مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶۵، شماره ۴، ۳۳۶ - ۳۲۹

تأثیر سطوح مختلف سلنیوم برفراسنجه‌های متابولیکی خون و ایمنی هومورال در جوجه‌های گوشتی

رضا وکیلی[1*] مهدی بهرام[2]

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

۲) فارغ التحصیل کارشناس ارشد علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر، کاشمر ـ ایران.

(دریافت مقاله: ۲۳ بهمن ماه ۱۳۸۷ ، پذیرش نهایی: ۱۳ مهر ماه ۱۳۸۸)

چکیده

سلنیوم یک ماده معدنی کمیاب ضروری است و اثرشدیدی بر ایمنی، سلامتی و عملکرد تولیدی دارد. این آزمایش به منظور تعیین اثرات سه سطح سلنیوم بر عملکرد تولیدی و ایمنولوژیکی جوجه‌های گوشتی انجام شد. ۲۲۵ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه تجاری راس در یک طرح کاملاً تصادفی، با ۳ تیمار (۵ تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار) با یکی از جیره‌های دارای سه سطح سلنیوم شامل جیره فاقد سلنیوم، جیره دارای سلنیوم در سطح NRC (۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و ۲ برابر (۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تغذیه شدند. جوجه‌ها در ۲۱ و ۳۵ روزگی با ۰/۲ سی‌سی محلول ۵ درصد گلبول قرمز گوسفند (SRBC) در عضله سینه تزریق شدند و در ۷ و ۱۴ روز بعد از هر تزریق نمونه‌گیری خونی انجام شد. افزودن سلنیوم به جیره موجب افزایش مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و نیز تغییر معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی نگردید ($p>0/05$). افزودن سلنیوم منجر به مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری بر فاکتورهای خونی (کلسترول، LDL-کلسترول و HDL-کلسترول) گردید ($p<0/05$). اما بر تری گلیسرید و VLDL-کلسترول تأثیر معنی‌داری نداشت ($p>0/05$). اثر جیره حاوی سطح ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم منجر به افزایش معنی‌دار در میزان گاماگلوبولین تولید شده و نیز تیتر IgY تام در ۷ روز بعد از تزریق دوم شد ($p<0/05$). وزن ارگان‌های لنفوئیدی (طحال و بورس فابریسیوس) به طور معنی‌داری تحت تأثیر جیره‌ها قرار نگرفت ($p>0/05$). از این تحقیق استنتاج می‌شود که افزودن سطوح سلنیوم مورد استفاده (بیشتر از سطح توصیه شده توسط NRC) در این آزمایش منجر به بهبود عملکرد، و تغییر در اندام‌های لنفوئیدی نگردید، اما موجب بهبود عملکرد ایمنولوژیکی بدن پرنده و نیز فاکتورهای خونی مورد بررسی شد.

واژه‌های کلیدی: متابولیت‌های خونی، ایمنی هومورال، سلنیوم، جوجه گوشتی.

مقدمه

امروزه سلنیوم را به عنوان یکی از عناصر کم نیاز ضروری می‌شناسند که جایگاه ویژه‌ای در بین آنتی اکسیدان‌های طبیعی موجود در مواد غذایی داشته و جزء جدایی ناپذیر سلنوپروتئین‌های شرکت کننده در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک بدن جانداران می‌باشد(۱). به‌طور کلی سلنیوم نقش بهبود دهنده در زمینه لیپوپروتئین‌های پلاسما و از آن جمله تأثیر بر کاهش میزان کلسترول پلاسمای خون، کاهش (Cholestrol LDL-C: Low density Lipoprotein)، افزایش (cholesterol HDL-C:high density Lipoprotein) و نیز کاهش میزان تری گلیسرید پلاسما دارد (۲۷). سلنیوم به عنوان بخشی از آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز درون سلولی اولین و دومین سد دفاعی بدن در برابر عوامل اکسید کننده را ایجاد می‌کند. آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در جهت کاهش اکسیداسیون موجود در ساختارهای داخل سلولی ضروری است(۲۵). چرا که رادیکال‌های آزاد دائماً در فعالیت‌های فیزیولوژیک تولید می‌شوند و تولید آنها در شرایط استرس افزایش می‌یابد همچنین منابع اصلی تولید رادیکال‌های آزاد در سلول شامل زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری‌ها، آنزیم‌های متابولیسم گزنوبیوتیک و سلول‌های ایمنی می‌باشد. بخصوص سلول‌های ایمنی جهت کشتن عوامل بیماریزا، رادیکال‌های آزاد را تولید می‌کنند(۱۴). سلنیوم از پراکسیداسیون اسید آراشیدونیک جلوگیری نموده و از این طریق سلول‌ها و بافت‌های ایمنی را از صدمه رادیکال‌های آزاد حفظ می‌کند (۳). منابع سلنیمی در فرایند تولید گلوتاتیون پراکسیداز به منظور افزایش قدرت سیستم ایمنی نقش کلیدی دارند. منابع سلنیمی در افزایش ایمنیت و تحریک تولید گلبول‌های سفید و نیز فعالیت تیموس ضروری هستند (۲۹). از سوی دیگر سلنیوم عنصر کمیابی است که پتانسیل ضد سرطانی آن به‌خوبی شناخته شده است و می‌تواند سیستم ایمنی سلولی را به شدت تحت تأثیر قرار داده باعث تحریک آن شود(۴). استفاده از ۰/۲۵ قسمت در میلیون سلنیوم یا بیشتر موجب افزایش تعداد لوکوسیت‌های موجود در خون بعد از عفونت ناشی از کوکسیدیوز شد و این نشان دهنده تاثیر بر افزایش قدرت و به عبارتی تحریک بیشتر سیستم ایمنی بود(۹). همچنین تیمارهای آزمایشی حاوی ویتامین E یا سلنیوم به تنهایی توانستند تیتر آنتی بادی خون را افزایش دهند و افزایش قابل ملاحظه‌ای نیز در استفاده توام ویتامین E و سلنیوم دیده شد (۱۳). با توجه به این که مشخص شده که در هر مول ایمونوگلوبولین Y ۱/۴ گرم اتم سلنیوم در محل پیوند دی سولفید آن قرار گرفته و در صورت کافی بودن سلنیم در بدن از

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

www.SID.ir

طریق واکنش با ایمونوگلوبولین Y ممکن است منجر به افزایش عملکرد ایمنو گلوبولین Y گردد (۸) و از طرف دیگر اثر جیره‌های فاقد سلنیوم و سلنیوم بیشتر از مقدار توصیه شده انجمن ملی تحقیقات، که ۰/۱۵ میلیگرم درکیلوگرم می‌باشد بر رشد، فراسنجه‌های لیپیدی خون، وزن اندام لنفوئیدی و پاسخ ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی مشخص نیست، این تحقیق به انجام رسید.

مواد و روش کار

در این آزمایش از ۲۲۵ قطعه جوجه خروس گوشتی سویه تجاری راس (Ross) در ۳ تیمار ۵ تکرار و هر تکرار ۱۵ قطعه جوجه در داخل پن با سیستم بستر استفاده شد. تیمار اول فاقد سلنیم، تیمار دوم حاوی ۰/۱۵ میلیگرم درکیلوگرم سلنیوم و تیمار سوم حاوی ۰/۳ میلیگرم در کیلو گرم سلنیوم بود. همانگونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود جیره‌های آزمایشی با توجه به ترکیبات مواد خوراکی، با انرژی یکسان برای دوره‌های مختلف بر پایه ذرت- سویا تهیه و تنظیم گردید. برای تنظیم جیره‌ها از نرم افزار UFFDA استفاده شد. دسترسی به آب و خوراک به صورت آزاد در نظر گرفته و وزن‌گیری جوجه‌ها و تعیین خوراک مصرفی به صورت هفته‌ای انجام شد.

تهیه SRBC: پس از خونگیری از وریدوداج گوسفندان به منظور تهیه SRBC خون، در ارلن حاوی EDTA ریخته شد و به آرامی حرکت داده شد. مقدار EDTA برای هر میلی لیتر خون حدود ۰/۱ تا ۰/۲ میلیگرم می‌باشد. پس از خونگیری محلول سرم فیزیولوژی ۹ در هزار به خون اضافه و مخلوط گردید، سپس با دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده و پلاسمای آن دور ریخته شد. دوباره با ریختن محلول استریل PBS سانتریفوژ در ۱۵۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد.

ایمن‌سازی: به‌منظور ایجاد تحریک در سیستم ایمنی یا به عبارتی چلنج نمودن سیستم ایمنی در سن ۲۱ روزگی مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول SRBC ۵ درصد از طریق تزریق I.M در عضله سینه جوجه‌ها انجام و جوجه‌ها چلنج شدند. مرحله دوم ایمنی‌سازی در جوجه‌ها ۱۴ روز پس از چلنج اولیه یعنی در سن ۳۵ روزگی صورت گرفت.

نمونه‌گیری خون: تزریق اولیه SRBC در ۲۱ روزگی و اولین نمونه‌گیری ۷ روز پس از انجام اولین چلنج یعنی در سن ۲۸ روزگی و نیز ۷ روز بعد از آن یعنی در سن ۳۵ روزگی از هر تیمار ۵ جوجه انتخاب و خونگیری از طریق سیاهرگ زیربال انجام شد. بعد از این مرحله چلنج دوم در همان روز صورت گرفت و نمونه‌های خونی مورد نیاز پس از این چلنج در روزهای ۷ و ۱۴ پس از چلنج یعنی در سن ۴۲ و ۴۹ روزگی جوجه‌ها از طریق سیاهرگ زیربال به منظور بدست آوردن میزان تیتر آنتی بادی تولید شده بر علیه SRBC گرفته شد مراحل فوق در جدول ۲ آورده شده است.

تجزیه لاشه و جدا نمودن اندام‌های لنفوئیدی: به‌منظور بررسی اثر تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن و رشد اجزای لاشه، در پایان آزمایش یعنی در (۵۶ روزگی) از هر تیمار ۵ جوجه به صورت تصادفی انتخاب شده سر بریده شدند و برای برداشتن اندام‌های بورس فابریسیوس و طحال جراحی و وزن شدند. اعداد بدست آمده ثبت و به‌صورت درصدی از وزن بدن نیز با استفاده از جدول ARC sin یادداشت شدند (۳۳).

الکتروفورز با استات سلولز (CAE)، تفکیک پروتئین‌های پلاسما (آلبومین، بتاگلوبولین و گاماگلوبولین) دانسیتومتری برای بررسی و تعیین میزان الگوهای الکتروفورزی و ترسیم الکتروفورتوگرام جهت مقایسه گاماگلوبولین‌ها که یکی از فاکتورهای بیانگر فعالیت سیستم ایمنی می‌باشد. در این تحقیق IgY جوجه‌ها به وسیله روش انتشار شعاعی یک طرفه (SRID) اندازه‌گیری شد. اساس این روش مبتنی بر تشکیل یک رسوب قابل رویت، حاصل از واکنش بین IgY و آنتی بادی ضد آن، با نسبت‌های مناسب می‌باشد. محیط مناسب جهت تشکیل این کمپلکس‌های ایمنی، محیط نیمه جامد ژل می‌باشد. در این تحقیق آنتی بادی ضد IgY که از شرکت سیگما تهیه شده بود، به صورت یک نواخت در ژل پراکنده شده و نمونه مورد آزمایش حاوی آنتی ژن (که در واقع IgY جوجه می‌باشد) داخل حفرات تعبیه شده در ژل قرار گرفت. با انتشار شعاعی آنتی ژن و برخورد با آنتی بادی در نقاطی که غلظت آنها به تعادل می‌رسد یک حلقه رسوبی پایدار قابل رویت تشکیل می‌شود که رابطه مستقیم با غلظت آنتی ژن دارد.

آزمایشات بیو شیمیایی: برای تعیین میزان کلسترول پلاسما اکسیژن آزاد شده از کلسترول در مجاورت کلسترول اکسیداز با ۴- آمینوآنتی پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین داد. میزان کینونیمین تشکیل شده که به‌صورت فتومتری قابل اندازه‌گیری بود و با مقدار کلسترول رابطه مستقیم دارد در طول موج مورد نظر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام شد. اندازه‌گیری تری گلیسرید به روش آنزیماتیک بر طبق واکنش های زیر انجام گرفت. رنگ حاصل از کینون قرمز در پایان واکنش متناسب با غلظت تری گلیسرید منظور شد. برای تعیین کلسترول ژرچگال (HDL-C) از روش آنزیماتیک CHOD-PAP کلسترول کم چگال (LDL-C)، لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم (VLDL-C) و شیلومیکرون‌ها توسط اسید فسفوتنگستیک و کلرید منیزیم از سرم جدا شده و پس از سانتریفوژ ته نشین شد. (HDL-C) در محلول فوقانی باقی مانده و به‌وسیله معرف کلسترول مقدار آن‌ها تعیین گشت. مقدار (LDL-C) نیز به روش آنزیماتیک، تغییر رنگ محلول و تعیین آن توسط روش فتومتری انجام پذیرفت (۷). مقدار لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم (LDL-C) از طریق محاسبه به‌دست آمد.

فرمول محاسبه جهت انجام کلیه آزمایشات بیو شیمیایی به این ترتیب است:

غلظت استاندارد × جذب نوری استاندارد / جذب نوری ماده مورد بررسی = غلظت ماده مورد بررسی

www.SID.ir

جدول ۱- ترکیب جیره‌های آزمایشی.

Vit A,7700IU ; Vit D3 2194.5 IU Vit E 9.9 IU; Vit B12 ,11µg; riboflavin 4.95mg; niacin 33mg; d-pantothenic acid 8.75mg; thiamin 0.99mg; folic acid 544.5 µg biotin 55 µg; pyridoxine 0.88mg; iron 30mg; zinc 55mg; manganese 60.5mg ; copper 7.7mg; iodine 1.1mg; selenium 0-0.15-0.3 mg

اجزای جیره (گرم در کیلوگرم)	پیش دان	رشد	پایانی
ذرت	۳۵۴/۵	۳۱۷	۷۰۸/۶
سویا	۱۲۷/۵	۱۵۶	۲۵۵
سبوس گندم	۱	۱	۲
روغن	۳/۷	۱۱/۱	۷/۴
دی کلسیم فسفات	۴	۵/۱	۸
پودر صدف	۵/۸	۶/۲	۱۱/۶
نمک	۱/۲	۱/۵۵	۲/۴
مکمل ویتامینه	۱/۵	۱/۲۵	۲/۵
مکمل مینراله	۰/۸	۰/۷	۲/۵
ترکیب مواد مغذی			
انرژی متابولیسمی (کیلوکالری/کیلوگرم)	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۰/۸۴	۱۸/۱۲	۱۶/۳۱
کلسیم (درصد)	۰/۹۱	۰/۸۲	۰/۷۲
فسفر فراهم (درصد)	۰/۴۱	۰/۳۲	۰/۲۷
سدیم (درصد)	۰/۱۶	۰/۱۴	۰/۱۱
آرژنین (درصد)	۱/۴۰	۱/۲۲	۱/۰۷
لیزین (درصد)	۱/۲۶	۱/۰۱	۰/۸۷
متیونین (درصد)	۰/۸۲	۰/۶۶	۰/۸۵
تریپتوفان (درصد)	۰/۳۰	۰/۲۷	۰/۲۳

طرح آزمایشی مورد استفاده و آنالیز آماری داده‌ها: در این آزمایش از یک طرح ساده به صورت کاملاً تصادفی (CRD) استفاده شد. نتایج حاصل از آزمایشات پس از وارد شدن به نرم افزار اکسل و مرتب‌سازی به نرم افزار آماری SAS(Institute, 1996) نسخه ۶.۱۲ منتقل و با رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسات میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۵ درصد انجام شد. به منظور به‌دست آوردن وزن بافت‌های بدن از جدول ARCSIN استفاده شد.

نتایج

مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه بر اساس داده‌های به‌دست آمده در این تحقیق خوراک مصرفی در جوجه‌های استفاده کننده از جیره‌های

جدول ۲- میانگین مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه در تیمارهای مختلف در دوره‌های مختلف پرورش (گرم).

سلنیوم	دوره آغازین	دوره رشد	دوره پایانی
مصرف خوراک	۴۸/۴	۱۴۹/۴	۲۵۷/۱
فاقد سلنیوم			
۰/۱۵میلیگرم/کیلوگرم	۴۸/۹	۱۵۰/۹	۲۵۴/۳
۰/۳میلیگرم/کیلوگرم	۴۹/۵	۱۵۱/۴	۲۶۱/۷
خطای معیار (SE)	۱/۸۲	۱/۴۲	۱/۹۶
درصد احتمال	۰/۹۶	۰/۸۰	۰/۲۵
افزایش وزن روزانه			
۰/۰میلیگرم/کیلوگرم	۲۸/۱	۶۸/۱	۹۴/۴
۰/۱۵میلیگرم/کیلوگرم	۲۸/۷	۶۹/۲	۹۱/۸
۰/۳میلیگرم/کیلوگرم	۲۹/۹	۷۰/۶	۹۷/۰
خطای معیار (SE)	۰/۶۴	۱/۰۴	۱/۷۴
درصد احتمال	۰/۴۶	۰/۵۸	۰/۴۲

حاوی سطوح مختلف سلنیوم با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند($p>0/05$). همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که اثر سلنیوم در دوره‌های مختلف پرورش تأثیر معنی‌داری ($p>0/05$) بر افزایش وزن روزانه جوجه‌ها نداشت (جدول ۲).

ضریب تبدیل غذایی: همان‌طور که در جدول ۳ آمده است، افزودن سلنیوم به جیره پایه تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی نداشته است ($p>0/05$).

وزن اندام‌های لنفوئیدی: آتروفی اندام‌های لنفوئیدی در محرومیت‌های تغذیه‌ای، یک اتفاق بدیهی است. ارتباط بین آتروفی تیموس و سوء تغذیه به اثبات رسیده است (۳۳). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن سلنیوم در صد وزن طحال و بورس فابریسیوس را به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر قرار نداد($p>0/05$).

فراسنجه‌های خونی: همان‌طور که در جدول ۴ آمده است، تفاوت بین تیمارهای آزمایشی حاوی سطوح مختلف سلنیم از نظر مقدار تری گلیسرید و VLDL-C به‌دست آمده تحت این آزمایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p>0/05$)، با این حال افزایش سلنیم منجر به کاهش میانگین غلظت آن‌ها گردید. اما تفاوت HDL-C، LDL-C و کلسترول پلاسمای خون آنها از لحاظ آماری معنی‌دار شد و سطوح بالاتر سلنیوم درگروه‌های دریافت کننده ۰/۱۵ و ۰/۳ میلیگرم در کیلوگرم منجر به کاهش میانگین غلظت کلسترول و LDL-C و افزایش HDL-C شد($p<0/05$).

www.SID.ir

جدول ۳- میانگین ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای مختلف در دوره‌های مختلف پرورش.

دوره		دوره آغازین			دوره رشد			دوره پایانی	
سلنیوم	حد پایین	میانگین	حد بالایی	حد پایین	میانگین	حد بالایی	حد پایین	میانگین	حد بالایی
فاقد سلنیوم	۱/۶۵	۱/۷۳	۱/۸۱	۲/۱۶	۲/۱۹	۲/۲۲	۲/۶۷	۲/۷۳	۲/۷۹
۰/۱۵میلی گرم/کیلوگرم	۱/۶۲	۱/۷۰	۱/۷۸	۲/۱۵	۲/۱۸	۲/۲۱	۲/۷۱	۲/۷۷	۲/۸۳
۰/۳میلی گرم/کیلوگرم	۱/۵۷	۱/۶۵	۱/۷۳	۲/۱۱	۲/۱۴	۲/۱۷	۲/۶۴	۲/۷۰	۲/۷۶
درصد احتمال		۰/۹۰			۰/۷۵			۰/۸۸	

جدول۴- مقایسه میانگین غلظت فراسنجه‌های پلاسمای خون تیمارهای مختلف آزمایشی (میلی‌گرم/دسی لیتر) اعداد هر ردیف با حروف غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنی دارمی‌باشد ($p<0/05$).

اجزاء	سلنیوم			سطح احتمال	خطای استاندارد میانگین‌ها
	فاقد سلنیوم	۰/۱۵میلیگرم/ کیلوگرم	۰/۳میلیگرم/ کیلوگرم		
کلسترول mg/dl	۱۳۷/۶ [a]	۱۲۸/۹ [ab]	۱۲۱/۷ [b]	۰/۰۳	۲/۳۶
HDL-C mg/dl	۷۵/۲ چ	۷۸/۹ [ab]	۸۲/۷ [a]	۰/۰۵	۱/۲۴
LDL-C mg/dl	۳۷ [a]	۲۶/۹ [ab]	۱۷ [b]	۰/۰۱	۲/۷۳
LVDL-C mg/dl	۲۵/۲	۲۴	۲۲/۶	۰/۲۹	۰/۷۳
تری گلسیرید mg/dl	۱۲۶/۴	۱۲۰/۳	۱۱۳/۴	۰/۳	۳/۶۴

صفات مربوط به سیستم ایمنی: همان‌گونه که در جداول ۵ مشاهده می‌کنید نتایج این تحقیق حاکی از عدم تفاوت معنی دار ($p>0/05$) در ۷ و ۱۴ روز پس از اولین چلنج و نیز ۱۴ روز پس از چلنج دوم بود. اما با توجه به تأثیر سلنیوم بر میزان گاما گلوبولین ($p<0/05$) و غلظت IgY سرم ($p<0/01$) در ۷ روز پس از چلنج دوم می توان نتیجه گرفت سلنیوم بر افزایش توانایی و قدرت سیستم ایمنی موثر بوده است.

همچنین همان‌طور که در تصویر ۱ مشاهده می‌گردد جوجه‌هایی که تحت تأثیر چلنج با SRBC بوده و ۰/۳ میلیگرم بر کیلوگرم سلنیوم مصرف کرده بودند به نسبت جوجه‌هایی که سلنیوم مصرف نکرده بودند (تیمار شاهد) ۷ روز پس از چلنج دوم، میزان گاما گلوبولین تولید بیشتری داشتند.

بحث

مصرف خوراک: یافته‌های این تحقیق با گزارش های Sanji و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطابقت دارد که نشان دادند افزودن سلنیوم در سطح ۰/۲ میلیگرم بر کیلوگرم جیره تأثیر معنی داری بر خوراک مصرفی در طی آزمایش نداشت (۲۸). همچنین نتایج حاضر با نتایج MaChot و همکاران در سال ۲۰۰۴ که عنوان نمودند استفاده از ۰/۲۵ میلیگرم سلنیوم نتوانست تأثیر معنی دار بر مصرف خوراک در جوجه‌های گوشتی داشته باشد هم‌خوانی دارد (۲۱) توجیه دیگری که برای عدم اختلاف معنی دار در خوراک مصرفی قابل بیان می باشد این است که چون جیره‌های تنظیمی از لحاظ انرژی و پروتئین یکسان بودند لذا دستیابی به چنین یافته‌هایی دور از ذهن نیست (۱۷). لذا می توان نتیجه گرفت نوع و مقدار سلنیوم مورد استفاده در تیمارهای مختلف نتوانسته است تغییری در مصرف خوراک جوجه‌های تحت آزمایش داشته باشد.

افزایش وزن روزانه: نتایج افزایش وزن بدست آمده با نتایج حاصل از تحقیق های Colanago و Jensen در سال ۱۹۹۴ مطابقت دارد که سطح مورد استفاده در آزمایش آنها ۰/۲۵ میلیگرم بود (۹). همچنین با نتایج Rio و همکاران در سال ۲۰۰۵ نیز مطابقت دارد که عنوان نمود استفاده از سلنیوم در سطوح ۱-۸ پی پی ام نتوانست تاثیر بر افزایش وزن داشته باشد (۲۱). عوامل پاتوژن باعث می شوند سیستم ایمنی پرنده تحریک و در نتیجه به جای این‌که مواد مغذی جهت ساختن پروتئین و عضلات بکار روند، در سیستم ایمنی حیوان مورد استفاده قرار می گیرند (۲۸).

ضریب تبدیل غذایی: نتایج این آزمایش در مورد ضریب تبدیل غذایی با نتایج به‌دست آمده از تحقیقات Machot و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Sanjio و همکارن در سال ۲۰۰۵ که در سطح ۰/۲۵ میلیگرم و ۰/۲ میلیگرم سلنیوم آزمایش نموده بودند انطباق دارد (۱۷،۲۲).

وزن اندام‌های لنفوئیدی: تحت تاثیر فقدان بیش از حد سلنیوم رشد بورس کاهش یافته و نیز تعداد لنفوسیت‌های موجود در بورس فابریسیوس کاهش می یابد. این عملکرد با تاثیر بر فعالیت گلوکوکورتیکوئیدها منجر به افزایش اثرات ضد التهابی و در نتیجه کاهش فرآیند تولید لنفوسیت‌ها می شود در نتیجه موجب کاهش اندازه گره‌های لنفاوی و نیز تیموس و طحال و در نتیجه کاهش تولید آنتی بادی می گردد (۲،۲۰). اما با توجه به نتایج تحقیق حاضر مشاهده می شود که در طول دوره پرورش بورس و طحال به فعالیت طبیعی خود ادامه داده و عوامل ضد تغذیه‌ای که سبب اختلال در فعالیت بورس یا طحال می شوند به حدی نبوده که تغییرات قابل ملاحظه‌ای را در وزن آنها در انتهای دوره ایجاد نماید.

فراسنج‌های خونی: نتایج فراسنج‌های خونی با تحقیق های Tanaka

www.SID.ir

جدول۵ - مقایسه میانگین میزان گاما گلوبولین‌های تولید شده (درصد) و میانگین تیتر IgY (میلی‌گرم) تحت تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی اعداد هر ردیف با حروف غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می باشد ($p<۰/۰۵$).

	سلنیوم				
گاما گلوبولین ٪	۰میلیگرم/کیلوگرم	۰/۱۵میلیگرم/کیلوگرم	۰/۳میلیگرم/کیلوگرم	سطح احتمال	خطای استاندارد میانگین‌ها
گاما گلوبولین‌های تولیدشده					
۷روز پس از اولین تزریق	۲۰/۷۲	۲۲/۰۴	۲۲/۸۴	۰/۳۵	۰/۶۴
۱۴روز پس از اولین تزریق	۳۰/۴۶	۳۱/۷۲	۳۴/۵	۰/۲۵	۱/۰۷
۷روز پس از تزریق دوم	۳۸/۸۴ [a]	۴۰/۳۰ [ab]	۴۴/۴۸ [a]	۰/۰۲۲	۰/۵
۱۴روز پس از تزریق دوم	۳۹/۵۴	۴۳/۲۵	۴۶/۳۶	۰/۵۷	۲/۸
میانگین تیتر جوجه					
۷روز پس از اولین تزریق	۳۵۱/۶	۳۴۶/۲	۳۶۳/۴	۰/۵۶	۲۰/۲
۱۴روز پس از اولین تزریق	۵۴۶/۳	۵۵۸/۲	۶۶۲	۰/۱۱	۲۵/۴
۷روز پس از تزریق دوم	۶۶۹/۶ [a]	۷۷۷/۲ [ab]	۸۳۱/۲ [a]	۰/۰۱۶	۲۱
۱۴روز پس از تزریق دوم	۷۴۷/۶	۷۸۹/۳	۸۹۰/۱	۰/۲۵	۳۳

و همکاران هم خوانی دارد. تحقیقاتی که در این زمینه برروی موش صورت گرفت نشان داد که کمبود سلنیوم منجر به افزایش کلسترول پلاسمای خون شده و استفاده از سطوح مناسب می تواند منجر به کاهش کلسترول LDL-C و نیز منجر به افزایش HDL-C گردد (۲۷).

در یک آزمایش از جیره‌هایی که سطح ۰/۰۲ میلیگرم و ۰/۲ میلیگرم را به عنوان جیره‌های ناکافی و کافی از سلنیوم تهیه نمودند مورد استفاده قرار گرفت . پس از ۲ ماه رسپتورهای LDL-C در شرایط آزمایشگاهی با تزریق LDL-c نشاندار شده رادیواکتیو مورد بررسی قرار گرفتند. میزان کاهش نرخ فرکانس به زمان، مشخص کننده مصرف LDL-C و به عبارتی پاک شدن آن درنتیجه فعالیت رسپتورهای LDL-C خون بود. فعالیت mRNA رسپتورهای LDL-C در شرایط آزمایشگاهی با تزریق LDL-C نشاندار شده رادیواکتیو مورد بررسی قرار گرفت. در جیره با سطح سلنیوم پایین میزان کاهش فعالیت رسپتورهای LDL-C و نیز کاهش فعالیت mRNA بیشتر از جیره حاوی مقدار بالای سلنیوم بود. نتیجه گرفته شد که فقدان سلنیوم در موش‌ها سبب افزایش کلسترول پلاسمای خون و افزایش LDL-C می‌گردد. حال آن‌که استفاده کافی از سلنیوم می تواند میزان LDL-C را کاهش دهد (۱۲). سلنیوم منجر به افزایش میزان گلوتاتیون پراکسیداز سرم و از سوی دیگر منجر به افزایش میزان سلنیوم سرم شده، از این دو راه منجر به افزایش HDL-C پلاسما و کاهش تشکیل اجسام پلاکتی در عروق و نهایتاً موجب جلوگیری از مسدود شدن رگ‌ها می‌شود (۱۲،۲۴). کاهش سلنیوم سبب تولید LDL-C اکسید شده می‌گردد که به سرعت GSH را از بین برده این عمل تحت تأثیر افزایش فعالیت ماکروفاژ (j۷۷۴ A.۱) می‌باشد از سوی دیگر منجر به افزایش گاما گلوتامیل سیستئین سنتتاز (Gamma-GCS-HS) که آنزیم سنتز کننده گلوتاتیون را محدود می‌کند. LDL-C اکسید شده منجر به افزایش لیپید هیدروپراکسیدها و نیز تولید آلدهیدها شده که سبب صدمه به لیپیدها می‌گردد . استات LDL-C منجر به افزایش گاما گلوتامیل سیستئین سنتتاز در نتیجه میزان GSH افزایش و در فرآیند فعال نمودن گلوتاتیون پراکسیداز، GSH استفاده می‌شود (۲۴). مالونیل دی آلدهید تحت تأثیر رادیکال‌های آزاد متاثر از کمبود سلنیوم و ویتامین E قرار گرفته و منجر به افزایش کلسترول پلاسمای خون در موش‌های تحت آزمایش گردیده است. سلنیوم بهبود دهنده هایپرکلسترولمیا می باشد (۱۶).

صفات مربوط به سیستم ایمنی: به‌منظور بررسی واکنش سلنیوم با ایمنوگلوبولین Y واکنش سلنیت رادیواکتیو Se۷۵ را با ایمنوگلوبولین‌های خالص‌سازی شده در شرایط اسیدی و خنثی مورد آزمایش قرار داده‌اند و با استفاده از روش اتورادیوگرافی عملکرد Se۷۵ نشاندار مورد بررسی قرار گرفته است. با افزودن Se۷۵ به محیط عمل مشخص شد که در هر مول IgY، ۱/۴ میلیگرم اتم سلنیوم در محل پیوند دی سولفید موجود در IgY قرار گرفته و نشان داد که سلنیوم ممکن است در صورت کافی بودن در بدن از طریق واکنش با ج‌خب منجر به افزایش عملکرد آن در سیستم ایمنی گردد (۸). در مورد نتیجه به‌دست آمده در آزمایش حاضر می توان این‌گونه استدلال نمود که تحت تأثیر چلنج SRBC در جوجه‌های مصرف کننده ۰/۳ میلیگرم بر کیلوگرم سلنیوم تزریق ثانویه غالباً با پاسخ قوی‌تری همراه بوده و علاوه بر آن با افزایش سن جوجه‌ها سیستم ایمنی کامل‌تر می‌شود. آنتی بادی‌های موجود در خون بعد از تولد منشاء مادری داشته که به تدریج تا ۱۶ الی ۲۱ روزگی مقدار آن کاهش و بعد از این مکانیسم تولید آنتی بادی در بدن فعال شده و تیتر آنتی بادی‌ها روند افزایشی را طی می‌کند (۲۳). این نتایج با آزمایشات انجام شده از سوی ون در Zip و

www.SID.ir

همکاران در سال ۱۹۸۶ مطابقت دارد از سوی دیگر عنوان شده که علت عدم تفاوت معنی دار در سایر مراحل ممکن است به دلیل روش اعمال آنتی ژن، سن ایمنی سازی و زمینه ژنتیکی جوجه ها باشد. به گونه ای که تزریق داخل رگی SRBC تیتر بالاتری نسبت به تزریق داخل عضلانی و یا داخل صفاقی نشان می دهد. همچنین نشان داده شده است افزایش درصد SRBC در محلول تزریقی می تواند تیتر بالاتری را به دست آورد (۳۳).

Jamont و Munns و همکاران در سال ۱۹۹۱ عنوان نمودند کاهش پاسخ در فاز اول ممکن است تحت تاثیر سن باشد و پاسخ مرغ های بالغ به تزریق SRBC به عنوان یک آنتی ژن وابسته به سلول های T برای تولید آنتی بادی ها بالاتر و قویتر از جوجه ها می باشد (۱۵). همچنین کمبود سلنیوم منجر به کاهش پاسخ ایمنی از طریق اختلال در فعالیت نوتروفیل ها، ماکروفاژها و لوکوسیت ها می گردد. مکانیسم این عمل این گونه است که در اثر کاهش میزان سلنیوم، گلوتاتیون پراکسیداز کاهش یافته و تولید هیدروپراکسیدهای لیپیدی و پراکسیدها افزایش می یابد این عمل منجر به متراکم شدن و افزایش مواد سمی در نوتروفیل ها و در نتیجه کاهش عملکرد نوتروفیل های سیستم ایمنی می گردد (۳۲). سلنیوم با تأثیر بر اینترفرون ها و آدنوزین مونوفسفات حلقوی سلولی منجر به کاهش رشد سلولی شده و در نتیجه از این طریق مقاومت نسبت به پاتوژن را افزایش و رشد پاتوژن را کند می کند. استفاده از سلنیوم پاسخ ایمنی را از طریق افزایش ترشح سایتوکین ها و افزایش تولید سلول های T کمک کننده ارتقاء می دهد. این افزایش ترشح سایتوکین ها از طریق تأثیر بر تحریکات میتوژنیک انجام می گردد آزاد شدن سایتوکین ها سبب افزایش ورود مواد غذایی به درون جریان خون گردیده بدین وسیله رشد سلول ها سریع و ساخته شدن ترکیبات ایمنی ساز افزایش می یابد. ماکروفاژها مبادرت به ترشح عامل نکروز سلول های توموری و IL-۲ کرده که منجر به افزایش کاتابولیسم ماهیچه ای و ورود مواد غذایی به خون شده تا قدرت سیستم ایمنی افزایش یابد (۸). افزایش تولید IL-۶ تحت تأثیر سلنیوم در ۷ روز پس از دومین چلنج از جمله مهم ترین دلایل بالا بودن تولید آنتی بادی در جوجه های گوشتی بوده، چرا که با گسترش تمایز سلول های B منجر به افزایش تولید ایمنوگلبولین ها (IgY و IgM) شده است. افزایش میزان سلول های CD^{8+} در دئودنوم، CD^{4+} در بورس فابریسیوس و CD^{3+} در طحال بعد از مصرف سلنیوم از هفته چهارم آزمایش به بعد نشان داد که سلنیوم تأثیر بسزایی در فعالیت سلول های B و T دارد (۲۶،۳۴). افزایش تحریک تولید آنتی بادی ها با کمک به سلول های B تحت تأثیر سلنیوم بر فعالیت CD^{3+} است. سلول های CD^{8+} تاثیر بر پاسخ های سیتوتوکسیک و از بین بردن سلول های بیماریزا دارد. سلنیم تحریک کننده تبدیل لنفوسیت های T به سلول های سیتوتوکسیک می باشد (۹).

از سوی دیگر سلنیم در بدن به فرم فعال زیستی خود یعنی سلنومتیونین تبدیل شده و در نتیجه می توان استنباط کرد که ایمنوگلبولین ها (IgM, IgY) از منابع اسید آمینه ساخته می شوند و سنتز آنها ممکن است توسط اسیدهای آمینه مختلفی تحت تأثیر قرار گیرد که در این راستا وجود سلنومتیونین نیز موثر خواهد بود. سلنومتیونین جانشین اسید آمینه متیونین بوده که دارای ساختاری مشابهند اما به جای سولفور از سلنیوم استفاده شده است علت استفاده از آن هم این است که tRNA متیونین توانایی تفکیک و تشخیص این دو را از هم ندارد (۳۲،۳۴).

در خاتمه می توان چنین نتیجه گیری کرد که افزودن سلنیوم بیشتر از سطح توصیه شده انجمن ملی تحقیقات به جیره غذایی طیور منجر به افزایش ایمنوگلوبولین ها و بهبود کلسترول، LDL و HDL می شود. لذا جهت افزایش توانایی سیستم ایمنی هومورال و بهبود پارامترهای لیپیدی در جیره جوجه های گوشتی می توان از دو برابر سطح توصیه شده سلنیوم استفاده نمود.

References

1. Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR) (1996).Toxicological Profile for Selenium (Update). US Department of Health and Human Services. Atlanta.USA.
2. Amakye anim, J., T.L. lin, Hester, P. Y.,Watkins, B. A. (2000) Ascorbic acid supplementation improved antibody response to infections bursal disease vaccination in chikens. J. Poult. Sci. 79: 680-688.
3. Arthur, J. R., McKenzie R. C., Beckett G. J.(2003) Selenium in the immune system. J. Nutr. 133: 1457S-1459S.
4. Baum, M.K. et. al. (1997) High risk of HIV-related mortality is associated with selenium deficiency. J. Acquir. Immun. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol. 15:370-374.
5. Boscolo, P., Di Giampaolo, L., Qiao, N., Reale, M., Castellanim, Ml. (2005) Inhibitory effects of cadmium on peripheral blood mononuclear cell proliferation and cytokine relase are reverserd by zinc and selenium salts. Ann. Clin. Sci. 35:115-20.
6. Boyne, R., Arthur, J.R. (1981) Effects of copper and selenium deficiency on neutrophil function in cattle. J. Comp. Pathol. 91:271-276.

www.SID.ir

7. Burtis, C. A., Ashwood, E. R. (1994) Tietz textbook of clinical Chemistry. (2th ed.). W. B. saunders, Philadelphia, USA.
8. Burton, Rm., Higgins, P. J., McConnell, K.P. (1977) Reaction of selenium with immunoglobulin molecules. Biochim. Biophys. Acta. 493:323-31.
9. Colnago, GL., Jensen, L. S, Long, P.l. (1994) Effect of selenium and vitamin E on the development of immunity to coccidiosis in chickens. J. poult. Sci. 63:1136-43.
10. Coma (1998) Statement from the Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy on selenium. Food Safety Information Bulletin. No. 93. UK.
11. D'Mello, J.P.F. (1994) Amino Acids in Farm Animal Nutrition. CAB.International, Edinburgh, Scotland.
12. Dhingra, S., Bansal, M. P. (2006) Attenuation of LDL receptor gene expression by selenium deficiency during hypercholesterolemia. Mol. Cell Biochem. 282:75-82.
13. Edmonds, M. S., B. E. Arentson. (2001) Effects of supplemental vitamins and trace minerals on performance and carcass quality in finishing pigs. J. Anim. Sci. 79:141-147.
14. Holovsk, J. R., Holovsk, K., Boldiz,K., K. V, S. Cekonov, s., V. Len, o. v, Levkut, M., Javorsk, P., Leng, L. (2003) The antioxidant enzyme activity in the liver tissue of chickens fed diets supplemented with various forms and amounts of selenium. J. Anim. Feed Sci. 12:143-152.
15. Jamont, S.J., Munns, P.L. (1991) Research note: Effects of age and immunization interval on the anumnestic response to T-cell dependent and T-cell-independent antigens in chikens. J. Poult. Sci. 70:2371-2374.
16. Kuklinski, B., Zimmermann, R., Ruhlmann, C., Nagel, R., Tessmann, D. (1991) Tangier disease-a "free radical"- associates disease. Results of HDL and antioxidant therapy with selenium and D-alpha tocopherol . Zges. Inn. Med. 46:505-11.
17. MaChot, A., Naylor, J., Reinke, N. (2004) Selenium supplementation affects broiler growth performance, meat yield and feather coverage. Br. Poult Sci. 45:677-683.
18. Neve, J. (2002) Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases. J. Cardiovasc. Risk. 3:42-47.
19. Nordic Project Group. (1995) Risk Evaluation of Essential Trace Elements - Essential versus toxic levels of intake. Report of a Nordic project group. Nord. 1995:18.
20. Pete, D.W. (2005) Selenium supplementation of grazing sheep. II. Responses in plasma and erythrocyte activities of lambs and adult wethers. Aus. J. Agri. Res. 31: 1005 - 1027.
21. Ryu, Y. C., Rhee, M.S., Lee, K. M., Kim, B.C. (2005) Effect of different levels of dietary supplemental selenium on performance,lipid oxidation, and color stability of broiler chiks. J. Poult. Sci. 84:809-15.
22. Sanji,.V, D. Bansal, M. P. (2005) Hypercholesterolemia and apolipoprotein B expression: Regulation by selenium status. Lipids Health Dis. 4: 28.
23. Scott, L. A. (1993) Diffusion Across a Sheep Red Blood Cell Membrane. Tested Studies for Laboratory Teaching.14: 115-140.
24. Shen, L., Sevanian, A. (2001) Ox-LDL induces macrophage gamma-GCS-HS protein expression: a role for ox-LDL-associated lipid hydroproxide in GSH synthesis. J. Lipid Res. 42:813-23.
25. Surai, p.f. (2002) Antioxidant properties, deficiency and toxicity, World's Poult. Sci J. 58:343.
26. Swain, B.k., Johri,T. S., Majumdar, S. (2000) Effect of supplementation of vitamin E, selenium and their different combinations on the performance and immune response of broilers. Br. Poult. Sci. 41:287-292 .
27. Tanaka,Y. Sakurai, E., Lizuka,Y. (2001) Effect of selenium on serum, hepatic and lipoprotein lipids concentration in rats fed on a high-cholesterol diet. J. Yakugaku Zasshi. 121:93-6.
28. UChaturvedi, Richa Shrivastava, R. K. Upreti. (2004) Viral infections and trace elements: A complex interaction. Current Sci. 87,11.
29. Van as, C., Careghi, V., Bruggeman, O. M., Onagbesan, S., Van der Geyten, V. M., Darras, E. (2004) Decuypere, Regulation of growth hormone expression by thyrotropin -releasing hormone through the pituitary-specific transcription factor PIT-1 in chicken pituitary.

www.SID.ir

Acta Vet. Hung. 52: 389-402.

30. Van der zijp, p. A. J., Scott, T. R., Glick, B. (1986) The effects of different routes of antigen on the immune response of cockerels. Poult. Sci. 62:205.
31. Weiss, S. L., Evenson, J. K., Thompson, K. M., Sunde, R. A. (1997) Dietary selenium regulation of glutathione peroxidase mRNA and other selenium-dependent parameters in male rats. J. Nutr. Biochem. 8:85.
32. Wen, W., Weiss, S. L., Sunde, R. A.(1998) UGA codon position affects the efficiency of selenocysteine incorporation into glutathione peroxidase-1. J. Biol. Chem. 273:28533.
33. Yamamoto, Y., Glick, B. (1982) A comparison of the immune response between two lines of chickens selected for differences in the weight of the bursa of Fabricius. Poult. Sci. 61:2129-2132.
34. Yang, N., Larsen, C. T., Dunnington, E. A., Geraert, P. A., Picard, M., P. B. Siegel., (2000) Immune competence of chicks from two lines divergently selected for antibody response to sheep red blood cells as affected by supplemental vitamin E. J. Poult. Sci. 79: 799-803.

Archive of SID

www.SID.ir

EFFECTS OF DIFFERENT DIETARY LEVELS OF SELENIUM ON METABOLIC PARAMETERS AND HUMORAL IMMUNITY IN BROILER CHICKENS

Vakili, R.[1*], Bahram, M.[1]

[1]*Department of Animal Sciences, Islamic Azad University, kashmar branch, kashmar-Iran.*

[2]*Department of Animal Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad- Iran.*

(Received 11 February 2009 , Accepted 5 October 2009)

Abstract:

Selenium is an essential trace mineral and has a profound impact on immune function, health and productive performance. An experiment was conducted to evaluate the effects of dietary selenium in different levels on performance and humoral immunity in broiler chicks. Male broiler chicks (Arbor Acres, 1-d old, n= 225) were randomly assigned to 3 treatment groups of 5 replicates each including 15 chicks per replicate in a completely randomized design arrangement. Chicks were offered three levels of selenium including: basal diet (no supplemental dietary selenium), diets containing selenium as recommended by NRC (0.15 mg/kg diet) and 0.3 mg/Kg diet. Birds in each pen were injected with 0.2 mL of 5% sheep red blood cell (SRBC) solution at days 21 and 35 via intrapectoral injection. Blood collection was done at 7 and 14 days later and total IgY and blood metabolites were determined. Addition of selenium to diets did not make significant difference in daily weight gain, feed intake and feed conversion ratio (FCR). Selenium supplementation to diets resulted in significant effect on blood cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and low density lipoprotein cholestrol (LDLC- C) ($p<0.05$). It had not effect on triglyceride and very low density lipoprotein cholesterol (VLDL- C) . Diets with 0.3 mg selenium increased total IgY titer and gammaglobulins 7 day after secondary injection ($p<0.01$). Different levels of selenium did not make significant effect on performance and weight of spleen and bursa. These results indicated that selenium at higher levels can improve humoral immunity and blood biochemical parameters.

Key Words: humoral immunity, selenium, blood metabolites, broiler.

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

www.SID.ir