مجله علمی-پژوهشی

علوم کشاورزی

سال دوازدهم، شماره (۱) ۱۳۸۵

تاثیر ویتامین‌های A و E بر روی پاسخ‌های سیستم ایمنی هومورال بدن در جوجه‌های تخمگذار تجارتی و جوجه‌های بومی خراسان

رضا بهاری کاشانی

دانشجوی دوره دکتری تخصصی گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

محمود شیوازاد

استاد گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

فریدون افتخاری شاهرودی

استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تاثیر ویتامین‌های A و E، بر روی مولفه‌های هومورال سیستم ایمنی جوجه‌های تخمگذار تجارتی و جوجه‌های بومی منطقه خراسان و مشخص ساختن مقدار نیاز آنها جهت فعالیت‌های ایمنی، انجام گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور ویتامین A در چهار سطح ۶۰۰۰، ۱۲۰۰۰، ۱۸۰۰۰ و ۲۴۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک و ویتامین E در چهار سطح ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۱۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک, با چهار تکرار و پنج جوجه یکروزه بومی و لگهورن در هر تکرار، انجام گرفت. میزان تیتر آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفند با روش هموآگلوتیناسیون و تیتر آنتی بادی علیه آنتی ژنهای ویروسهای آنفلوانزا و نیوکاسل با روش ممانعت از آگلوتیناسیون مورد آزمایش و اندازه‌گیری قرار گرفتند. میزان آنتی بادی علیه گلبول قرمز گوسفند، آنتی بادی علیه ویروسهای آنفلوانزا و نیوکاسل، به شکل معنی‌داری تحت تاثیر اثرات اصلی و متقابل ویتامین‌های A و E قرار گرفت ($p<۰/۰۵$). با افزایش میزان ویتامین‌های A و E مقدار پاسخ سیستم ایمنی نیز افزایش یافت و در سطح ۱۸۰۰۰ واحد بین‌المللی از ویتامین A بهترین پاسخ‌های سیستم ایمنی اندازه گیری شد اما در سطح ۲۴۰۰۰ واحد بین‌المللی از ویتامین A در خوراک توان سیستم ایمنی کاهش نشان داد. ویتامین E در سطح ۸۰ واحد بین المللی در کیلوگرم خوراک بهترین تاثیر را بر روی سیستم هومورال ایمنی نشان داد. بین گله‌های بومی و تجارتی در پاسخ سیستم ایمنی هومورال و تولید آنتی بادی بر علیه ویروس‌ها اختلاف معنی دار مشاهده نشد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که سیستم ایمنی هومورال به طور مستقیم تحت تاثیر غلظت ویتامین‌های A و E خوراک قرار دارد و بین ویتامین‌های A و E، اثر متقابل منفی بر روی پاسخ‌های دستگاه ایمنی وجود دارد. سطوح توصیه شده ویتامین‌های A و E در NRC (۱۹۹۴) به منظور ایجاد حداکثر توان سیستم ایمنی هومورال، کافی نیستند.

واژه‌های کلیدی: ویتامین A، ویتامین E، ایمنی هومورال، آنتی‌بادی، آنتی‌ژن، لگهورن، جوجه بومی خراسان

تاریخ دریافت مقاله ۸۴/۴/۱۵ تاریخ دریافت نسخه نهایی ۸۴/۷/۲۰

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

سازوکارهای دفاعی، در شرایط روبرو شدن با عوامل بیماری‌زا اولویت اول بدن در استفاده از مواد مغذی هستند و پرنده به منظور غلبه بر بیماری از حداکثر توان خود و مواد مغذی استفاده می‌کند. اگر برخی از مواد مغذی در حد کمتر از نیاز حیوان باشند، در زمان بروز بیماری مقدار کافی از ماده مغذی جهت مقابله با بیماری و تامین نیازهای کل بدن فراهم نخواهد بود. سیستم ایمنی هومورال نسبت به هر آنتی ژن خاص عکس‌العمل خاص خود را نشان می‌دهد (کاراکا[1] و همکاران ۱۹۹۹) .

با تحریک سیستم ایمنی توسط پروتئین خارجی می‌توان عکس‌العمل آنتی بادی بر ضد این پروتئین را مشاهد نمود. قدرت این آنتی بادی به عنوان شاخصی از توانایی سیستم هومورال در تحقیقات ایمونولوژیک دامی واکولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرد (چنگ[2] و همکاران ۱۹۹۱). میزان پاسخ سیستم ایمنی بر اساس تنوع ژنتیکی و نیز تنوع محیطی، که عامل تغذیه را نیز در بردارد، متغییر خواهد بود، سونسون[3] و سینرو[4] (۲۰۰۲). پاسخ قوی‌تر نشان دهنده قدرت بیشتر فرد در مقابل عامل بیماری‌زا خارجی است و بنابراین پاسخ آنتی بادی بدست آمده دارای همبستگی مثبت با مقاومت عمومی فرد در مقابل بیماری‌ها می‌باشد، سونسون و همکاران (۲۰۰۱). بنابراین با استفاده از مواد مغذی به میزان کافی، می‌توان این پاسخ را به حد بهینه رساند.

یو[5] (۱۹۹۴) اثر تنظیمی ویتامین E بر غلظت پروستاگلندین‌ها را بیان نمود. ویتامین E با جلوگیری از اکسیداسیون اسید آراشیدونیک و کاهش سنتز پروستاگلندین‌ها باعث بهبود عملکرد دستگاه ایمنی در طیور می‌گردد [لشچینسکی[6] و کلاسینگ[7] (۲۰۰۱)]. همچنین کرامر[8] و همکاران (۱۹۹۱) افزایش سرعت تکثیر لمفوسیتها در حیوانات اهلی را در نتیجه افزایش غلظت ویتامین E خوراک گزارش کردند.

ویلاورده[9] و همکاران (۲۰۰۴) اثر غیر مستقیم ویتامین E را برای سیستم ایمنی بررسی کردند. در این تحقیق اثر ویتامین E در حفظ ساختار اسیدهای چرب غیر اشباع جیره بررسی شد و با توجه به اینکه اسیدهای چرب غیر اشباع جیره (PUFA)[10] موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی هستند، ویتامین E از این طریق باعث بهبود پاسخ سیستم ایمنی گردید. تحقیقاتی که توسط سل[11] (۱۹۹۶) برای مقدار مصرف ویتامین E درجیره‌های تجارتی طیور گوشتی انجام شده، نشان می‌دهد که در صنعت به طور معمول مقادیری حدود ۲۰٪ بیش از مقدار ویتامین E توصیه شده NRC (۱۹۹۴)، مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما با وجود تحقیقات انجام شده بر روی ویتامین E، هنوز از نظر مقدار استفاده از این ویتامین در جیره‌های غذایی طیور جهت رسیدن به بهترین وضیت پاسخ سیستم ایمنی ابهام وجود دارد [سل و همکاران (۱۹۹۷)، فرایدمن[12] و همکاران (۱۹۹۸)].

راس[13] (۱۹۹۲) نشان داد که تولیی آنتی‌بادی‌ها در جوجه‌هایی که ویتامین A کافی دریافت نکرده بودند کمتر از جوجه هایی است که با مقدار مناسب ویتامین A تغذیه شده بودند و افزودن ویتامین A در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی برروی سیستم ایمنی سلولی و هومورال تاثیر میگذارد . اسکلان[14] و داناهیو[15] (۱۹۸۲) نشان دادند که افزودن ویتامین A خوراک باعث افزایش آنتی‌بادی در مقابل

1. Karaca
2. Cheng
3. Svensson
4. Sinervo
5. Yu
6. Leshchinsky
7. Klasing
8. Kramer
9. Villaverde
10. Poly unsaturated fatty acid
11. Sell
12. Friedman
13. Ross
14. Sklan
15. Donoghue

Archive of SID

www.SID.ir

آبله ونیوکاسل می‌گردد. راس (۱۹۹۲) نشان داد که افزودن ویتامین A می‌تواند باعث افزایش تولید سیتوکین از نوع لمفوکین[1]، تکثیرلمفوسیت‌ها، افزایش فعالیت سلول‌های NK و فاگوستیوز گردد. سیتسما[2] و همکاران (۱۹۸۹) نشان دادند که کمبود ویتامین A باعث افزایش تلفات بیماری نیوکاسل می‌گردد. دیویس[3] و سل (۱۹۸۳)، رشد کمتر تیموس و غده بورس را در اثر کمبود ویتامین A در جوجه‌های گوشتی نشان دادند. تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که مقادیر بالای ویتامین A در خوراک باعث کاهش غلظت آلفاتوکوفرول در پلاسما و بافت‌های ذخیره‌ای طیور می‌گردد [پودلکیویز[4] و همکاران (۱۹۶۴)، کومبز[5] و اسکات[6] (۱۹۷۴)، ابوی[7] و سولیوان[8] (۱۹۸۹)]. بر خلاف این حالت,برخی محققین نشان داده‌اند که افزودن ویتامین E بیش از دو برابر نیاز جیره غذایی طیور، باعث کمبود ویتامین A در بدن می‌گردد [مک کویگ[9] و موتزوک[10] (۱۹۷۰) و اسکلان و داناهیو (۱۹۸۲)]. آبورتو[11] و بریتون[12] (۱۹۹۸a) نشان دادند که با افزایش مقدار ویتامین E در جیره جوجه‌های گوشتی مقدار ویتامین A در مخزن ذخیره این ویتامین در بدن که کبد می‌باشد، کاهش می‌یابد. همچنین غلظتهای بالای ویتامین A (۱۵۰۰۰ و ۴۵۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک) باعث کاهش غلظت ویتامین E در کبد و پلاسما گردید (b ۱۹۹۸).

مواد و روشها

تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه تخمگذار تجارتی لگهورن سویه‌های لاین W36 و تعداد ۳۲۰ عدد جوجه‌های بومی منطقه خراسان از مرکز پرورش و اصلاح نژاد مرغ بومی شرق کشور در سن یک روزگی تعیین جنسیت و جدا سازی گردیدند. جوجه مرغ‌ها در محل کارخانه جوجه‌کشی واکسن مارک دریافت کردند. در سن ۱ روزگی در محل انجام آزمایش واکسن برونشیت سویه H120 اسپری گردید. جوجه‌ها در ناحیه ساق شماره‌گذاری گردیدند و بصورت تصادفی در ۱۲۸ قفس پنج‌تایی تقسیم شدند و به این ترتیب هر جیره داری ۴ تکرار از هر نژاد و هر تکرار دارای ۵ جوجه گردید و جوجه‌ها بر روی بستر و با استفاده از جیره تامین کننده نیازهای رشد سنین صفر تا شش هفته با ترکیب جدول شماره ۱ تغذیه گردیدند. ترکیب مواد مغذی و انرژی جیره در جدول ۲ ارایه گردیده است.

با توجه به اینکه مواد خوراکی موجود در جیره به شکل طبیعی دارای مقادیری از ویتامین‌های A و E می‌باشند، مقدار این دو ویتامین باHPLC[13] اندازه‌گیری شد و به منظور تامین ویتامین‌های هر جیره آزمایشی، تا رسیدن به میزان مورد نظر ویتامین‌های A, E افزوده گردید. جیره‌های مورد نظربه ترتیب جدول ۳ تهیه گردیدند.

سطوح ویتامین A در سطح ۶۰۰۰ (توصیه NRC[14])، سطح ۱۲۰۰۰(سطح مصرف تجاری[15])، سطح ۱۸۰۰۰ (۳ برابر توصیه NRC ۱۹۹۴) و ۲۴۰۰۰ (۴ برابر توصیه NRC ۱۹۹۴) انتخاب گردیدند و نیز با توجه به منابع مورد بررسی سطوح ویتامین E بیش از توصیه NRC ۱۹۹۴ (۱۰ واحد بین‌المللی به ازای هر کیلوگرم) خوراک انتخاب شد و به منظور مشخص ساختن حد مطلوب

1. Lymphokine
2. Sijtsma
3. Davis
4. Pudelkiewicz
5. Combs
6. Scott
7. Abawi
8. Sullivan
9. McCuaig
10. Motzok
11. Aburto
12. Britton
13. Perkin Elmer silica column, 344nm
14. National Research Council (1994)
15. Hy-line W36 commercial management guide (2003)

Archive of SID

www.SID.ir

استفاده از ویتامین E تا ۴ برابر افزایش داده شد. به این ترتیب هر کدام از فاکتورهای A و E دارای چهار سطح و تعداد جیره‌های غذایی ۱۶ جیره گردید.

استفاده از آنتی ژن

آنتی ژنهای نیوکاسل(ND) و آنفلوانزا (AI) با استفاده از واکسن دوگانه نیوکاسل - آنفلوانزا روغنی[1] د رسن ۱۲ روزگی به جوجه‌ها تزریق گردید. در سن ۴۰ روزگی (چهار هفته پس از تزریق آنتی ژن) خونگیری از سیاهرگ بال جوجه‌ها به تعداد یک نمونه از هر تکرار، جمعا بر روی ۱۲۸ نمونه انجام گردید و سرم هر نمونه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جداسازی گردید. با استفاده از کیت ممانعت از هم‌اگلوتیناسیون[2] غلظت آنتی بادیهای تولید شده بر ضد آنتی ژنهای نیوکاسل و آنفلوانزا اندازه‌گیری گردید و بر اساس $\log_2$ (لگاریتم نسبت رقیق کردن سرم در مبنای ۲) محاسبه گردید. محاسبات برای هرکدام از آنتی‌ژنهای ND و AI و برای هر کدام از جوجه‌های بومی و تجارتی بصورت جداگانه انجام گردید. در این روش نمونه‌های سرم خون در میکروپلیت های ۹۶ تایی به میزان ۱۰۰ میکرولیتر ریخته شد و به صورت پلکانی تا ۱۰ مرتبه با محلول سالین رقیق گردید و با انتی ژن مربوط به هر ویروس مخلوط گردید و بمدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس گلبول قرمز طیور که قبلا از همین گله ها تهیه و شستشو داده شده بود، به آن اضافه گردید و بمدت ۳۰ دقیقه دیگر در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری گردید و سپس شماره حفرههایی از میکروپلیت که در آنها آگلوتیناسیون قابل مشاهده بود به نسبت $\log_2$ گزارش گردید [آنون[3] (۱۹۷۱)].

آنتی ژن SRBC[4]

در این آزمایش ازاریتروسیت‌های گوسفند به عنوان آنتی ژن تحریک کننده سلول‌های T استفاده گردید. جهت استخراج گلبول‌های قرمز گوسفند، خونگیری از گوسفند در محلول سیترات سدیم ۳/۸٪ (برای جلوگیری از انعقاد) انجام گردید . سپس گلبول‌های قرمز گوسفند سه بار توسط بافر سالین فسفاته(PBS)[5] شستشو داده شد. سپس سوسپانسیون ۷٪ گلبولهای قرمز گوسفند در PBS به میزان یک میلی لیتر به سیاهرگ بال تزریق گردید. ۱۴ روز پس از تزریق SRBC خونگیری از سیاهرگ بال انجام شد و سرم نمونه های خون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد جداسازی گردید. با استفاده از روش هم‌اگلوتیناسیون غلظت آنتی بادیهای تولید شده بر ضد SRBC اندازه‌گیری گردید. در این روش نیز از نمونه های سرم خون در میکروپلیت‌های۹۶ تایی به میزان ۷۵ میکرولیتر ریخته شد و به صورت پلکانی تا ۱۰ مرتبه رقیق گردید و با گلبول قرمز جمع‌آوری شده از همان گوسفند که گلبولهای قرمز تزریق شده به جوجه‌ها از آن تهیه شده بود، مخلوط گردید و بمدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. سپس شماره حفره‌هایی از میکروپلیت که در آنها آگلوتیناسیون قابل مشاهده نبود به نسبت $\log_2$ گزارش گردید. این آزمایش نیز به صورت جداگانه بر روی جوجه‌های بومی و جوجه‌های تخمگذار انجام گرفت [کورشی[6] و همکاران (۲۰۰۴)].

تجزیه آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل $۴^۲$ در قالب طرح کاملا تصادفی[7] انجام گردید. دو فاکتور عبارتند از ویتامین A و ویتامین E و هرکدام از فاکتورها دارای ۴ سطح می باشند.

1. Newpasol 102 from Pasouk Biological Research & Manufacturing company
2. Hemagglutination Inhibition
3. Anon
4. Sheep Red Blood Cells
5. Phosphate Buffered Salin
6. Qureshi
7. complete random design

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه آماری توسط نرم افزار آماری JMP[1] و مقایسات میانگینها با روش توکی انجام پذیرفت.
به منظور ارزیابی اختلاف بین جوجه های بومی و لگهورن نسبت به عکس العمل سیستم ایمنی هومورال به غلظتهای مختلف ویتامین‌های A و E ، نتایج بدست آمده به صورت نستد[2] با اثرات ویتامین A (گله)، ویتامین E (گله)، ویتامین A × ویتامین E (گله) و اثر گله مورد تجزیه قرار گرفت.

نتایج و بحث

همانگونه که جداول ۴ و ۵ ملاحظه می‌گردد اثر مدل به دست آمده از تاثیر ویتامین‌های A و E بر روی عکس‌العمل جوجه‌های بومی و لگهورن در مقابل تزریق گلبولهای قرمز گوسفند، معنی‌دار است. مشاهده می شود که با افزایش غلظت ویتامین A از ۶۰۰۰ به ۱۲۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک افزایش معنی‌داری در عکس العمل سیستم ایمنی هومورال وجود ندارد اما با افزایش به سطح سوم این فاکتور (۱۸۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک) بیشترین تولید آنتی بادی بر ضد SRBC مشاهده گردید که نشان از غلظت مناسب ویتامین A بر روی این پاسخ سیستم ایمنی می‌باشد. مشابه همین نتایج در آزمایش‌های انجام شده با آنتی ژنهای AI و ND مشاهده می‌گردد. تاثیر ویتامین A بر روی سیستم ایمنی هومورال در موش توسط فریدمن[3] و اسکلان (۱۹۸۹) بررسی گردید و موثر بودن تاثیر آن ثابت شد.

مکانیسم عمل ویتامین A از طریق تاثیر بر تمایز لمفوسیتهای B و تولید آنتی بادی از این گروه از گلبولهای سفید می‌باشد. مکانیسم دیگر (تاثیر مثبت) ویتامین A بر روی سیستم ایمنی هومورال توسط لزارد[4] و همکاران (۱۹۹۷) در آزمایش بر روی موش‌ها اینگونه بیان شده است که افزایش غلظت ویتامین A در خوراک می‌تواند باعث افزایش نسبت سلولهای T دارای گیرندههای CD4 نسبت به سلولهای T دارای گیرنده‌های CD8 گردد و این امر موجب ترشح بیشتر سیتوکینها در سیستم ایمنی و فعالیت بیشتر لمفوسیتهای B در پی ترشح سیتوکینها گردد. فریدمن و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند که افزودن ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین A باعث کاهش توان ایمنی در مقابله با اشرشیا کلای[5] می‌گردد. همچنین فریدمن و اسکلان (۱۹۸۹) بیان نمودند، که مصرف ویتامین A در غلظت‌های زیاد باعث کاهش تکثیر *invitro* لمفوسیتهای T و کاهش تیتر آنتی بادی نسبت به سرم گاو می‌گردد.

ویتامین E نیز دارای تاثیر معنی‌دار بر روی آنتی بادی تولید شده بر ضد SRBC، AI و ND بود که نتایج بدست آمده در تحقیقات پیشین را تایید می‌کند [لشچینسکی و کلاسینگ (۲۰۰۱)]. همانگونه که در جداول ۴ و ۵ ملاحظه می‌شود، با افزایش غلظت ویتامین E از ۲۰ به ۵۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک تغییر در غلظت آنتی بادی معنی‌دار نیست اما با رسیدن به غلظت ۸۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک افزایش معنی‌دار در غلظت آنتی بادی مشاهده می‌شود و این اختلاف در غلظت ۱۱۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک نیز حفظ شده است که به این ترتیب می‌توان سطح سوم فاکتور ویتامین E (۸۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک) را به عنوان سطح مناسب در تغذیه طیور بومی و لگهورن جهت رسیدن به بهترین میزان پاسخ سیستم ایمنی هومورال توصیه نمود. سطح چهارم ویتامین E پاسخ کمتری نسبت به سطح سوم (۸ واحد بین‌المللی ویتامین E در کیلوگرم خوراک) نشان می‌دهد که می‌توان آن را به دلیل اثر معکوس غلظت بیش از حد ویتامین E بر روی سیستم ایمنی بیان نمود. تورنتون[6] و همکاران(۱۹۹۵) نشان دادند که چگونه آلفا توکوفرول با افزایش غلظت در سلول‌های صاف عضلانی در مجاورت

1. JMP Copyright © 1989 - 2001 SAS Institute Inc.
2. nested
3. Friedman
4. Lessard
5. *Escherichia coli*
6. Thoronton

Archive of SID

www.SID.ir

اسید آراشیدونیک به یک عامل اکسید کننده تبدیل می‌شود. این مکانیسم در متابولیسم LDL در انسان و نیز در ماهیها مشاهده شده است و در غلظتهای بالا آنتی اکسیدانها به موادی اکسید کننده بدل می شوند و در سیستم ایمنی طیور، این ویژگی باعث کاهش میزان تولید آنتی بادی خواهد گردید[اسکلان و همکاران (۱۹۸۳)]. ملاحظه می شود که سطوح دوم و سوم و چهارم از ویتامین E (۵۰ و ۸۰ و ۱۱۰ واحد بین المللی در کیلوگرم خوراک) نسبت به غلظت ۲۰ واحد بین المللی در کیلوگرم خوراک ویتامین E به میزان معنی داری اثر بهتری بر روی پاسخ سیستم ایمنی هومورال در مقابل این آنتی ژن خاص نشان داده اند. هرچند که سطح چهارم از نظر عددی کاهش نشان میدهد اما اختلاف آن با توصیه NRC (۱۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک) و کاربرد تجاری این ویتامین در صنعت پرورش طیور (۲۰ واحد بین المللی در کیلوگرم خوراک) معنی‌دار است. مکانیسم دیگر تاثیر ویتامین E بر سیستم ایمنی هومورال توسط ارف[1] و همکاران (۱۹۹۸) در جوجه های گوشتی بررسی شد و بیان کردند که افزودن ویتامین E به خوراک باعث افزایش تولید سلولهای +TCR2 که مولد لمفوسیتهای CD4 T هستند، می‌گردد و از این طریق باعث فعالیت بیشتر لمفوسیتهایB و بهبود پاسخ سیستم ایمنی هومورال می‌گردد.

همانگونه که در جدول‌های ۴ و۵ (آزمون اثرات) ملاحظه می شود، ویتامین‌های A و E در این پاسخ نیز بر روی یکدیگر اثر متقابل و کاهشی دارند. با توجه به اینکه هر دو ویتامین از ویتامین‌های محلول در چربی هستند و در مراحل جذب و انتقال و ذخیره سازی با یکدیگر رقابت دارند, میتوان انتظار داشت که تیمارهای دارای سطوح بالای هر دو فاکتور نمی توانند اثر قابل انتظار را نشان دهند. به این ترتیب تاثیر منفی ویتامین‌های A و E با یکدیگر بر روی سیستم ایمنی طیور قابل ذکر است. در جدول‌های ۴ و ۵ ملاحظه می‌گردد که تیمارهای سطوح دوم، سوم و چهارم هر دو فاکتور اثرات بهتری را نمایش می‌دهند اما تیمار تشکیل شده از سطوح چهارم هر دو فاکتور احتمالا به دلیل سمیت این غلظت از ویتامین A بر روی سیستم ایمنی و نیز اثر آنتاگونیستی ویتامین‌های A و E، به شکل معنی‌داری پاسخ کمتری رانسبت به سطوح سوم و حتی دوم نشان می‌دهد که این اثر سمیت را لزارد و همکاران نیز (۱۹۹۷) گزارش کرده‌اند.

اطلاعات بدست آمده از دو آزمایش اندازه‌گیری تیتر HA نسبت به آنتی ژن SRBC از نظر آماری یکسان گردید و به منظور ارزیابی اختلاف بین جوجه های بومی و لگهورن به صورت nested مورد تجزیه آماری قرار گرفت.

همانگونه که در جدول شماره ۶ مشاهده می‌شود اثر گله در این آزمایش معنی‌دار نیست و از نظر آماری اختلافی بین دو گله از نظر تاثیرپذیری سیستم ایمنی هومورال از ویتامین‌های A و E وجود ندارد.

بهترین غلظت‌های بدست آمده ویتامین‌های A و E جهت توصیه استفاده در پرورش نیمچه‌های تخم‌گذار تجارتی سویه‌های لاین و نیز مرغهای بومی منطقه خراسان مقدار ۱۸۰۰۰ واحد بین المللی در کیلوگرم خوراک ویتامین A و ۸۰ واحد بین المللی در کیلوگرم خوراک ویتامین E می باشدکه این مقادیر برای رسیدن به سطح بهینهٔ توان سیستم ایمنی هومورال کافی خواهد بود و توصیه می شود حداقل در زمان انجام واکسیناسیون و موارد بروز همه گیری بیماریهای طیور این مقادیر از ویتامین‌های A و E در خوراک تامین گردند و با توجه به هزینه اندک استفاده از افزودنیهای ویتامینی در خوراک ، از بروز و انتشار بیماریها جلوگیری به عمل آید. حقیقت جالب توجه دیگر بدست آمده در این تحقیق، عدم مشاهده اختلاف بین جوجه‌های تخمگذار اصلاح شده لگهورن و جوجه‌های بومی منطقه خراسان بود که ما را قادر می سازد، یافته‌های علمی در زمینه تغذیه و سیستم ایمنی طیور در سطح بین‌المللی را نسبت به جوجه‌های بومی منطقه تعمیم دهیم و از دستاوردهای جدید در جهت بهبود سیستمهای پرورش جوجه‌های بومی استفاده نماییم.

1. Erf

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۱- ترکیب جیرهٔ غذایی مورد استفاده

ماده غذایی	٪
ذرت	۶۵/۶۹
سویا	۲۸/۴۲
پودر ماهی(CP ۶۱/۳)	۲/۲۲
دی کلسیم فسفات	۱/۷۲
کربنات کلسیم	۱/۲۳
نمک	۰/۳۸
DL- متیونین	۰/۱۴
مکمل ویتامینی*	۰/۱
مکمل معدنی**	۰/۱

* مکمل ویتامینی بکار برده شده به صورت اختصاصی فاقد ویتامین‌های A و E و به صورت پرمیکس ۱ کیلوگرم در تن تهیه گردید و دارای مقادیر زیر به ازای میلی گرم در کیلوگرم می‌باشد: تیامین ۱/۵، ریبوفلاوین ۵، پنتوتنیک اسید ۱۰، نیکوتینیک اسید ۳۰، پیریدوکسین هیدروکلراید ۳، اسید فولیک ۰/۵۵ سیانوکبال آمین ۰/۴۵، بیوتین ۷/۵ ، کولین کلراید ۲۵۰، کوله کلسیفرول ۲، منادیون سدیم دی سولفات ۱/۶، BHT ۰/۴

** مکمل معدنی به کار برده شده دارای این مقادیر (میلی گرم در کیلوگرم) می‌باشد: منگنز ۸۰ ، روی ۵۰، آهن ۱۰۰، مس ۱۰، سلنیوم ۰/۲، ید ۰/۴ به شکل اختصاصی تهیه گردید..

جدول شماره ۲: مواد مغذی موجود در جیرهٔ غذایی مورد استفاده

ماده مغذی	
ترکیبات انداز گیری شده:	
پروتین ٪	۱۹/۲
فیبر خام ٪	۳/۴
کلسیم	۱/۱
فسفر کل ٪	۰/۷۵
ترکیبات محاسبه شده: ***	
انرژی متابولیسمی (kcal/kg)	۲۹۰۰
سدیم ٪	۰/۱۸
پتاسیم ٪	۰/۷۷
لینولئیک اسید ٪	۱/۵۷
لیزین ٪	۰/۹۸
متیونین ٪	۰/۴۲

*** NRC ۱۹۸۴

جدول شماره ۳: سطوح مورد استفاده ویتامین A و ویتامین E

	سطح اول	سطح دوم	سطح سوم	سطح چهارم
سطوح ویتامین A (واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک)	۶۰۰۰	۱۲۰۰۰	۱۸۰۰۰	۲۴۰۰۰
سطوح ویتامین E (واحد بین‌المللی در کیلوگرم خوراک)	۲۰	۵۰	۸۰	۱۱۰

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شمارهٔ ۴: اثرات مقادیر مختلف ویتامین‌های A و E بر روی پاسخ ایمنی هومورال در جوجه های بومی

ویتامینA (IU/kg)	ویتامینE (IU/kg)	HA(SRBC)	AI	ND
۶۰۰۰	۲۰	۳/۵۰۰ d	۳/۵۰۰ e	۳/۷۵۰ d
۶۰۰۰	۵۰	۵/۰۰۰ bcd	۵/۲۵۰ cd	۴/۵۰۰ bcd
۶۰۰۰	۸۰	۵/۲۵۰ abc	۵/۷۵۰ abc	۶/۰۰۰ abc
۶۰۰۰	۱۱۰	۶/۰۰۰ abc	۷/۰۰۰ ab	۵/۶۶۶ abcd
۱۲۰۰۰	۲۰	۴/۷۵۰ bcd	۳/۵۰۰ e	۴/۲۵۰ cd
۱۲۰۰۰	۵۰	۵/۲۵۰ abc	۴/۶۶۶ cde	۵/۲۵۰ ab
۱۲۰۰۰	۸۰	۷/۰۰۰ a	۷/۰۰۰ ab	۶/۳۳۳ ab
۱۲۰۰۰	۱۱۰	۵/۲۵۰ abc	۷/۳۳۳ a	۶/۲۵۰ ab
۱۸۰۰۰	۲۰	۶/۰۰۰ abc	۵/۰۰۰ cde	۵/۳۳۳ abcd
۱۸۰۰۰	۵۰	۶/۰۰۰ abc	۶/۶۶۶ ab	۶/۰۰۰ abc
۱۸۰۰۰	۸۰	۶/۲۵۰ ab	۶/۳۳۳ abc	۷/۰۰۰ a
۱۸۰۰۰	۱۱۰	۶/۷۵۰ a	۶/۶۶۶ ab	۶/۲۵۰ ab
۲۴۰۰۰	۲۰	۵/۰۰۰ bcd	۵/۳۳۳ bcd	۶/۰۰۰ abc
۲۴۰۰۰	۵۰	۴/۵۰۰ bc	۵/۶۶۶ abcd	۵/۷۵۰ abc
۲۴۰۰۰	۸۰	۴/۳۳۳ bc	۵/۲۵۰ bcd	۶/۳۳۳ ab
۲۴۰۰۰	۱۱۰	۴/۵۰۰ bcd	۴/۰۰۰ de	۴/۵۰۰ bcd
اثرات اصلی				
ویتامینA				
۶۰۰۰ (IU/kg)		۴/۶۹۳ b	۵/۱۲۵ b	۴/۹۳۳ b
۱۲۰۰۰ (IU/kg)		۵/۴۶۶ b	۵/۵۶۲ ab	۵/۴۶۶ ab
۱۸۰۰۰ (IU/kg)		۶/۴۰۰ a	۵/۹۷۹ a	۶/۱۵۳ a
۲۴۰۰۰ (IU/kg)		۴/۷۳۳ b	۵/۱۲۵ b	۵/۶۰۰ ab
ویتامینE				
۲۰ (IU/kg)		۴/۵۸۳ b	۴/۴۰۰ b	۴/۸۰۰ c
۵۰ (IU/kg)		۵/۰۰۰ ab	۵/۴۰۰ a	۵/۳۳۳ bc
۸۰ (IU/kg)		۵/۷۱۴ a	۶/۰۰۰ a	۶/۳۸۴ a
۱۱۰ (IU/kg)		۵/۶۹۲ a	۵/۸۶۶ a	۵/۶۶۶ ab
تجزیه واریانس	d.f.	(P)		
ویتامینA	۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۵۳۹	۰/۰۰۳۵
ویتامینE	۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
ویتامینA × ویتامینE	۹	۰/۰۰۱۰	۰/۰۰۱۰	۰/۰۰۶۴

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شمارهٔ ۵: اثرات مقادیر مختلف ویتامین‌های A و E بر روی پاسخ ایمنی هومورال در جوجه های لگهورن

ویتامین A (IU/kg)	ویتامین E	HA(SRBC)	AI	ND
۶۰۰۰	۲۰	۳/۷۵۰ d	۳/۷۵۰ c	۴/۰۰۰ d
۶۰۰۰	۵۰	۴/۷۵۰ bcd	۴/۲۵۰ bc	۴/۷۵۰ bcd
۶۰۰۰	۸۰	۶/۵۰۰ a	۶/۰۰۰ abc	۶/۶۶۶ ab
۶۰۰۰	۱۱۰	۵/۳۳۳ abcd	۶/۵۰۰ a	۵/۵۰۰ abcd
۱۲۰۰۰	۲۰	۴/۲۵۰ cd	۳/۵۰۰ c	۴/۰۰۰ cd
۱۲۰۰۰	۵۰	۵/۵۰۰ abc	۵/۶۶۶ abc	۶/۳۳۳ abcd
۱۲۰۰۰	۸۰	۵/۰۰۰ abcd	۶/۰۰۰ abc	۶/۳۳۳ abcd
۱۲۰۰۰	۱۱۰	۵/۶۶۶ abc	۶/۰۰۰ abc	۶/۰۰۰ abcd
۱۸۰۰۰	۲۰	۵/۷۵۰ abc	۶/۰۰۰ abc	۵/۲۵۰ abcd
۱۸۰۰۰	۵۰	۶/۰۰۰ ab	۷/۰۰۰ a	۶/۰۰۰ abcd
۱۸۰۰۰	۸۰	۶/۵۰۰ a	۶/۰۰۰ abc	۷/۲۵۰ a
۱۸۰۰۰	۱۱۰	۶/۰۰۰ ab	۶/۰۰۰ abc	۶/۵۰۰ abc
۲۴۰۰۰	۲۰	۶/۰۰۰ ab	۵/۶۶۶ abc	۵/۳۳۳ abcd
۲۴۰۰۰	۵۰	۶/۵۰۰ a	۳/۶۶۶ c	۴/۶۶۶ bcd
۲۴۰۰۰	۸۰	۵/۰۰۰ abcd	۶/۵۰۰ a	۵/۰۰۰ bcd
۲۴۰۰۰	۱۱۰	۴/۷۵۰ bcd	۵/۵۰۰ abc	۵/۵۰۰ abcd
اثرات اصلی				
ویتامین A				
۶۰۰۰ (IU/kg)		۵/۰۸۳ b	۴/۸۴۶ b	۵/۰۷۶ b
۱۲۰۰۰ (IU/kg)		۵/۱۰۴ b	۵/۴۵۴ b	۵/۸۱۸ ab
۱۸۰۰۰ (IU/kg)		۶/۰۶۲ a	۶/۲۵۰ a	۶/۲۵۰ a
۲۴۰۰۰ (IU/kg)		۵/۵۶۲ ab	۵/۴۲۸ b	۵/۱۴۲ b
ویتامین E				
۲۰ (IU/kg)		۴/۹۳۷ b	۴/۸۴۶ b	۴/۶۹۲ c
۵۰ (IU/kg)		۵/۶۶۶ a	۵/۲۱۴ b	۵/۴۲۸ bc
۸۰ (IU/kg)		۵/۸۰۰ a	۶/۱۴۲ a	۶/۲۸۵ a
۱۱۰ (IU/kg)		۵/۳۸۴ ab	۵/۹۲۳ a	۵/۹۲۳ ab
تجزیه واریانس	d.f.	(P)		
ویتامین A	۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲۱	۰/۰۰۱۸
ویتامین E	۳	۰/۰۰۱۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
ویتامین A × ویتامین E	۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۴۱۲

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شمارهٔ ۶: تجزیه واریانس اثر گله بر پاسخ سیستم ایمنی هومورال

تجزیه واریانس	d.f.	HA Titers (SRBC) (P)	AI Titers (P)	ND Titers
ویتامین A (گله)	۶	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
ویتامین E (گله)	۶	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
ویتامین A × ویتامین E (گله)	۱۸	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۶
گله	۱	۰/۴۸۶۰ NS	۰/۶۸۸۷ NS	۰/۹۷۲۶ NS

منابع و مأخذ

1- Abawi, F. G., and T. W. Sullivan, 1989. Interactions of vitamins A, D_3, E, and K in the diet of broiler chicks. Poultry Science 68: 1490–1498.
2- Aburto, A., and M. Britton, 1998a. Effects and interactions of dietary levels of vitamins A and E and cholecalciferol in broiler chickens. Poultry Science 77:666–673.
3- Aburto, A., and M. Britton, 1998b. Effects of different levels of vitamins A and E on the utilization of cholecalciferol by broiler chickens. Poultry Science 77:570–577.
4- Anon, 1971. Methods for examining poultry biologic and for identification and quantifying avian pathogens. Newcastle disease, p: 66. National Academy of science, Washington, D.C.
5- Cheng, S., Rotschild, M.F. and Lamont, S.J.,1991.Estimates of quantitative genetic parameters of immunological traits in the chicken. Poultry Science 70: 2023-2027.
6- Combs, G. F., Jr., and M. L. Scott, 1974. Dietary requirements for vitamin E and selenium measured at the cellular level in the chick. Journal of Nutrition 104:1292–1296.
7- Davis, C. Y., and J. L. Sell, 1983. Effects of all-trans retinol and retinoic acid nutriture on the immune system of chicks Journal of Nutrition 113:1914–1919.
8- Erf, G. F., W. G. Bottje, T. K. Bersi, M. D. Headrick, and C. A. Fritts, 1998. Effects of dietary vitamin E on the immune system in broilers: Altered proportions of CD4 T cells in the thymus and spleen. Poultry Sci. 77:529–537.
9- Friedman, A., and D. Sklan, 1989. Antigen-specific immune response impairment in the chick as influenced by dietary vitamin A. Journal of Nutrition 119:790–795.
10- Friedman, A., and D. Sklan, 1991. Impaired T-lymphocyte immune response in vitamin A depleted rats and chicks. British Journal of Nutrition. 62:439–449.
11- Friedman, A., I. Bartov, and D. Sklan, 1998. Humoral immune response impairment following excess vitamin E nutrition in the chick and turkey. Poultry Science 77:842–849.
12- Karaca, M., E. Johnson, and S. J. Lamont,1999. genetic line and major histocompatibility complex effects on primary and secondary antibody responses to T-dependent and T-independent antigens. Poultry Science 78:1518-1525.
13- Kramer, T. R., N. Schoene, L. W. Douglass, J. T. Judd, R. Ballard-Barbash, P. R. Taylor, H. N. Bhagavan, and P. P. Nair, 1991. Increased vitamin E intake restores fish-oil induced suppressed blastogenesis of mitogen-stimulated T-lymphocytes. American Journal of Clinical Nutrition 54: 896–902.
14- Leshchinsky, T.V. and K.C. Klasing, 2001. Relationship between the level of dietary vitamin E and the immune response of broiler chickens. Poultry Science 80:1590-1599.

Archive of SID

www.SID.ir

15- Lessard, M., Hutchings, D., and Cave, A.N. 1997. Cell-mediated and humoral immune response in broiler chickens maintainted on diets containing different levels of vitamin A. Poultry Science 76: 1368-1378.
16- McCuaig, L. W., and I. Motzok, 1970. Excessive dietary vitamin E: Its alleviation of hypervitaminosis A and lack of toxicity. Poultry Science 49:1050–1052.
17- McGraw, K.J., and D. R. Ardia,2003.Carotenoids, immunocompetence, and the informationcontent of sexual colors: an experimental test. the American Naturalist 162: 74-712.
18- National Research Council, 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
19- Pudelkiewicz, W. J., L. Webster, and L. D. Matterson, 1964. Effects of high levels of dietary vitamin A acetate on tissue tocopherol and some related analytical observations. Journal of Nutrition 84:113–117.
20- Qureshi, M.A., R. Ali, M.A. Cheema, Z. Ahmed and H. Roth, 2004.Immunmilk® feeding increases growth and immune responses in broiler chicks.International Journal of Poultry Science 3 (5): 305-312.
21- Ross, A. C., 1992. Vitamin A status: relationship to immunity and the antibody response. Proceeding of Social Medicien 200: 303–320.
22- Sell, J. L., 1996. Vitamin E nutriture of growing turkeys: criteria of adequacy? Pages 1-11 in: Proceedings Roche Turkey Health Seminar, Raleigh, NC.
23- Sell, J. L., M. F. Soto-Salanova, P. Palo, and M. Jeffrey, 1997. Influence of supplementing corn-soybean meal diets with vitamin E on performance and selected physiological traits of male turkeys. Poultry Science 76:1405–1417.
24- Sijtsma, S. R., C. E. West, J.H.W.M. Rombout, and A. J. Zijpp, 1989. Effect of Newcastle disease virus infection on vitamin A metabolism in chickens. Journal of Nutrition 119:940–947.
25- Sklan, D., and S. Donoghue, 1982. Vitamin E response to high dietary vitamin A in the chick. Journal of Nutrition 112:759–765.
26- Sklan, D., Z. Tenne, and P. Budowski, 1983. The effect of dietary fat and tocopherol on lipolysis and oxidation in turkey meat stored at different temperatures. Poultry Science 62:2017–2021.
27- Svensson, E., Sinervo, B. and Comendant, T., 2001. Densitydependent competition and selection on immune function in genetic lizard morphs. Proceeding National Academy Science, USA 55: 2053-2069.
28- Svensson, E.I., and B.Sinervo, 2002.Mechanistic and experimental analysis of condition and reproduction in a polymorphic lizard .Journal of Evoloution 15: 1034-1047 .
29- Thornton, D. E., K. H. Jones, Z. Jiang, H. Zhang, G. Liu, and D. G. Cornwell, 1995. Antioxidant and cytotoxic tocopheryl quinones in normal and cancer cells. Free Radic. Biol. Med. 18:963–976.
30- Villaverde, C., L. Cortinas, A. C. Barroeta, S. M. Martín-Orúe and M. D. Baucells, 2004. Relationship between dietary unsaturation and vitamin E in poultry. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 88 (3-4): 143-149.
31- Yu, B. P., 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physioly Review 74:139–162.

Archive of SID

www.SID.ir

JOURNAL OF
AGRICULTURAL
SCIENCES
Islamic Azad University

Effect of Vitamin A and Vitamin E on Humoral Immune Response of Commercial Layer Chicks and Khorasan Region Native Chicks

R.Bahari
Ph.D. student in animal nutrition, Science & Research Branch, Islamic Azad University
M. Shivazad
Professor of poultry nutrition, Science & Research Branch, Islamic Azad University
F. Eftekhari
Professor of animal science, College of agriculture, Ferdowsi University, Mashhad

Keywords: Vitamin A, Vitamin E, Humoral immunity, Antibody, Antigen, Leghorn, Khorasan native chicks

Abstract

The effect of different concentration of vitamin A and vitamin E on humoral immunoresponse of layer and Khorasan native chicks for optimal immunity was evaluated. Experimental design was full factorial with vitamin A in 4 levels 6000, 12000, 18000 and 24000 IU per kilogram of feed and vitamin E in 4 levels 20, 50, 80 and 110 IU per kilogram of feed with 4 replicates each with 5 day old commercial and native layer chicks for 8 weeks. Antibody titers against Sheep Red Blood Cells, Avian Influenza virus and Newcastle Desease virus, evaluated. SRBC, AI and ND titers, were significantly affected by different levels of vitamin A and vitamin E and their interaction. Increasing vitamins A and E levels in diet, causes better responses from humoral immune system of chicks. With 18000 IU per kilogram feed level of vitamin A the best responses was observed but increasing this vitamin to 24000 IU per kilogram of feed lead to lower responses. The best level of vitamin E was 80 IU per kilogram of feed. The results of this experiment show that humoral immunity response is directly affected by vitamin A and vitamin E in diet. Vitamin A and vitamin E have antagonistic interaction over immunity response. NRC recommended doses of vitamin A and vitamin E is not suitable for humoral immune system needs. No differences observed between native and commercial chicks in response to different doses of vitamin A or Vitamin E.

Archive of SID

www.SID.ir