulatory effect of marine yeast Candida sake S165 in Fenneropenaeusindicus. Aquaculture, 257(1–4):150-155.
- Sajeevan, T.P., Philip, R. and Bright Singh, I.S. (2008). Dose/frequency: A critical factor in the administration of glucan as immunostimulant to Indian white shrimp Fenneropenaeusindicus. Aquaculture, 287(3-4):248-252.
- Zakeri, A. (2010). Comparative study of Prebiotic, Antibiotic growth promoter, Probiotic, Yeast cell wall and Fayr acid on performance of broiler chickens. Journal of veterinary Tabriz Branch, Islamic Azad University, 4(1):721-722 [In Farsi].
- ذاکری، ا. (١٣٨٩). بررسی مقایسه‌ای اثر پری بیوتیک، آنتی بیوتیک محرک رشد، پروبیوتیک، دیواره سلولی مخمر و اسید فایر بر عملکرد جوجه‌های گوشتی. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ٤، شماره ١، صفحات ٧٢٢-٧٢١.

Archive of SID

www.SID.ir