

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

رضا وکیلی<sup>۱\*</sup> رضا دلیری<sup>۲</sup>

(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 آنتی‌اکسیدانته شناخته شده و در گونه‌های 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 تست‌های آنتی‌بادی بر علیه گلبول گوسفند به وسیله روش میکروهماگلوتیناسیون اندازه‌گیری شد. سپس جوجه‌ها کشتار و بورس فابریسیوس 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 تست‌های آنتی‌بادی تام علیه گلبول قرمز گوسفند، تست‌های آنتی‌بادی حساس به ۲ مرکاپتواتانول، و نیز تست‌های آنتی‌بادی ضد ویروس نیوکاسل گروگی که ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ویتامین E مصرف کرده بودند، در مقایسه با گروه شاهد داشت ( $P < 0.05$ ). تست‌های آنتی‌بادی مقاوم به ۲ مرکاپتواتانول و وزن ارگان‌های لنفوئیدی (بورس فابریسیوس 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، هم‌گلویتیناسیون، عملکرد.

## مقدمه

ایکوزانوئیدها تنظیم‌کننده‌ی 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 توجه 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 ملی تحقیقات فقط برای جلوگیری از بروز نشانه‌های کمبود ویتامین به علت اثرات تخریبی اکسیداسیون و کاهش باروری است و هرگز احتیاجات لازم برای تحریک و تقویت 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

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 مشخص نشده، اما فعالیت آن به‌طور عمده مرتبط با خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن است. ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان کاهش‌دهنده‌ی رادیکال‌های آزاد تولید شده در متابولیت‌های طبیعی و واکنش‌های التهابی مطرح می‌باشد (۱۹). ویتامین E به‌عنوان اولین سد دفاعی بدن در برابر عوامل اکسیدکننده معرفی شده از این رو می‌توان نقش آن را در چگونگی پاسخ‌های ایمنی مؤثر دانست (۷). اسیدهای چرب می‌توانند به‌عنوان مولکول تعدیل‌کننده سیستم ایمنی در ارتباطات بین سلول‌ها، سیال بودن غشاء و شکل‌گیری مولکول پیامبر ثانویه دخالت نمایند و ویتامین E می‌تواند از این طریق تنظیم‌کننده سیستم ایمنی باشد (۱۵). تراکم ویتامین E می‌تواند بر پروفیل ایکوزانوئیدها تأثیر داشته باشد، به نحوی که ویتامین E به‌عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی مسیر لیپوآکسیژناز و سیکلوآکسیژناز مطرح می‌باشد.



جدول ۱- اجزاء جیره غذایی تیمارهای مورد آزمایش.

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

جدول ۲- برنامه واکسیناسیون.

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

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 مجهز 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، گامبورو، ...) طبق برنامه تجویز شد (جدول ۲).

به منظور 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 اس گوسفند بلوچی خون‌گیری به عمل 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 ۲ ml از محلول فوق به صورت I.M در ماهیچه سینه تزریق شدند. برای نمونه‌گیری خونی به دلیل وجود سلول‌های حافظه‌ای بعد از تزریق اول خون‌گیری انجام نشد، ۷ و ۱۴ روز بعد از تزریق 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 هم‌گلوتیناسیون اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری تیترا آنتی‌بادی به روش زیر عمل گردید:

پلت‌های مخصوص میکروهماگلوتیناسیون V تصویر تهیه گردید. این پلت‌ها دارای ۹۶ چاهک در ۱۲ ستون (۱۲ تا ۸) و ۸ ردیف (A تا H) هستند. برای اندازه‌گیری آنتی‌بادی تام، آنتی‌بادی‌های مقاوم به ۲- 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 میکروتیترا 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. تیترا بر اساس Log<sub>2</sub> 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 ۲ M ۰/۲، ۲۰ 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 ۲- مرکاپتواتانل از کل تیترا 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 تیترا 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 به وسیله یک دستگاه ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم وزن شد و به صورت 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 - میانگین رشد هفتگی، میانگین مصرف خوراک و ضریب تبدیل (به ازای هر قطعه).

ویتامین E (IU)						
متغیر	۰	۱۰	۲۰	۴۰	خطای معیار	احتمال معنی داری
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 ۵ - میانگین تیترا آنتی بادی علیه نیوکاسل (Log2) در تیمارهای 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 بین المللی)	تیترا آنتی بادی علیه نیوکاسل (Log <sub>2</sub> )
۰	۲/۸ <sup>b</sup>
۱۰	۳/۶ <sup>ab</sup>
۲۰	۴/۲ <sup>ab</sup>
۴۰	۵ <sup>a</sup>
احتمال معنی دار شدن	۰/۰۷۳۸
خطای معیار میانگین	۰/۵۵۶

لحاظ آماری مشاهده نشد.

نسبت مصرف خوراک به افزایش وزن از موارد دیگر اندازه گیری شده در این تحقیق بود که از عوامل مهم پرورش طیور صنعتی می باشد. 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 معنی داری مشاهده نشد.

همان طور که قبلاً گفته شد بورس فابریوس و طحال در انتهای هفته ی هشتم پس از ذبح حیوان جدا و توزین گردید. که میانگین هر تیمار بطور جداگانه در جدول ۴ به صورت درصدی از وزن بدن آمده است که اثر سطوح مختلف ویتامین E بر روی وزن بورس و وزن طحال معنی دار نبود. همان طور که در جدول ۵ مشاهده می شود سطوح مختلف ویتامین E توانست تأثیر معنی داری بر تیترا آنتی بادی ضد نیوکاسل بگذارد، به نحوی

جدول ۴ - میانگین وزن بورس فابریوس و طحال در تیمارهای حاوی سطوح مختلف ویتامین E.

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

$\mu$  = میانگین صفت مورد مطالعه

$T_i$  = اثر تیمار

$\sum_{j=1}^r$  = خطای آزمایش

تجزیه و تحلیل آماری یافته ها توسط نرم افزار آماری SAS با روش تجزیه واریانس انجام گرفت. برای مقایسه میانگین ها نیز از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده شد.

### نتایج

در طی هفت هفته وزن کشتی هیچ تفاوت معنی داری از لحاظ آماری بین تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد. در بررسی اثر ویتامین E بر مصرف غذا در تمام مراحل تغذیه ای (آغازین و رشد) جوجه هایی که تحت جیره های مختلف ویتامین E قرار گرفته اند هیچ تفاوت معنی داری از



جدول ۷- میانگین تیتراژ آنتی بادی حساس به ۲- مرکابتو اتانول (Log2) در تیمارهای حاوی سطوح مختلف ویتامین E اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی داری دارند ( $p < 0.05$ ).

روزهای بعد از تزریق ثانویه		ویتامین E (واحد بین المللی)	روزهای بعد از تزریق اولیه	
۷	۱۴		۷	۱۴
۱/۸	۲/۲	۰	۳/۴ <sup>b</sup>	۲/۲
۲	۲/۴	۱۰	۳/۶ <sup>b</sup>	۲/۴
۲	۲/۶	۲۰	۴/۲ <sup>b</sup>	۳
۲/۲	۲/۸	۴۰	۵/۸ <sup>ab</sup>	۳/۲
۰/۱۷۹۵	۰/۷۲۴۵	احتمال معنی دار شدن	۰/۰۰۰۲	۰/۶۹۱۶
۰/۳۴۶	۰/۳۸۷	خطای معیار میانگین	۰/۳۱۶	۰/۳۶۷

سال ۲۰۰۱ مطابقت دارد (۳، ۱۱).

Bottje و همکاران در سال ۱۹۹۷ عنوان نمودند که افزودن ۸۷ میلیگرم به کیلوگرم ویتامین E نیز نتوانست تأثیر معنی داری بر مصرف خوراک در جوجه های گوشتی داشته باشد اما کاهش مصرف خوراک نسبت به تیمار کنترل مشهود بود. چون جیره های تنظیمی هم انرژی بودند دستیابی به همچنین نتایجی همواره دور از ذهن نیست. طیور برای دستیابی به مواد مغذی مورد نیاز خود اقدام به پر خوری می کنند در صورت تعادل مناسب مواد مغذی در جیره مصرف خوراک نسبت به یک جیره نامتعادل کاهش پیدا می کند (۶). هر عاملی که سلامت حیوان را به مخاطره بیندازد با تضعیف عمومی بدن و تحلیل عملکرد بافت های مختلف سبب کاهش رشد می شود. عوامل پاتوژن باعث می شود سیستم ایمنی پرنده تحریک و در نتیجه به جای این که مواد مغذی جهت ساختن پروتئین در عضلات به کار رود در سیستم ایمنی پرنده مصرف می شود (۸). اثبات نقش ویتامین E در افزایش فعالیت ماکروفاژها و نوتروفیل ها و لنفوسیت ها منجر به افزایش مقاومت بدن نسبت به عوامل بیماری زا شده و در نتیجه شرایط را برای رشد مطلوب پرنده مهیای می سازد (۱۹). عدم تأثیر سطوح مختلف ویتامین E بر وزن بورس و طحال مطابق با یافته های Gore و Qureshi در سال ۱۹۹۷ می باشد (۱۱)، با این حال توجه به میانگین های وزن بورس و طحال نشان می دهد که با افزایش مصرف ویتامین E وزن بورس و طحال روند رو به افزایشی را نشان می دهند که این روند از لحاظ آماری معنی دار نیست.

مطابق با نتایج Bell و Freeman در سال ۱۹۷۱ با رسیدن به سن بلوغ، بورس شروع به تحلیل رفتن می کند که وزن طحال نیز از این قاعده مستثنی نیست به طوری که این عضو با شروع بلوغ و فعالیت اندام های جنسی شروع به تحلیل رفتن می کند، وزن کمتر آن در جوجه های مانده دهنده ای همین امر است (۴).

تیتراژ 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

جدول ۶- میانگین تیتراژ آنتی بادی تام علیه گلبول قرمز گوسفندی (Log2) در تیمارهای حاوی سطوح مختلف ویتامین E اعداد با حروف غیر مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی داری دارند ( $p < 0.05$ ).

روزهای بعد از تزریق ثانویه		ویتامین E (واحد بین المللی)	روزهای بعد از تزریق اولیه	
۷	۱۴		۷	۱۴
۳/۲	۴/۴ <sup>b</sup>	۰	۳/۴ <sup>b</sup>	۲/۲
۳/۸	۵ <sup>b</sup>	۱۰	۳/۶ <sup>b</sup>	۲/۴
۴	۵/۴ <sup>ab</sup>	۲۰	۴/۲ <sup>b</sup>	۳
۵	۶/۲ <sup>ab</sup>	۴۰	۵/۸ <sup>ab</sup>	۳/۲
۰/۰۴۷۷	۰/۰۱۷۵	احتمال معنی دار شدن	۰/۰۰۰۲	۰/۱۲۸
۰/۴۱۲	۰/۳۶۷	خطای معیار میانگین	۰/۳۱۶	۰/۳۳۹

جدول ۸- میانگین تیتراژ آنتی بادی مقاوم به ۲- مرکابتو اتانول (Log2) در تیمارهای حاوی سطوح مختلف ویتامین E.

روزهای بعد از تزریق ثانویه		ویتامین E (واحد بین المللی)	روزهای بعد از تزریق اولیه	
۷	۱۴		۷	۱۴
۱/۴	۲/۲	۰	۰	۰/۶
۱/۸	۲/۶	۱۰	۰	۰/۶
۲	۲/۸	۲۰	۰	۱
۲/۸	۴/۳	۴۰	۰	۱
۰/۷۹۳۱	۰/۴۶۱	احتمال معنی دار شدن	۰	۰/۶۹۱۶
۰/۰۰۳	۰/۰۱	خطای معیار میانگین	۰	۰/۳۶۷

که با افزایش سطح ویتامین E روند رو به افزایشی در تولید آنتی بادی مشاهده شد ( $p < 0.05$ ).

در بررسی اثر نوع جیره بر تیتراژ آنتی بادی تام علیه گلبول قرمز گوسفندی و همچنین بر تیتراژ آنتی بادی حساس به ۲- مرکابتو اتانول (IgM)، تفاوت معنی داری بین جیره ها مشاهده گردید (جدول ۶، ۷)، در مقایسه میانگین ها جیره ای سطح چهارم به طوری معنی داری بالاتر از گروه کنترل می باشد ( $p < 0.05$ ).

همان طور که در جدول ۸ مشاهده می شود اثر نوع جیره بر تیتراژ آنتی بادی مقاوم به ۲- مرکابتو اتانول (IgG) تفاوت معنی داری بین جیره ها مشاهده نشد.

### بحث

در بررسی اثر ویتامین E بر مصرف غذا در تمام مراحل تغذیه ای (آغازین و رشد) جوجه هایی که تحت جیره های مختلف ویتامین E قرار گرفته اند هیچ تفاوت معنی داری از لحاظ آماری مشاهده نشد که نتایج حاصله با تحقیقات Gore و Qureshi در سال ۱۹۹۷ و Azza و همکاران در



جوجه‌هایی که سطح بالایی از ویتامین E را دریافت کرده‌اند میانگین تیتراکتی بادی حساس به ۲- مرکاپتواتانل بیشتری را از خود نشان دادند به طوری که در تزریق اول حداکثر تیتراکتی در هفت روز بعد از تزریق آنتی ژن و در تزریق ثانویه نیز حداکثر تیتراکتی در هفت روز بعد از تزریق آنتی ژن بدست آمد. در مقایسه بین تزریق اولیه و ثانویه، میانگین تیتراکتی بادی حساس به ۲- مرکاپتواتانل (IgM) هفت روز بعد از تزریق اولیه بیشترین مقدار خود را دارا است. روند کاهشی بعد از تزریق ثانویه به دلیل افزایش سریع مقدار IgY خون می‌باشد که به عنوان 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 تیتراکتی بادی حساس به ۲- مرکاپتواتانل در فاز دوم تزریق به دلیل افزایش تیتراکتی IgY می‌باشد که در تزریق دوم، آنتی بادی غالب پاسخ را تشکیل می‌دهد و اثر بازدارندگی بر تولید IgM دارد (۱۰).

کنتیک آنتی بادی مقاوم به ۲- مرکاپتواتانل (IgG) در تزریق اول حداکثر تیتراکتی در ۱۴ روز پس از تزریق و در تزریق ثانویه حداکثر تیتراکتی در هفت روز بعد از تزریق بدست آمد. در مقایسه بین تزریق اولیه و ثانویه حداکثر تیتراکتی بادی در هفت روز بعد از تزریق ثانویه می‌باشد، که نتایج بدست آمده با تحقیقات Qureshi و Gore 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 گوسیتی، 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 تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

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 آنتی بادی بیشتری از خود نشان می‌دهند به نحوی که این ویتامین به عنوان یک کمک کننده و پیش برنده‌ی سیستم ایمنی مطرح می‌باشد (۲).

تراکم ویتامین E می‌تواند بر پروتئین و فیل ایکوزانوئیدها تأثیر داشته باشد، به نحوی که ویتامین E به عنوان یک تنظیم کننده‌ی مسیر لیپوآکسیژناز و سیکلوآکسیژناز 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 (۲۰،۳).

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

تزریق ثانویه با پاسخ قوی تری همراه است که در نتیجه‌ی توسعه سیستم ایمنی می‌باشد و از این رو تفاوت‌ها در پاسخ ثانویه مشهودتر است. پاسخ قوی تر 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، تیتراکتی قوی تری را نسبت به تزریق اولیه بدست آورده‌اند (۱۸،۱۳).

میانگین تام تیتراکتی بادی علیه گلبول گوسفند در آزمایش انجام شده در تزریق دوم مقداری پایین تر از تیتراکتی گزارش شده توسط منابع دیگر است (۵،۱۸)، علت این تفاوت ممکن است به دلیل نحوه اعمال آنتی ژن، سن ایمنی سازی و زمینه ژنتیکی جوجه‌ها باشد، به طوری که نشان داده شده است که تزریق داخل رگی (I.V) تیتراکتی 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 آنتی بادی اثر دارد و با افزایش درصد SRBC در محلول تزریقی می‌توان تیتراکتی بالاتری را بدست آورد (۲۰،۱۵).

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 آنتی بادی نیز گزارش شد به نحوی که Munns و همکاران در سال ۱۹۹۱ گزارش کردند که پاسخ مرغ‌های بالغ به تزریق SRBC به عنوان یک آنتی ژن وابسته به سلول‌های T که برای تولید آنتی بادی به سلول‌های T کمک کننده وابسته است بالاتر و قوی تر از جوجه‌ها می‌باشد (۱۶).





## References

1. Abdollahi, A., Rosenholtz, N. S., Garvin, J. L. (1993) Tocopherol micro extraction method with application to quantitative analysis of lipophilic nutrients. *J. Food Sci.* 58:663-666.
2. Ambrosius, H., Hedges, 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  $\alpha$ -tocopherol supplemented In diets. *Pak. J. Biol. Sci.* 8: 1029-1035.
4. Bell, D. J., Freeman, B. M. (1971) *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl.* Academic Press. London, England. p. 985-1037.
5. Boa, Amponsem, K., Osullivan, 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-  $\alpha$ -tocopherol on tissue  $\alpha$ - and  $\gamma$ -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)  $\alpha$ -tocopherol content and oxidative stability of egg yolk as related to dietary  $\alpha$ -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)  $\alpha$ -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: *poultry immunology.* T. F. Darison, T. R. Morris. and L. N. Poyne. (eds). *poultry science symposium series.* (Vol 24). Carfaxpublishining, Oxfordshire.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  $\alpha$ -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 anumnesitic 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 braccella 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.



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

Vakili, R.<sup>1\*</sup>, Daliri, R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Animals Sciences, Islamic Azad University, Kashmar Branch, Kashmar- Iran.

<sup>2</sup>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 conducted 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 microhemagglutination 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-titer, 2-mercaptoethanol sensitive antibody titer (2-ME sensitive), anti-New Castle disease virus titer (NDV) in group which was given 40 mg/kg supplemented vitamin E compared to the control group ( $p < 0.05$ ). 2-mercaptoethanol resistant antibody titer (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, hemagglutination, performance.

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

